

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

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

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

چکیده

به منظور بررسی تأثیر پیش‌تیمار بذر بر گیاهچه‌های نخود در شرایط شور، آزمایشی به صورت 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، ۸، ۱۲ و ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر به عنوان سطوح مختلف شوری و از پلی‌اتیلن گلیکول-۶۰۰۰ با پتانسیل اسمزی -۰/۸- مکاپاسکال و کلرید کلسیم با پتانسیل اسمزی -۱- مکاپاسکال به عنوان مواد پیش‌تیمار کننده 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 تنفس شوری سبب کاهش معنی دار صفات ارتفاع و وزن خشک بخش هوایی، سطح برگ، شاخص پایداری غشا و محتوای نسبی آب و افزایش معنی دار میزان پرولین برگ شد. در گیاهچه‌های حاصل از بذرها پیش‌تیمار شده، سطح برگ، شاخص پایداری غشا، محتوای نسبی آب و میزان پرولین برگ نسبت به شاهد به صورت معنی داری افزایش یافته‌است. همچنین، در مواجهه با تنفس شوری، صفات مذکور در بذرها پیش‌تیمار شده نسبت به شاهد افزایش معنی داری نشان دادند. به طور کلی، در سطوح مختلف شوری، پیش‌تیمار بذر با محلول‌های اسمزی پلی‌اتیلن گلیکول-۶۰۰۰- (۰/۸- مکاپاسکال) و کلرید کلسیم (۱- مکاپاسکال) باعث کاهش اثرهای منفی شوری بر رشد گیاهچه‌های نخود شد. در این آزمایش، اثر بهبود‌دهنده‌گی کلرید کلسیم بیشتر از پلی‌اتیلن گلیکول بود.

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

مقدمه

تأمین می‌گردد (۲). در بین گیاهان زراعی، جبوهات به عنوان گیاهان نسبتاً حساس به شوری طبقه‌بندی می‌شوند که در بین آنها لوبيا، نخود، عدس، باقلاء و نخود فرنگی حساسیت بیشتری به شوری دارند (۱). خشکی به عنوان مهم‌ترین تنفس غیرزنده برای گیاه نخود معروفی شده است (۹)، بنابراین نیاز به کارگیری روش‌هایی است که بتوانند تأثیر نامطلوب تنفس را کاهش داده و عملکرد دانه را بهبود بخشنده. یکی از این شیوه‌ها، استفاده از پیش‌تیمار بذر است که روشی اقتصادی، ساده و قابل توصیه به

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

جبوهات از منابع مهم غذایی سرشار از پروتئین برای تغذیه انسان و دام به شمار می‌روند. در تغذیه انسان، حدود ۲۲٪ پروتئین گیاهی، ۷٪ چربی و ۳۲٪ هیدرات‌های کربن از جبوهات

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد
*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: abdollahbeyk@gmail.com

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 تنفس 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-۶۰۰۵ (پتانسیل اسمزی ۰/۸-۵ مگاپاسکال) و کلرید کلسیم (پتانسیل اسمزی ۱-۵ 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 ۲۶-۲۴ 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،

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 تنفس شوری ارتقا دادند. اشرف و رئوف (۵) گزارش کردند که پیش‌تیمار بذر با آب و یا محلول اسمزی در گیاه ذرت تحت شرایط تنفس شوری، جوانه‌زنی و استقرار اویله 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 سوریان داشتند که درصد و سرعت خروج ریشه‌چه، وزن خشک و سرعت خروج گیاهچه در شرایط تنفس 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 تنفس شوری، فرج‌بخش 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 به دست 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

تولوئن رنگی حاوی پرولین در بالا و فاز آبی شفاف در پایین). پس از مدت ۲۰ دقیقه، جذب نوری محلول فوکانی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه گیری شد و با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت پرولین در محلول تعیین شد. در نهایت، مقدار پرولین بر اساس میکرومول در گرم وزن تر نمونه گیاهی محاسبه شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Mstat-C انجام و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال خطای $P \leq 0.05$ استفاده شد. نمودارها نیز به وسیله نرم‌افزار Excel رسم گردیدند.

نتایج سطح برگ

تجزیه و تحلیل واریانس داده‌ها حکایت از تأثیر معنی‌دار ($P \leq 0.01$) تنش شوری بر سطح برگ نخود داشت (جدول ۱). در این آزمایش، در تمام سطوح شوری، سطح برگ کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد. کمترین اندازه سطح برگ در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر ($30/27$ سانتی‌متر مربع) مشاهده شد که نسبت به شاهد ($80/01$ سانتی‌متر مربع)، بیش از $2/5$ برابر کاهش داشت (جدول ۲). تجزیه و تحلیل واریانس داده‌ها مؤید آن بود که پیش‌تیمار و اثر متقابل شوری و پیش‌تیمار نیز تأثیر معنی‌داری ($P \leq 0.01$) بر سطح برگ نخود داشت (جدول ۱).

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که استفاده از هر دو نوع ماده پیش‌تیمار، کلرید کلسیم (CaCl_2) (۱- مگاپاسکال) و پلی‌اتیلن گلیکول (PEG) (۰/۸- مگاپاسکال)، سطح برگ را به صورت معنی‌داری افزایش داد. در این راستا، پیش‌تیمار با CaCl_2 سطح برگ را به صورت معنی‌داری افزایش داد. در (جدول ۳). در شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر، پیش‌تیمار با CaCl_2 سطح برگ گیاهچه‌های نخود را نسبت به پیش‌تیمار PEG به صورت معنی‌داری افزایش داد (شکل ۱).

بخش هوایی به مدت ۴۸ ساعت در آون در دمای ۷۰ درجه سلسیوس خشک و توزین شد.

برای تعیین شاخص پایداری غشای سلولی، $10/0$ گرم از برگ دوم هر گیاه توزین و داخل دو دسته لوله آزمایش حاوی 10 میلی‌لیتر آب مقطر گذاشته شد. یک دسته از لوله‌ها در حمام آب گرم در دمای 40 درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه و دسته دیگر لوله‌ها در حمام آب گرم در دمای 100 درجه سلسیوس به مدت 10 دقیقه قرار گرفتند. پس از رسیدن دمای لوله‌ها به دمای محیط، قابلیت هدایت الکتریکی نمونه‌ها به وسیله دستگاه EC متر اندازه گیری شد و سپس شاخص پایداری غشا از معادله زیر بدست آمد ($40/0$):

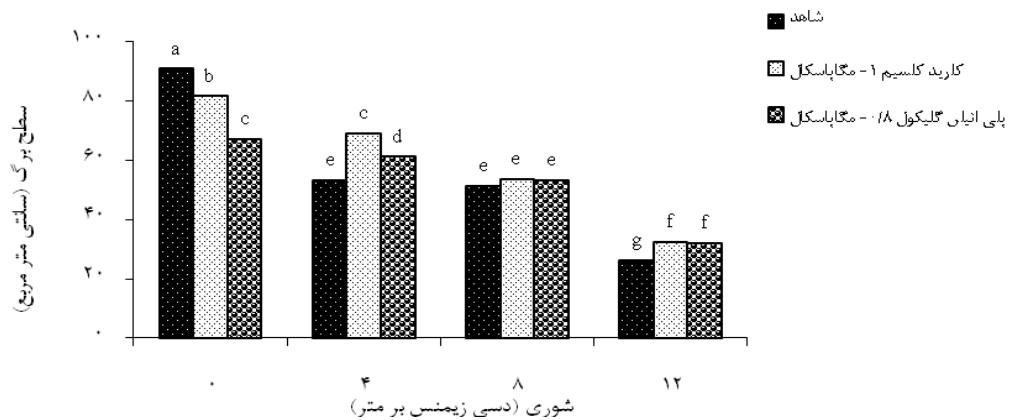
$$[1] \quad \text{آب در دمای } C_{EC} / 100^0 = \text{آب در دمای } C_{EC} / 40^0 - 1 = \text{شاخص پایداری غشا}$$

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

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

که RWC محتوای نسبی آب، FW وزن تر برگ، DW وزن خشک برگ و TW وزن برگ در حالت تورژسانس کامل است.

جهت استخراج و سنجش پرولین از روش بیتس و همکاران (۷) استفاده شد. بدین منظور، $0/5$ گرم از بافت برگ در 10 میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک $3/3$ در هاون چینی ساییده و محلول حاصل توسط کاغذ صافی و اتمن شماره ۲ صاف و از آن برای سنجش پرولین استفاده گردید. دو میلی‌لیتر از محلول حاصل با 2 میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و 2 میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال در یک لوله آزمایش مخلوط شدند. لوله‌های آزمایش به مدت یک ساعت در حمام آب گرم 100 درجه سلسیوس قرار گرفته و سپس بلافالله به ظرف حاوی یخ منتقل شدند تا واکنش خاتمه یابد و پس از آن به دمای اتاق منتقل شدند. سپس، به محتویات داخل لوله آزمایش 4 میلی‌لیتر تولوئن افزوده و به مدت 30 ثانیه به شدت مخلوط شدند. این عمل موجب دو فازه شدن محتویات لوله شد (فاز



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

مشاهده شد (جدول ۲). پیش‌تیمار با هر دو ترکیب مورد بررسی، موجب افزایش معنی‌دار ($P \leq 0.01$) 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 ($P \leq 0.01$) و محتوای نسبی آب معنی‌دار ($P \leq 0.05$) 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 به صورت 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 ($P \leq 0.01$) 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، به صورت معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۲). تجزیه و تحلیل داده‌ها حکایت از تأثیر معنی‌دار ($P \leq 0.01$) پیش‌تیمار بذر و اثر توأم

ارتفاع گیاه و وزن خشک بخش هوایی

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل واریانس داده‌ها حاکی از آن بود که تنش شوری تأثیر معنی‌داری ($P \leq 0.01$) بر ارتفاع و وزن خشک بخش هوایی گیاهچه‌های نخود داشت (جدول ۱). این دو صفت در تمام سطوح شوری در مقایسه با شاهد به صورت 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 ($P \leq 0.01$) 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. به طوری 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 به صورت معنی‌داری ($P \leq 0.01$) کاهش یافت. کمترین مقدار این دو صفت در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر

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

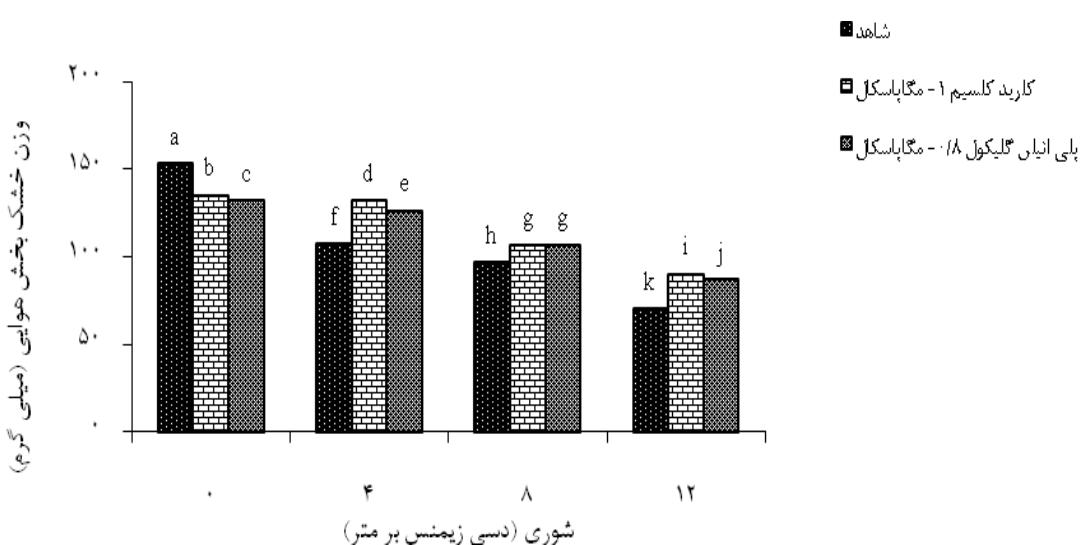
منابع تغییر	آزادی	درجه	ارتفاع گیاه (cm)	وزن خشک بخش هوایی (mg)	سطح برگ (cm ²)	شاخص پایداری غشا (%)	محتوای نسبی آب (%)	پرولین برگ (µm/g FW)
شوری	۳	۱۱۷/۵۸۴**	۵۵۴۲/۷۶۹**	۳۸۲۸۲۸۵۳/۵۱۹**	۶۲۴۰۵/۴۴۴**	۷۹۲/۰۷۴**	۸۶۸/۶۳۰**	
پیش‌تیمار	۲	۴/۱۹۶ns	۲۵۳/۰۲۸ns	۹۹۹۵۰۶/۲۵۰**	۳۴۴۸/۷۷۸**	۲۵/۴۶۵**	۳۱/۶۹۴**	
شوری × پیش‌تیمار	۶	۱۰/۴۹۵ns	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 مورفو‌لولوژیک گیاهچه‌ای نخود تحت تأثیر سطوح مختلف شوری

سطح شوری (دستی زیمنس بر متر)	ارتفاع گیاه (cm)	وزن خشک بخش هوایی (mg)	سطح برگ (cm ²)	شاخص پایداری غşa (%)	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	۲۷/۵۸ b	۱۲۰ b	۶۱/۳۰ b	۲۶/۵۶ b	۷۹/۶۷ c	۲۷/۶۷ c
۸	۲۴/۷۸ c	۱۰۰ c	۵۲/۸۷ c	۱۹/۷۸ c	۷۵/۷۸ c	۳۴/۴۴ b
۱۲	۲۱/۸۸ d	۸۰ d	۳۰/۲۷ d	۱۶/۱۱ d	۷۰/۸۹ d	۳۹/۳۳ a

در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون دانکن، تفاوت معنی‌داری ندارند ($P \leq 0.05$).



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

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 طرفیت کل فتوستزی گیاه کم می‌شود. این موضوع باعث کاهش محصولات فتوستزی مورد نیاز برای رشد می‌گردد (۴۵). گورهای (۲۰) معتقد است که محیط‌های سور دارای مقدار زیادی از یون‌هایی مانند Na^+ 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 تنفس 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 تنفس شوری، به دلیل تعادل هورمونی از طریق کاهش اسید آسبیزیک 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 به دست 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 ($P \leq 0.05$)، به‌طوری که با افزایش سطح شوری، این صفت به صورت معنی‌داری کاهش یافت. شوری از طریق ایجاد تغییراتی در ساختار و ترکیب لپیدها و پروتئین‌ها یکپارچگی غشای سلول را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۳۳). کایا و همکاران (۲۷)، نشان دادند که میزان زیاد کلرید سدیم، کمبود کلسیم را در توت فرنگی القا می‌کند و باعث کاهش پایداری غشای

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 به صورت معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت. تفاوت بین پیش‌تیمار PEG و CaCl_2 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 (۰-۰.۸ مگاپاسکال) بیشتر بود (جدول ۳). در تمام سطوح شوری، میزان پرولین موجود در برگ گیاهان تیمار شده در مقایسه با شاهد به صورت 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).

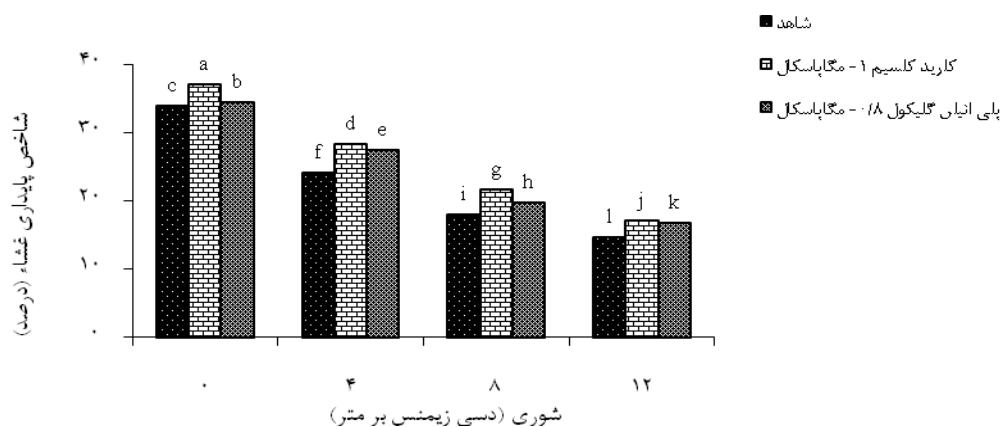
بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش تنفس 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 یافتدند. 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 تنفس شوری در لوبيا (۱۵)، گندم (۳۷) و برنج (۲۹) گزارش شده است. بوهنت و جنسن (۱۰) اعلام نمودند که کاهش ارتفاع بخش هوایی در اثر تنفس شوری، ناشی از کاهش فتوستز می‌باشد. از طرف دیگر، برای حفظ آماس سلولی و تنظیم اسمزی در شرایط تنفس شوری، گیاهان مواد آلی خاصی مانند پرولین و مانیتول را می‌سازند و به خاطر صرف انرژی زیاد جهت تنظیم

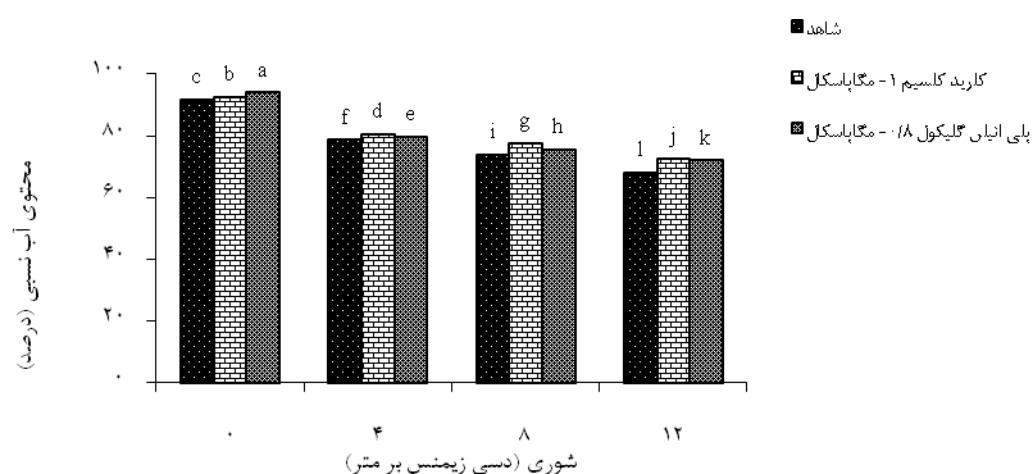
جدول ۳. نتایج مقایسه میانگین پیش‌تیمار بذر (PEG و CaCl_2) بر برخی صفات مورفولوژیک گیاهچه‌های نخود

ماده پیش‌تیمار	ارتفاع گیاه (cm)	وزن خشک بخش هوایی (mg)	سطح برگ (cm^2)	شاخص پایداری غشا (%)	محتوای آب (%)	پرولین برگ ($\mu\text{m/g FW}$)
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)	۲۶/۴۰ a	۱۱۲/۹ a	۵۰/۷۷ b	۲۴/۵۰ b	۸۰/۳۳ b	۳۰/۵۰ b

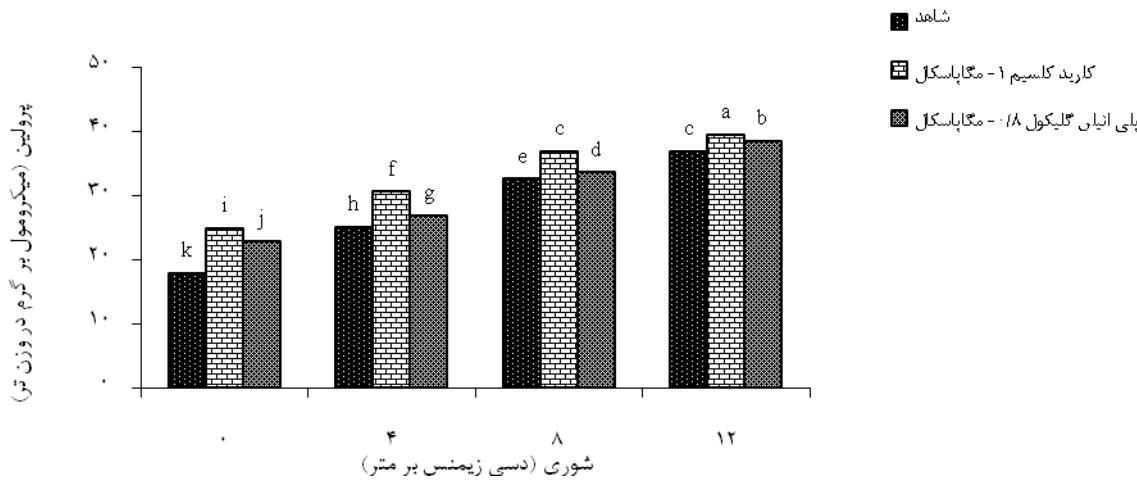
در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون دانکن، تفاوت معنی‌داری ندارند ($P \leq 0.05$).



شکل ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و پیش‌تیمار بذر بر شاخص پایداری غشا گیاهچه‌های نخود. ستون‌های دارای حرف 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 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.

در مواجهه با تنفس شوری گزارش شده است. هو و اشمیده‌التر (۲۴)، در تحقیقی روی گندم، اعلام کردند که در تنفس شوری، کاهش اولیه پتانسیل آب بیشتر به اختلال در روابط آبی مربوط می‌شود تا سمیت یونی، زیرا در مراحل ابتدایی تنفس، غاظت سدیم و کلر هنوز به میزان سمی برای گیاه نرسیده است. نتایج این آزمایش نشان داد که در شرایط تنفس، پیش‌تیمار بذر با PEG و CaCl_2 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 به صورت معنی‌داری افزایش یافت ($P \leq 0.05$). این موضوع در شرایط بدون تنفس نیز صادق بود. بنابراین، پیش‌تیمار بذر تأثیر مثبتی بر محتوای نسبی آب برگ‌های نخود داشته و احتمالاً تأثیر نامطلوب تنفس شوری را بر محتوای نسبی آب کاهش می‌دهد. نتایج این بررسی نشان داد که با افزایش شوری، میزان پرولین برگ به صورت معنی‌داری افزایش یافت. در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر، غلظت پرولین برگ نزدیک به $1/8$ 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

سلولی می‌شود. بنابراین، در گیاهان تحت تنفس شوری، نسبت کلسیم به سدیم کاهش می‌یابد و یون‌های سدیم ممکن است برای مکان‌های اتصال کلسیم در غشا رقابت کنند (۱۲). در بررسی حاضر، به کارگیری پیش‌تیمار بذر در شرایط تنفس شوری، موجب بهبود پایداری غشای سلول شد. پیش‌تیمار بذر در شرایط بدون تنفس شوری، شاخص پایداری غشا را در مقایسه با شاهد به صورت معنی‌داری افزایش داد ($P \leq 0.05$). این موضوع در مورد بذرهای پیش‌تیمار شده ذرت شیرین، چغندر قند، تربچه، گندم و جو تأیید شده است (۳۸). مکدونالد (۳۳) نشان داد که پیش‌تیمار بذر بر یکپارچگی غشای سلولی مؤثر است، به طوری 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. تنفس شوری محتوای نسبی آب را در برگ نخود کاهش داد. این کاهش در تمام سطوح شوری نسبت به شاهد معنی‌دار بود ($P \leq 0.05$). به طور مشابه، بررسی‌های متعدد دیگری در مورد کاهش پتانسیل آب برگ در شرایط تنفس 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)

رویشی به طور معنی‌داری کاهش یافتند. با افزایش تنفس شوری، شاخص پایداری غشا و محتوای نسبی آب برگ به صورت معنی‌داری کاهش یافت. کمترین مقدار این دو صفت در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد.

سطح برگ در گیاهان رشد یافته از بذرها 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 تنفس شوری بر ارتفاع گیاه، وزن خشک بخش هوایی و سطح برگ را محدود نماید.

برابر تنفس اسمزی است (۱۶). افزایش سنتز پرولین یکی از مکانیسم‌های مقاومت به تنفس خشکی است (۳۱). در این آزمایش، در شرایط تنفس و بدون تنفس، 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 بیوشیمیابی 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 تنفس 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 تنفس شوری، صفات مورفو‌فیزیک رشد گیاه شامل ارتفاع بخش هوایی، وزن خشک بخش هوایی و سطح برگ نخود در مرحله رشد

منابع مورد استفاده

۱. باقری، ع. و م. حسن بیگی. ۱۳۸۸. اثر سطوح مختلف تنفس شوری بر جوانه‌زنی و میزان تجمع یون‌های سدیم و پتاسیم در بذر ارقام لوپیا. مجله تنفس‌های محیطی در علوم گیاهی ۱(۲): ۱۴۲-۱۳۷.
۲. حاجی خانی، س.، ح. حبیبی، ف. شکاری و م. ح. فتوکیان. ۱۳۹۰. تأثیر پرایمینگ بذر بر عملکرد و اجزاء عملکرد ارقام لوپیا چیتی در شرایط تنفس کم‌آبی. مجله علوم گیاهان زراعی ایران ۴۲(۱): ۱۹۷-۱۹۱.
۳. داداشی، م.، ا. مجیدی هروان، ا. سلطانی و ع. نوری نبا. ۱۳۸۶. ارزیابی واکنش لاین‌های مختلف جو به تنفس شوری. مجله علوم کشاورزی ۱۳(۳): ۱۹۰-۱۸۱.
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. Razmjou. 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 Batán, 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. Raghuvanshi, 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. Bingham. 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.