

## تأثیر پیش تیمار بذر لیمو شیرین با اسید اسکوربیک روی جوانه‌زنی در شرایط شوری

سهیلا محمدرضاخانی<sup>1</sup>، زهرا پاک کیش<sup>2</sup>

1- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران. 2- استادیار پژوهشکده باغبانی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران.

### چکیده:

شوری یک از مهمترین فاکتورهای اکولوژیکی می‌باشد، زیرا تولید مواد غذایی را محدود می‌کند. بمنظور بررسی اثر پیش تیمار اسید اسکوربیک بر بهبود شرایط جوانه‌زنی و رشد گیاهچه در شرایط تنش شوری آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت گرفته است. بذره‌های لیمو شیرین بعد از خسیاندن در محلول‌های در اسید اسکوربیک (1 و 2 درصد) بمدت 48 ساعت، جهت جوانه‌زنی در شرایط شوری، به پتری‌دیش‌های حاوی محلول NaCl با غلظت‌های (50 و 100 میلی مولار) منتقل شد. نتایج نشان داد که شوری باعث کاهش جوانه‌زنی در بذره‌های لیمو شیرین می‌شود. پیش تیمار کردن تأثیر مثبتی بر جوانه‌زنی هم در بذره‌های شاهد و هم در بذره‌های تحت تنش داشت. پیش تیمار کردن همچنین طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن تر و خشک را هم افزایش داد و همچنین زمان لازم برای جوانه‌زدن را کاهش می‌دهد. اسید اسکوربیک با کمترین غلظت بیشترین تأثیر را روی تعدیل کردن شرایط شوری داشت.

کلمات کلیدی: آنتی‌اکسیدان، تنش، رادیکال‌های آزاد، جوانه‌زنی، لمون

### مقدمه:

شوری خاک یکی از مهمترین عوامل محدودکننده رشد گیاهان در مناطق خشک و نیمه خشک است، به طوری که حدود 7 درصد زمین‌های جهان و 5 درصد زمین‌های قابل کشت تحت تأثیر شوری قرار داشته و محصولات آنها دچار خسارت می‌شوند (9). تقریباً 30 درصد از نواحی ایران که بیشتر از 17 میلیون هکتار می‌باشد، در معرض شوری قرار گرفته است (11) و کاربرد گیاهان مقاوم به شوری یکی از موثرترین روش‌ها در مناطق خشک و نیمه خشک می‌باشد (18). جوانه‌زدن در بذره‌های مرکبات کند می‌باشد، حضور بازدارنده‌های رشد و مقاومت‌های فیزیکی در پوشش بذرها باعث تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود، پرایمینگ بذرها بطور قابل توجهی روی زمان جوانه‌زنی تأثیر دارند و منجر به رشد بهتر و افزایش عملکرد به ویژه در گیاهان تحت تنش می‌شوند (1). جوانه‌زدن بذرها یک مرحله حساس و حیاتی در چرخه زندگی گیاهان بویژه در حضور تنش‌های محیطی می‌شود، شوری و دمای زیاد از مهمترین تنش‌های محیطی که از جوانه‌زدن بذرها جلوگیری می‌کند (19). هورمون‌های مضر مانند اسید اسیزبیک افزایش می‌یابد و هورمون‌های تحریک کننده مانند سایتوکینین را کاهش می‌دهد (16). تیمار بذرها با تنظیم کننده‌های اثرات زیادی روی جوانه‌زنی در شرایط شوری دارند (6). سطح زیاد شوری بطور قابل توجهی مانع جوانه‌زنی و رشد بذر می‌شود که این از افزایش پتانسیل اسمزی و سمیت یونها ناشی می‌گردد، اولین اثر شوری بر رشد گیاهان عدم یکنواختی در جوانه‌زنی و سبز شدن بذور می‌باشد (12). پیش تیمار بذر (15) عبارتست از کنترل جذب آب درون بذر، آنچنانکه فعالیت متابولیکی لازم جهت جوانه‌زنی اتفاق افتد، بدون اینکه ریشه‌چه از بذر خارج شود، در عین حال فعالیت‌های فیزیولوژیکی مختلفی در سطوح متفاوت رطوبتی در داخل بذر رخ می‌دهد و منظور از پیش تیمار بذر کاهش دادن زمان جوانه‌زنی، رخ دادن جوانه زنی در یک دوره کوتاه و بهبود زنده مانی و درصد جوانه زنی و یکنواختی در آن می‌باشد (28). اثرات منفی غلظت شوری زیاد روی رشد و نمو گیاهان باعث کمبود آب، سمیت یون با سدیم و کلر زیاد و عدم تعادل در حمل مواد غذایی می‌شود. جوانه‌زنی یک شاخص در برخی از گونه‌ها و واریته‌ها بمنظور مقاومت به شوری می‌باشد. طول ریشه و ساقه یکی از مهمترین پارامتر برای تنش شوری می‌باشد. شوری از رشد گیاهان و افزایش طول و وزن تر ریشه و ساقه جلوگیری می‌کند، اما

طول ریشه بیشتر از طول ساقه تحت تاثیر قرار می‌گیرد (17). گزارش‌های زیادی در مورد کاهش یا تاخیر در جوانه‌زدن تحت شوری می‌شود (24). تنش شوری باعث خسارت به لیبدهای غشا، پروتین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود (22). مواد آنتی‌اکسیدان موجود در گیاهان سبب خنثی سازی این رادیکالهای آزاد می‌گردند که از مهمترین آنها می‌توان آسکوربیک اسید، توکوفرول و گلوکاتینون را نام برد (31). اسید اسکوربیک در گیاهان باعث تولید آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشد و اثرات شوری را کاهش می‌دهد (23). در مجموع اسید اسکوربیک باعث محافظت گیاهان بر علیه گونه‌های فعال اکسیژن و در رشد و تقسیم سلولی به عنوان یک کوفاکتور برای آنزیم‌های زیادی می‌شود (2). اسید اسکوربیک اثرات بیولوژیکی مهمی روی گیاهان و حیوانات دارند، اسید اسکوربیک تقسیم و توسعه سلولی را تحریک می‌کند (21). اسید اسکوربیک به دلیل حذف رادیکال‌های آزاد حاصل از تنش‌ها به خصوص اکسیژن رادیکالی و نقش آن در تحریک و انبساط سلولی و جذب مواد به درون سلول می‌تواند از خطر اکسیده شدن گیاهان در برابر تنش‌های محیطی جلوگیری کند (27). میزان اسید اسکوربیک به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قابل حل در آب است که در سمیت زدایی گونه‌ها فعال اکسیژن به ویژه پراکسید هیدروژن نقش دارد به علاوه به طور مستقیم در خنثی کردن رادیکال‌های سوپراکسید، اکسیژن منفرد یا سوپر اکسید و به عنوان یک آنتی‌اکسیدان ثانویه در باز تولید آلفا توکوفرول و دیگر آنتی‌اکسیدان‌های چربی دوست نقش ایفا می‌کند. مصرف خارجی اسید اسکوربیک می‌تواند مقاومت به تنش شوری را افزایش و سبب کاهش اثر تنش آسکوربیک اسید همراه با گلوکاتینون و چندین آنزیم آنتی‌اکسیداتیو حاصله شود (26).

### مواد و روش‌ها:

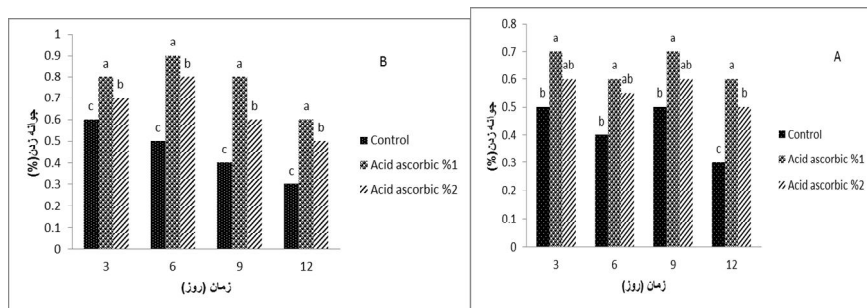
این آزمایش در آزمایشگاه باغبانی دانشگاه شهید باهنر کرمان انجام شد، ابتدا بذرهای سالم و یکنواخت انتخاب گردید و به مدت 10 دقیقه در هیپوکلریت سدیم 15 درصد ضدعفونی و سپس با آب مقطر شسته شدند. از این بذور به تعداد 10 عدد درون ظرف پتری دیش‌های ضدعفونی شده قرار داده و سپس به هر ظرف پتری حدود 10 میلی‌لیتر از محلول‌های آماده شده اضافه کرده و به مدت 2 روز بذرها در محلول مختلف (بذر لیموشیرین با محلول اسید اسکوربیک 1 و 2 درصد) قرار گرفته بعد از آن بذرهای خیس خورده در محلول‌های نامبرده رابه مدت 5 ساعت در سطح شوری 50 و 100 میلی‌مولار از نمک NaCl قرار داده و سپس بذرها، به پتری دیش‌های استریل حاوی کاغذ صافی انتقال داده شدند. به منظور بررسی اثر پیش‌تیمار بذور و میزان مقاومت به تنش شوری شاخص‌های درصد (5) و زمان جوانه‌زنی (7)، طول ریشه‌چه، ساقه‌چه، وزن خشک، تر ریشه‌چه و ساقه‌چه مورد بررسی قرار گرفتند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار صورت گرفته و برای تجزیه تحلیل داده‌ها از نرم افزارهای آماری SAS استفاده شد و مقایسه میانگین داده‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال 1 درصد صورت پذیرفت.

### نتیجه و بحث:

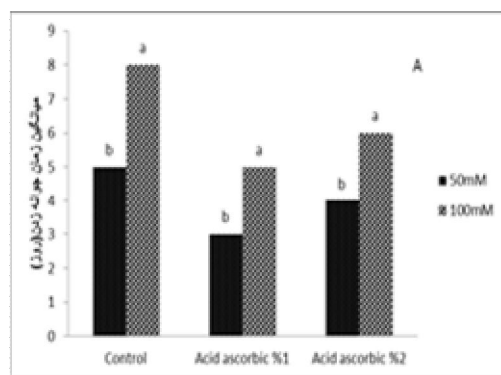
زمان و درصد جوانه‌زدن:

در بذرها لیموشیرین درصد جوانه زنی با افزایش شوری کاهش پیدا می‌کند، اگرچه پیش تیمار کردن بذرها با اسید اسکوربیک درصد جوانه‌زدن در را زیاد کرده است (شکل 1). خسیانندن بذرها *Solanium melangena* قبل از کشت در اسید اسکوربیک و تیمار جوانه‌زنی، وزن تر و خشک را در ریشه و شاخه‌ها افزایش داد (10) که مشابه نتایج حاصل از این پژوهش می‌باشد. پیش تیمار کردن همچنین زمان لازم برای جوانه‌زدن در بذرها لیمو ترش تیمار شده را نسبت به بذرها شاهد کاهش داده است (شکل 3). خسیانندن

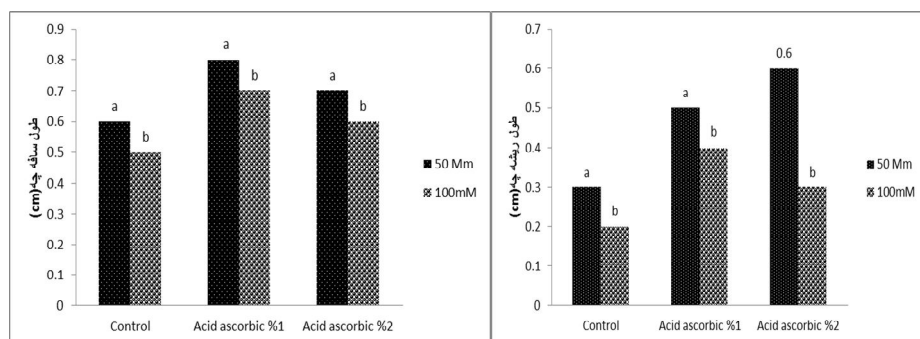
بذرهای *Vicia faba* در اسیداسکوربیک و تیامین جوانه زدن و رشد دانه‌ها را افزایش داده است و در نتیجه زمان لازم برای جوانه زدن را کاهش داده است (14). شوری همچنین طول ریشه‌چه و ساقه‌چه را در بذرها (شکل 5) کاهش داده است این در حالی است که در بذرهای پیش تیمار شده کاهش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه کمتر است. وزن تر و خشک ریشه‌چه هم در اثر شوری کاهش یافته است (شکل 6 و 7). بطور کلی در این پژوهش تیمار کردن بذرها اثران شوری را تعدیل کرده است.



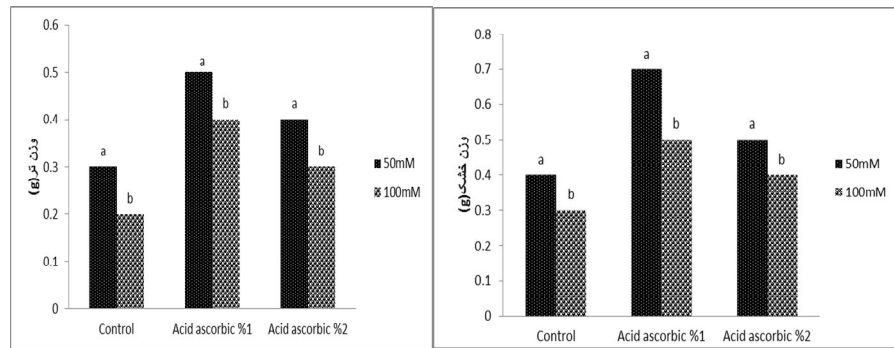
شکل 1. تاثیر اسید اسکوربیک روی درصد جوانه زدن در بذرهای لیموشیرین. بترتیب در شوری A: 50 میلی مولار، B: 100 میلی مولار



شکل 2. تاثیر پیش تیمار اسید اسکوربیک روی میانگین زمان لازم برای جوانه زنی در لیموشیرین.



شکل 3. تاثیر پیش تیمار اسید اسکوربیک روی طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در بذرهای لیموشیرین تحت شوری 50 و 100 میلی مولار.



شکل 4. تاثیر پیش تیمار اسید اسکوربیک روی وزن تر و خشک ریشه چه در بذرهای لیموشیرین تحت شوری 50 و 100 میلی مولار. مواد آنتی اکسیدان موجود در گیاهان سبب خنثی سازی رادیکال‌های آزاد می‌گردند که از مهمترین آنها می‌توان آسکوربیک اسید، توکوفرول و گلوکاتینون را نام برد (31). اسید اسکوربیک باعث افزایش درصد جوانه‌زدن در گیاه گوجه‌فرنگی تحت شوری می‌شود (8). شوری درصد جوانه‌زنی و رشد دانه‌ها را در برنج کاهش داده و از گسترش سطح برگ، تولید ماده خشک جلوگیری می‌کند (20). تنش شوری باعث تاخیر در جوانه‌زنی، کاهش سرعت و درصد جوانه‌زنی می‌شود. شوری میزان جوانه‌زنی بذور گیاهان مختلف را تحت تاثیر قرار می‌دهد. اگر چه درصد جوانه‌زنی در بذرهای اسفناج، کاهو، چغندر قند، کلم (30) و کلزا (24) کاهش پیدا می‌کند. اعمال تیمارهای با هورمون‌های گیاهی می‌تواند بر پاسخ گیاهان به تنش شوری تاثیر گذاشته و از اثرات مخرب آن بر گیاه بکاهد، جنبه ثانویه از مشکل شوری در گیاهان القاء تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن است، که در شرایط تنش در گیاه افزایش می‌یابد و روی ماکرومولکول‌های داخل سلولی اثر کرده و باعث تخریب آنها می‌شوند. گیاه برای از بین بردن این رادیکال‌ها از آنتی‌اکسیدان‌ها از جمله آسکوربیک اسید استفاده می‌کند (4). خیساندن بذرهای *Solanum melangena* قبل از کشت در اسید اسکوربیک وزن تر و خشک را در شاخه‌ها و ریشه‌ها افزایش داده است (10). بر طبق مطالعات، گزارش شده است که آسکوربات خارجی می‌تواند مقاومت به تنش شوری را در گیاهان افزایش داده و همچنین تنش اکسیداتیو را کاهش دهد (25). میزان جوانه‌زنی در گیاهان نخود و لوبیا که تحت تنش شوری کاهش یافته بود، با افزودن تیمار اسید اسکوربیک افزایش یافته و کنترل گردید (3). اسید اسکوربیک به دلیل حذف رادیکال‌های آزاد حاصل از تنش‌ها به خصوص اکسیژن رادیکالی و نقش آن در تحریک و انبساط سلولی و جذب مواد به درون سلول می‌تواند از خطر اکسید شدن گیاهان در برابر تنش‌ها محیطی جلوگیری کند (27). شوری منجر به کاهش طول ریشه و ساقه در چغندر قند می‌شود، که طول ریشه بیشتر تحت تاثیر قرار می‌گیرد. این کاهش در اثر سمیت NaCl که باعث عدم تعادل در جذب مواد غذایی توسط دانه‌ها می‌شود (17). وزن خشک گیاهچه‌ها بشدت با افزایش غلظت نمک کاهش می‌یابد که این نتایج مطابق با نتایج Ghoulam و همکاران در سال 2002 می‌باشد آنها نیز نشان دادند که تنش شوری سبب کاهش رشد اندام هوایی و ریشه می‌شود (13).

#### منابع:

- 1-Afzal, I., S. M. A. Basra., N. Ahmad and M. Farooq . 2005. Optimization of hormonal priming techniques for alleviation of salinity stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) *Caderno de Pesquisa Ser. Bio.*, Santa Cruz do Sul. 17:95-109.
- 2-Athar, H. R.. A. Khan and M. Ashraf. 2008. Exogenously applied ascorbic acid alleviates salt-induced oxidative stress in wheat. *Environmental and Experimental Botany*. 63: 224-231.

- 3-Al-qurainy, F. 2007. Responses of bean and pea to vitamin C under salinity stress. *Agriculture and Biological Sciences*. 3(6): 714-722.
- 4-Asad, K. 1999. The water-water cycle in chloroplast : scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 50: 601-639.
- 5-Bangi, N. 1970. Metabolic changes of polyamines during the germination of *Phaseolus vulgaris*. *New Phytology*. 69: 159-164.
- 6-Cavusoglu K and K, Kabar 2008 Comparative effects of some plant growth regulators on the germination of barley seeds under saline conditions. *Science Engineering Journal of Firat Universitesi*. 20:43-55.
- 7-Couee, I., I, Hummel and A, Amrani . 2004. Involvement of polyamines in root development. *Plant Cell Tissue Organ Culture*. 61: 7-10..
- 8-Debmalya Barh, H., C. Srivastava, and B. C. Mazumdar. Self Fruit Extract and Vitamin-C Improves Tomato Seed Germination. 2008. *Journal of Applied Sciences Research*. 4(2): 156-165.
- 9-Epstein, E., J. Norlyn and D. W. Rush. 1980. Saline culture of crops: a genetic approach. *Science*. 210:399-404.
- 10-El-Zawahry, A. M and A. M. Hamed, . 1994. The effect of soaking seeds in ascorbic acid pyridoxine or thiamin solution on Nematodes(*Meloidogyne Javanica*) infection and on some metabolic processes in egg plant. *Assiut. Journal. Agricultural. Science*. 25:233-248.
- 11- Ghassemi, F., A. J. Jackman and H. A. Nix. 1995. Salinisation of land and water resources Human causes extend, management and case studies. UNSW press, Sydney, Australia, and CAB International, Wallingford, UK.
- 12-Grieve, C. M., S. Lesch., L. E. Francois., and E. W. Maas. 1992. Analysis of main-spike yield components in salt-stressed wheat. *Crop Science*. 32: 697-703
- 13-Ghoulam C. F., F. Ahmed and F. Khalid . 2001. Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. *Environ. Experimental. Botany*. 47: 139-150
- 14-Hamada, A. M and E. M. Khulaef. 2000. Stimulative effects of ascorbic acid, thiamin or pyridoxine on *Vicia faba* growth and some related metabolic activities. *J. Biolo. Sci*. 3:1330-1332
- 15-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. *Experimental Agricultural*. 35: 15-29.
- 16-Jia, W., Y, Wang ., S, Zhang ., J, Zhang . 2002. Salt-stress-induced ABA accumulation is more sensitively triggered in roots than in shoots. *Journal of Experimental Botany* 53: 2201-2206.

- 17-Jamil, M., D. B. Lee ., K. Y. Jung ., M. Ashraf ., S. H. C. Lee and E. S. H. Rha . 2006. Effect of salt (NaCl) stress on germination and early seedling growth of four vegetables species. *Central european agriculture* , 7(2):273-282.
- 18-Khalesro, S and M. Aghaalikhani . 2006. Effect of salinity and drought stress on seed germination in forage sorghum (*Sorghum bicolor* L.) and Pearl millet (*Pennisetum americanum* L.) *Horticultural. Journal.* 77 : 153-163.
- 19-Keys R. D., O. E. Smith ., J. Kumamoto ., J. L. Lyon. 1975. Effect of gibberellic acid, kinetin and ethylene plus carbondioxide on the thermodormancy of lettuce seed (*Lactuca sativa* L). *Physiology Plant Molecular Biology* . 49: 249-279.
- 20-Mansour M. M and K. H. Salama . 2004. Cellular basis of salinity tolerance in plants. *Environment. . Experimental. Botany.* 52: 113- 122.
- 21-Liso, R., G. Calabrese., M. bitont and O. Arrigoni. 1984. Relationship between ascorbic acid and cell division. *Expermental cell Research.* 150:314-320.
- 22-Pastori, G. M., G. Kiddle ., J. Antoniw ., S. Bernard ., S. Veljovic-Jovanovic ., P. J. Verrier ., G. Noctor and C. H. Foyer. 2003. Leaf vitamin C contents modulate plant defense transcripts and regulate genes that control development through hormone signaling. *Plant Cell* 15: 939-951.
- 23-Puppala, N., J. L. poindexter and H. L. Bhadwination. 1999. Evulation of salinily tolerance of canola germination” *Perspectives on New crops and New uses* .251-253.
- 24-Shaddad, M. A., A. F. Radi ., A. M. Abd El- Rahaman ., M. M. Azzoz . 1990. Responses of seeds of *Lupinus termis* and *Vicia faba* to the interactive effect of salinity and ascorbic acid or pyridoxine (B6). *Plant and Soil.* 122, 177-183.
- 25-Shalata, A and P. M. Neumann . 2001. Exogenous ascorbic acid (Vitamin c) increases resistance to salt stress and reduce lipide peroxidation. *Journal of Experimental Botany.* 52:2207-2211.
- 26-Smirnoff, N and G. L. Wheeler. 2000. Ascorbic acid in Plants: biosynthesis and function, *Critical Reviews in Plant Sciences.* 19:267-290.
- 27-Taylor, A. G. 1997. Seed storage, germination and quality. In: *The Physiology of Vegetable Crops*, ed.H.C. Wien. Wallingford, U. K: CAB International. pp. 1-36.
- 28-Wang, Q., L.U. Longdou ., W. U. Xiaoqin ., L. I. Yiqin and L. Jinxing . 2003. Boron influences pollen germination and pollen tube growth in *Picea meyeri*. *Tree Physiology* 23: 345-351.
- 29-Zapate, P., M. Sarrano ., M. Pretel ., A. Amoros ., M. Botello. 2004. Polyamines and ethylene change during germination of different plant species under salinity. *Plant Science.* 167: 781-788.

30-Zhang, J., and M. B. Kirkham. 1996. Lipid peroxidation in sorghum and sunflower seedlings as affected by ascorbic acid, benzoic acid, acid and propyl gallate. Journal. Plant Physiology. 149:489-493.

### **Effect of Pre-soaking Seeds of sweet lemon (*Citrus limetta* L.) with ascorbic acid on Seed Germination in salt condition**

Soheila Mohammad –Rezakhani\* 1 and Zahra Pakkish 2

1- Master Science (MSc.) Student of Horticultural Science, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran

[Smohammadrezakani@yahoo.com](mailto:Smohammadrezakani@yahoo.com)

2- Assistant professor, Horticultural Research Institute, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran

zpakkish@yahoo.com

#### **Abstract**

Salinity is a serious problem to agricultural crops production. To investigate the influence of soaking seeds in sweet lemon on seed germination and time germination of sweet lemon, the experiment were carried out in Petri dishes. Seeds were soaked in salt solution (50 and 100mMol), then seeds were soaked in ascorbic acid treatment (1 and 2%), for 48h and then seeds were put in Petri dishes and seed germination evaluated. The results showed that soaking seeds in ascorbic acid significantly increased mean germination time germination, rate, fresh weight and dry weight. We concluded that pre soaking seeds in ascorbic acid 1% is a useful method to induce seed germination, rate germination in citrus.

Keywords: Antioxidant, free radical, germination, Lemon, Stress