اثر پرایمینگ و سطوح متفاوت پتانسیل آب (تنش خشکی) بر شاخص های فیزیولوژیکی و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانتی گیاهچه اکوتیپ های کاسنی

فریده صدیقی دهکردی[1*]، مجید نبی پور[2] و موسی مسکرباشی[2]

۱- گروه علوم باغبانی دانشگاه شهید چمران اهواز، ۲- گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه شهید چمران اهواز
*نویسنده: Far_sedighi@scu.ac.ir

چکیده

به منظور بررسی اثر پرایمینگ و سطوح متفاوت پتانسیل آب بر برخی شاخص های فیزیولوژیکی (میزان پرولین، پراکسیداسیون لیپید یا میزان مالون دی آلدئید، درصد نشت الکترولیتی، فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانتی: پراکسیداز، اسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و وزن خشک گیاهچه) در گیاهچه اکوتیپ های کاسنی آزمایشی بصورت فاکتوریل در طرح کاملا تصادفی در سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل ۲ اکوتیپ (تهران و شیراز)، ۳ تیمار پرایمینگ (۱- اسموپرایمینگ: با نیترات پتاسیم ۵۰ میلی مولار، ۲- هیدروپرایمینگ: با آب مقطر و ۳- بدون پرایم یا شاهد) و ۳ سطح پتانسیل آب (ناشی از پلی اتیلن گلایکول ۶۰۰۰ با پتانسیل آبی ۰/۵- و ۰/۷- مگاپاسکال و آب مقطر صفر مگاپاسکال) بود. نتایج نشان داد در اکوتیپ شیراز وزن خشک گیاهچه، میزان پرولین و فعالیت آنزیم های کاتالاز و اسکوربات پراکسیداز بیشتر ولی میزان مالون دی آلدئید و درصد نشت الکترولیتی نسبت به اکوتیپ تهران کمتر بود. با هیدرو و اسمو پرایمینگ وزن خشک گیاهچه، فعالیت ۳ آنزیم آنتی‌اکسیدانتی افزایش یافت و این افزایش با اسموپرایمینگ بیشتر بود ولی میزان مالون دی آلدئید و درصد نشت الکترولیتی و میزان پرولین کاهش یافت، و در این میان با اسموپرایمینگ این شاخص ها کمترین بودند. با افزایش تنش از صفر به ۰/۵- و به ۰/۷- مگاپاسکال وزن خشک گیاهچه با تفاوت معنی‌داری کاهش یافت، ولی میزان مالون دی آلدئید، درصد نشت الکترولیتی، میزان پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی گیاهچه کاسنی در سطح تنشی ۰/۵- و به ویژه در ۰/۷- مگاپاسکال افزایش یافت.

کلمات کلیدی: کاسنی، پرایمینگ، تنش خشکی

مقدمه

گیاه کاسنی(*Cichorium intybus L.*) یکی از گیاهان دارویی مهم خانواده آفتابگردان (*Asteraceae*) می‌باشد که از قسمت های مختلف آن به ویژه برگ ها و ریشه آن استفاده دارویی می‌شود (چویلر، ۱۹۹۶). ارقامی از کاسنی نیز بعنوان سبزی بصورت خام و یا پخته شده مصرف می‌گردد (روبتسکی و یاماگوچی، ۱۹۹۶). تنش آب و پایین بودن پتانسیل آب در ابتدا بر فرایندهای جوانه زنی و استقرار بذر از طریق تاخیر در جوانه زنی و کاهش درصد نهایی جوانه زنی تاثیر می گذارد و در نهایت بر پتانسیل عملکرد محصول اثر سوء دارد (برادفورد، ۱۹۹۰). اما در یک بستر با رطوبت اندک این احتمال هست که پیش تیمار بذور یا بذور پرایم شده استرس خشکی کمتری را تجربه نمایند. پرایمینگ بذر علاوه بر اینکه عاملی در جهت افزایش در صد و سرعت جوانه زنی و استقرار بهتر گیاهچه در شرایط مساعد و نامساعد می باشد، بلکه تحمل نسبی به واسطه بهبود فرآیندهای بیو شیمیایی در هنگام جوانه زدن بذر را نسبت به تنش‌های محیطی فراهم می‌سازد. بهبود برخی از فرآیندهای فیزیولوژیکی و متابولیکی در بذرهای پرایم شده شامل: سنتز mRNA جدید و بیان ژن، ترمیم میتوکندری و DNA و افزایش نسخه‌برداری آن، قابلیت دسترسی بیشتر به ATP ، کاهش نشت متابولیت‌ها و ترمیم غشاها، رفع بازداری دمایی، افزایش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیزکننده ترکیبات ذخیره‌ای و ارتقاء سیستم دفاع آنتی اکسیدانتی می‌باشد. بهبود این فعالیت ها بر جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه اثر مثبت دارد (گانا و شیلینگر، ۲۰۰۳). این مشخص شده است که قرار گرفتن بذر در شرایط جذب آب به صورت محدود و یا آبنوشی کامل منجر به

تولید گونه ها اکسیژن فعال در بذر در زمان پرایمینگ می‌شود حد متعادلی از گونه های فعال اکسیژن پیام رسانی مسیرهای موثر در جوانه زنی را سبب می‌شود و تولید بیشتر گونه های فعال اکسیژن واکنش سیستم های دفاعی آنتی‌اکسیدانتی را تحریک می کند (چن و آرورا، ۲۰۱۲). با توجه به اینکه تنش رطوبتی از عوامل تاثیرگذار مهم بر جوانه‌زنی، استقرار و رشد گیاهان از جمله گیاه کاسنی می‌باشد، هدف از این تحقیق ارزیابی بذور پرایم شده کاسنی در زمان جوانه‌زنی از نظر برخی صفات فیزیولوژیکی تحت تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلایکول در آزمایشگاه می باشد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر پرایمینگ و سطوح متفاوت پتانسیل آب بر برخی شاخص های فیزیولوژیکی (میزان پرولین، فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانتی: پراکسیداز، اسکوربات پراکسیداز و کاتالاز ، پراکسیداسیون لیپید و درصد نشت الکترولیتی) در گیاهچه اکوتیپ های کاسنی آزمایشی بصورت فاکتوریل در طرح کاملا تصادفی در سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل ۲ اکوتیپ (تهران و شیراز)، ۳ تیمار پرایمینگ (۱-اسموپرایمینگ: با نیترات پتاسیم ۵۰ میلی مولار، ۲- هیدروپرایمینگ: با آب مقطر و ۳-بدون پرایم یا شاهد) و ۳ سطح پتانسیل آب (ناشی از پلی اتیلن گلایکول ۶۰۰۰ با پتانسیل آبی ۰/۵- و ۰/۷- مگاپاسکال تهیه شده به روش میشل و کافمن (۱۹۷۳) و آب مقطر صفر مگاپاسکال) بود. بذور پرایم شده (هیدروپرایمینگ با آب مقطر و اسموپرایمینگ با محلول ۵۰ میلی مولار نیترات پتاسیم به مدت ۸ ساعت) و بدون پرایم دو اکوتیپ کاسنی (تهران و شیراز) ، روی کاغذ صافی و در پتری دیش هایی قرار گرفتند که با محلول هایی از پلی اتیلن گلایکول مرطوب شدند. برای شرایط بدون تنش (پتانسیل صفر) از آب مقطر استفاده شد. ظروف در طی آزمایش در انکوباتور با دمای ۱ ± ۲۵ قرار گرفتند. بعد از جوانه زدن از گیاهچه های ۱۰ روزه حاصل از اعمال تیمار های خشکی برای تعیین وزن خشک (۵۰ عدد گیاهچه) استفاده شد. با قرار دادن گیاهچه های کاسنی در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت وزن خشک محاسبه گردید. برای تعیین شاخص های فیزیولوژیکی و آنزیمی نیز گیاهچه های ۱۰ روزه سریعا با نیتروژن مایع، منجمد و سپس در فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند تا برای ارزیابی صفات بیوشیمیایی شامل مقدار پرولین به روش بیتس و همکاران (۱۹۷۳)، سنجش میزان مالون دی آلدئید از روش استوارت و بیولی (۱۹۸۰)، نشت الکترولیت به روش ژائو و همکاران (۱۹۹۲)، فعالیت آنزیم اسکوربیت پراکسیداز به روش ناکانو و اسدا (۱۹۷۸)، فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز به روش همدا و کلین (۱۹۹۰) استفاده شوند. برای تجزیه آماری از برنامه آماری SAS استفاده شد و میانگین تیمارها با آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح یک درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

با توجه به جدول ۱، اکوتیپ شیراز از نظر وزن خشک گیاهچه، میزان پرولین و فعالیت آنزیم های کاتالاز و اسکوربات پراکسیداز نسبت به اکوتیپ تهران برتر ولی اکوتیپ شیراز میزان مالون دی آلدئید و درصد نشت الکترولیتی کمتری داشت. بیشتر بودن وزن خشک گیاهچه در اکوتیپ شیراز می تواند به د لیل سرعت جوانه زنی بیشتر و ظهور زودتر گیاهچه باشد، در نتیجه فرصت کافی برای بهره برداری از همه اندوخته های بذر برای رشد گیاهچه فراهم شده است. با توجه به میزان مالون دی آلدئید و درصد نشت الکترولیتی کمتر در گیاهچه اکوتیپ شیراز ثابت می‌شود که اکوتیپ شیراز به ویژه از طریق فعال کردن دو آنزیم آنتی اکسیدانتی کاتالاز و اسکوربات پراکسیداز میزان پراکسیداسیون لیپیدی غشاء را بهتر کنترل کرده است. این اکوتیپ همچنین در طی شرایط تنشی با تولید ترکیبات محلول سازگار مثل پرولین در جهت کاهش صدمات اکسایشی و حفظ سیالیت و یکپارچگی غشاهای زیستی فعال‌تر بوده است. با هیدرو و اسمو پرایمینگ وزن خشک گیاهچه، فعالیت ۳ آنزیم آنتی‌اکسیدانتی افزایش یافت و این افزایش با اسموپرایمینگ بیشتر بود ولی میزان مالون دی آلدئید و درصد نشت الکترولیتی و میزان پرولین کاهش یافت، و با اسموپرایمینگ کمترین میزان بود (جدول ۱). بهبود وزن خشک گیاهچه با تیمار اسموپرایمینگ در ارتباط با افزایش کارآیی بذر و بهبود شاخص های بیوشیمیایی دخیل در جوانه زنی می باشد. برتری اسمو و هیدروپرایمینگ از نظر این صفات ممکن است نخست

به سبب کوتاه کردن زمان جوانه‌زنی و رشد سریع‌تر و بهتر گیاهچه باشد، که این چنین گیاهچه هایی معمولا شاخص‌های فیزیولوژیکی بهتری را نشان می‌دهند. دیگر این که پرایمینگ بر بیان بیشتر ژن های بروز دهنده آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی نقش موثری دارد (چن و آرورا، ۲۰۱۲). اثر بهتر اسموپرایمینگ با نیترات پتاسیم نسبت به هیدروپرایمینگ می‌تواند هم به دلیل جذب آب به میزان کافی و تکمیل فرآیندهای متابولیکی لازم در طی پرایمینگ باشد و یا اثرات احتمالی آنیون نیترات (به عنوان یک مولکول سیگنال و منبع تغذیه ای) ویا نقش کاتیون پتاسیم در سیستم آنزیمی و تنفسی، تعادل پتانسیل و آماس غشاء و تنظیم فشار اسمزی باشد. بدین ترتیب در طی پرایمینگ با جذب کنترل شده آب، تولید گونه های فعال اکسیژن بر مسیرهای پیام رسانی و سنتز آنتی‌اکسیدانت ها و آنزیم‌های سنتز کننده پرولین اثر می گذارد. با افزایش تنش از صفر به ۰/۵- و به ۰/۷- مگاپاسکال وزن خشک گیاهچه با تفاوت معنی‌داری کاهش، ولی میزان مالون دی آلدئید، درصد نشت الکترولیتی، میزان پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانتی گیاهچه در سطح تنشی ۰/۵- و به ویژه در ۰/۷- مگاپاسکال افزایش یافت (جدول۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین شاخص های فیزیولوژیکی در اثر پرایمینگ و سطوح متفاوت پتانسیل آب (تنش خشکی) درگیاهچه اکوتیپ های کاسنی

منابع تغییرات	صفات فیزیولوژیکی						
	وزن خشک گیاهچه (میلی گرم)	مالون دی آلدئید (میکرومول بر گرم وزن تر)	پرولین (میکروگرم بر گرم وزن تر)	پراکسیداز (میکرومول پراکسید هیدروژن بر میلی گرم پروتیین در دقیقه)	کاتالاز (میکرومول پراکسید هیدروژن بر میلی گرم پروتیین در دقیقه)	اسکوربات پراکسیداز (میکرومول پراکسید هیدروژن بر میلی گرم پروتیین در دقیقه)	٪ نشت الکترولیتی
اکوتیپ							
تهران	۰/۴۳۲b	۰/۰۵۳a	۱۱۷/۳b	۱۳/۵۹a	۲/۷۴b	۱/۱۸b	۳۲/۲۲a
شیراز	۰/۴۳۷a	۰/۰۵۱b	۱۱۸/۵a	۱۳/۷۰a	۲/۸۷a	۱/۲۶a	۳۱/۴۹b
پرایمینگ							
بدون پرایم	۰/۳۹۲c	۰/۰۶۲a	۱۳۰a	۹/۶۳c	۲/۶۲c	۰/۸۲c	۳۸/۵۱a
هیدروپرایمینگ	۰/۴۵۰b	۰/۰۴۹b	۱۱۳/۶b	۱۵/۴۹b	۲/۸۰b	۱/۳۷b	۲۸/۹۶b
اسموپرایمینگ	۰/۴۶۳a	۰/۰۴۶c	۱۱۰/۲c	۱۵/۸۲a	۲/۹۹a	۱/۴۸a	۲۷/۸۴c
سطح پتانسیل آب							
صفر مگاپاسکال	۰/۴۶۰a	۰/۰۲۲c	۸۱/۷۹c	۱۱/۸۰c	۲/۲۴c	۰/۸۱c	۲۴/۷۳c
۰/۵- مگاپاسکال	۰/۴۳۷b	۰/۰۵۲b	۱۰۶/۳b	۱۳/۳۷b	۲/۷۹b	۱/۳۶b	۳۱/۸۵b
۰/۷- مگاپاسکال	۰/۴۰۸c	۰/۰۸۲a	۱۶۵/۷a	۱۵/۷۷a	۳/۴۰a	۱/۵۷a	۳۹/۳۸a

*حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۱ درصد آزمون چند دامنه ای دانکن می باشد.

کاهش وزن خشک می تواند ناشی از محدودیت دسترسی به آب و جذب کمتر آن توسط گیاهچه باشد. در شرایط تنش خشکی اولین پیامد بیوفیزیکی آن کاهش آماس است. بزرگ شدن سلول فرآیندی وابسته به فشار آماس می باشد و کاهش در آن باعث کاهش در رشد سلول می شود. افزایش مالون دی آلدئید نشانه کاهش سیالیت و تمامیت غشاها می‌باشد در چنین حالتی نظم

ساختمانی و طبیعی دو لایه فسفولیپیدی غشاء از دست می رود و این وضعیت افزایش نشت الکترولیتی و محلول سلولی را سبب می‌شود (گیل و توتجا، ۲۰۱۰). پرولین از اسید آمینه های فعال است که در تنظیم فشار اسمزی، حفاظت از مولکول های پروتیینی، یکپارچگی و سیالیت غشاء سلولی، پاکسازی رادیکال‌های آزاد و عمل آنتی‌اکسیدانتی نقش دارد (گیل و توتجا، ۲۰۱۰). فعالیت بیشتر آنزیم های آنتی اکسیدانتی در شرایط تنشی، بدین دلیل است که تولید گونه های فعال اکسیژن افزایش می‌یابند و سبب خسارت اکسیداتیو می‌شوند. افزایش فعالیت این آنزیم های آنتی‌اکسیدانتی در راستای سمیت زدایی و جلوگیری از اثرات مخرب گونه های اکسیژن واکنشگر می‌باشد.

منابع

1. 1-Bradford, K. J. 1990. A water relation analysis of seed germination rates. Plant physiology.94:840-849.
2. 2-Chen, K. and Arora, R. 2013. Priming memory invokes seed stress-tolerance. Environmental and Experimental Botany. 94:33-45.
3. 3-Chevailer, A. 1996. The Encyclopedia of medicinal plants. Dorling Kindersley Books. 187-188.
4. 4-Ghana,S. G and Schillinger, W. S. 2003. Seed priming winter wheat for germination, emergence and yield. Crop Science.43:2135-2141.
5. 5-Gill, S. S. and Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry.48:909-930.
6. 6-Hemeda, H. M., Klein, B. P. 1990. Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetable extracts. Journal of Food Sciences.55 (1):184-186.
7. 7-Michel, B. E. and Kaufmann, M. R. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. Plant Physiology.51:914-916.
8. 8-Nakano, Y and Asada, K.1987. Purification of Ascorbate Peroxidase in Spinach Chloroplasts; Its Inactivation in Ascorbate-Depleted Medium and Reactivation by Monodehydroascorbate Radical. Plant&Cell Physiology. 28:131-140.
9. 9-Rubatzky, V. E. and Yamaguchi, M. 1996. World Vegetables, Principles, Production and Nutritive value.
10. 10-Zhao, Y., Aspinall, D. and Paleg, L. G. 1992. Protection of membrane integrity in *Medicago sativa* L. by glycinebetaine against the effects of freezing. Journal of Plant Physiology.140:541-543.
11. 11-Stewart, R. R and Bewley, D. 1980. Lipid Peroxidation Associated with Accelerated Aging of Soybean Axes. American Society of Plant Biologists.65:245-248.

Effect of seed priming and various levels of water potential on physiological indices and antioxidant enzymes of seedling chicory's ecotypes (*Cichorium intybus* L.)

F. Sedighi Dehkordi[1], M. Nabipour[1], M. Maskarbashee[1]

1-Shahid Chamran University

*CorrespondingCorresponding author: Far_sedighi@scu.ac.ir

Abastract

In order to determine the effect of the seed priming treatments and various levels of soil water potential on physiological indices (proline, malondialdehyde, electrolyte leakage and antioxidant enzyme: Peroxidase, Ascorbate peroxidase, catalase and dry weight) of seedling chicory's ecotypes a factorial experiment based on completely randomized design was conducted with three replications. Treatment included two ecotypes (Tehran and Shiraz), Three priming treatments (Osmopriming: potassium nitrate 50mM, Hydropriming with distilled water and Nonprimed or control) and three levels of water potential (0, -0.5 and -0.7MPa by Polyethylene glycol 6000 and zero MPa by distilled water). Result showed Shiraz ecotype had greater dry matter, proline content and antioxidant enzymes (APX, CAT) activity but malondialdehyde and electrolyte leakage was less than Tehran ecotype. Dry matter and antioxidant enzymes increased with Hydro and Osmopriming, but malondialdehyde and electrolyte leakage and proline content decreased, in this case the lowest rate was with Osmopriming. With increasing drought from 0, -0.5 and -0.7MPa Seedling dry weight decreased significantly but

malondialdehyde, electrolyte leakage, proline content and antioxidant enzymes increased in -0.5 and in particular in -0.7 MPa.

Key words: Chicory, priming, drought stress.