اثر پرایمینگ بذری بر صفات آنزیماتیکی و مورفولوژیکی گندم (*Triticum aestivum* L.) در شرایط کمبود آب[1]

Effect of seed priming on enzymatic and morphological characteristics of wheat (*Triticum aestivum* L.) under water deficiency conditions

فریبرز شکاری[1*]، امین عباسی[2]، عبدالله جوانمرد[3]

۱-دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه
۲-دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه
۳- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه
*نویسنده مسئول: shekari_fb@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۶/۱۵ **تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۹/۲۴**

چکیده

پرایمینگ یکی از روش‌های بهبود کارکرد بذر بوده که می‌تواند به ارتقای رشد اولیه گیاه و چیرگی بر دشواری‌های محیطی انجامیده و در نهایت با استقرار بهینه گیاهچه‌ها عملکرد بالای گیاه را در پی داشته باشد. در این راستا، به‌منظور شناسایی اثرات پرایمینگ بذر در شرایط کمبود آب بر ویژگی‌های آنزیمی و مورفولوژیکی گندم، آزمایشی به-صورت فاکتوریل بر پایه‌ی طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۵ تیمار و سه تکرار، در آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه در سال ۱۳۹۳ اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل سطوح آبیاری (۹۰، ۶۰ و۳۰ درصد آب ظرفیت زراعی) و پرایمینگ هورمونی (بذر خشک، هیدروپرایمینگ، اسید سالسیلیک (۵۰ میکرو مولار)، اسید جیبرلیک (۷۵ میلی‌گرم بر لیتر) و پاکلوبوترازول (۲۵ میلی‌گرم بر لیتر)) بود. نتایج نشان دادند که کمبود آب موجب کاهش معنی‌دار سطح برگ، وزن خشک کل، کلروفیل، محتوای مالون‌دی‌آلدئید، پراکسید هیدروژن، پرولین، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز گندم گردید. درحالی که کاربرد پرایمینگ‌های هورمونی تحت کمبود آب موجب افزایش معنی‌دار صفاتی مانند مقدار کلروفیل، مالون‌دی آلدئید، پرولین، سوپر اکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز شد. در این میان اثر متقابل پرایمینگ پاکلوبوترازول با آبیاری ۳۰ درصد آب قابل استفاده، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز را به ترتیب ۲/۰۵، ۰/۱۲ و ۰/۰۴۶ واحد افزایش داد. حال آنکه پرایمینگ هورمونی پاکلوبوترازول توانست تا حدود زیادی در ایجاد تعادل و حفظ پایداری سلولی نقش سودمندی را ایفا نماید. پرایمینگ‌های هورمونی تاثیرات مثبتی را بر فعالیت آنزیم‌های مورد بررسی داشتند لیکن، تیمار پاکلوبوترازول اثرات بیش‌تری را در این راستا، به همراه داشت.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، اسید جیبرلیک، اسید سالیسیلیک، پاکلوبوترازول و پرولین.

مقدمه

از میان تنش‌های محیطی، تنش خشکی و بروز وضعیت کمبود آب مهمترین عوامل محدود کننده تولید محصولات زراعی در سیستم‌های کشاورزی مناطق خشک و نیمه خشک به شمار می‌آید. با توجه به میانگین نرخ رشد جمعیت، برآورد می‌شود که میزان آب مورد نیاز در مناطق مختلف دنیا به‌طور تقریبی هر ۳۵ سال دو برابر گردد (Oraki *el al*., 2012). رخداد یادشده و تنش خشکی حاصل از آن می‌تواند با تاثیر بر ظرفیت بیوسنتزی گیاهان موجب ایجاد آسیب‌هایی به گیاه به ویژه، در ارتباط با محتوی کلروفیل و کارتنوئیدها، افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و پرولین گردد (Benech-Arnold, 2004).

تنش خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی است که بر جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه‌ها تاثیر می‌گذارد. افزایش توانایی جوانه‌زنی بذرها در این شرایط، شانس استقرار بیش‌تر گیاهان و تراکم بالاتر آنها را به دنبال خواهد داشت. روند اخیر می‌تواند در بسیاری از شرایط به افزایش عملکرد گیاهان زراعی بیانجامد (Kaya *et al*., 2006). گذشته از این، تولید غلات در مناطق خشک اغلب، در اثر استقرار ضعیف پوشش گیاهی و نیز کمبود عناصر غذایی محدود می‌شود. در واقع، در چنین محیط‌هایی جوانه‌زنی بذر غلات نامنظم بوده و در دوره زمانی طولانی‌تری انجام خواهد پذیرفت (Bougne *et al*., 2000).

آنزیم‌ها اساساً کاتالیزور واکنش‌های فیزیولوژیکی گیاهان بوده و جزو حساس‌ترین عوامل ایجادکننده تغییرات فیزیولوژیک در گیاهان تحت تنش‌های محیطی به شمار می‌آیند (Foyer *el al*., 2011). تنش‌های محیطی موجب انباشت گونه‌های فعال اکسیژن[۲] مانند سوپر اکسید[۳]، پراکسید هیدروژن[۴]، رادیکال هیدروکسیل[۵] در سلول و آسیب به لیپیدهای غشایی، پروتیین‌ها و اسیدهای نوکلیئک می‌گردند (Sharma *et al*., 2012). در مقابل، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مهمترین ترکیبات در حذف و جمع‌آوری انواع اکسیژن فعال هستند (Pan *et al*., 2006). سیستم آنتی‌اکسیدانی در گیاهان عالی از چندین آنزیم ویژه تشکیل شده است که شامل گلوتاتیون پراکسیداز[۶]، کاتالاز[۷]، سوپراکسید دیسموتاز[۸]، آسکوربات پراکسیداز[۹] می‌باشد. این آنزیم‌ها می‌توانند رادیکال‌های اکسیژن فعال را که تولید آنها در شرایط تنش اکسیداتیو افزایش می‌یابد از میان برده (Tan *et al*., 2006) و سرانجام موجب پایداری گیاهان در برابر تنش‌های محیطی و از جمله تنش خشکی گردند (Sharma *et al*., 2012).

پاکلوبوترازول[۱۰] یک تنظیم‌کننده کاهش‌دهنده رشد گیاهی است که به گروه تریازول‌ها تعلق دارد. این ماده سبب ایجاد مقاومت به خشکی، شوری، سرما، گرما، آلودگی هوا، شرایط غرقابی، کمبود نیتروژن و پرتو فرابنفش می‌شود (Lolaei *et al*., 2013). اثرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی پاکلوبوترازول شامل تغییرات در رشد و ریخت‌شناسی گیاه (Kazaz & Karaguzel, 2010)، افزایش فعالیت آنتی اکسیدان‌ها، افزایش پرولین، تغییرات مقدار و نسبت تنظیم کننده‌های رشد، افزایش کوتیکول مومی، ایجاد کلروپلاست‌های بزرگ‌تر و افزایش رشد ریشه است. در مجموع، پاکلوبوترازول از راه ایجاد سازگاری‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مورفولوژیکی موجب افزایش مقاومت گیاهان به خشکی می‌گردد (Amina & Hanan, 2011). نقش حفاظتی تریازول‌ها ممکن است از توقف حمله اکسیداتیو، کاهش رادیکال‌های آزاد و افزایش سم‌زدایی آنها ناشی شود (Somasundaram *et al*., 2009). سوفر و همکاران (Sopher *et al*., 1999) اظهار داشتند که پاکلوبوترازول با تحریک تشکیل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و آنتی‌اکسیدان‌ها موجب

[2] Reactive oxygen species (ROS)
[3] Superoxide
[4] Hydrogen peroxide
[5] hydroxyl radical

[6] Glutathione peroxidase
[7] Catalase
[8] Superoxide dismutase
[9] Ascorbate peroxidase
[10] Paclobutrazol

افزایش مقاومت به تنش اکسیداتیو در گیاه گوجه‌فرنگی می‌گردد.

پرایمینگ[11] بذر با غلظت‌های بهینه هورمون‌های رشد گیاهی، به‌طور موثری می‌تواند موجب افزایش جوانه‌زنی، رشد اولیه و عملکرد نهایی محصول در گونه‌های مختلف گیاهان زراعی، تحت هر دو شرایط تنش و بدون تنش گردد (Lee *et al*., 1998). پرایمینگ عبارت از آبنوشی کنترل شده بذر و پسابیدگی پسایند آن در مرحله پیش از کاشت است. این راهکار، شیوه‌ای معمول برای افزایش سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی و سبز شدن تحت شرایط تنش و بدون تنش می‌باشد (Ashraf & Foolad, 2005).

به‌طور معمول، هورمون‌هایی که برای پرایمینگ به‌کار می‌روند شامل اکسین، جیبرلین، آبسزیک اسید، پلی‌آمین‌ها، اتیلن، براسینولید، اسید سالیسیلیک و آسکوربیک اسید بوده و در این میان، برخی از تنظیم کننده‌های اسمزی همانند گلایسین بتائین در کنار هورمون‌ها، به عنوان عامل پرایمینگ به کار رفته‌اند (Campbell *et al*., 1999). پرایمینگ بذر با هورمون‌های رشد گیاهی نه تنها جوانه‌زنی و سبز شدن را افزایش می‌دهد، بلکه موجب بهبود رشد و عملکرد نهایی گیاه در شرایط معمول و تنش‌زا نیز می‌گردد (Sabir-Ahamed, 1999). پرایمینگ موجب افزایش آنزیم‌های آنتی اکسیدان همانند گلوتاتیون و آسکوربات در بذر شده که این آنزیم‌ها فعالیت پراکسیداسیون لیپید را در طی جوانه‌زنی کاهش می‌دهند و در نتیجه موجب افزایش درصد جوانه‌زنی خواهند گردید (Rouhi *et al*., 2012).

اسید سالسیلیک[12] موجب افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌های زیستی و غیر زیستی از جمله تنش خشکی می‌گردد (Singh & Usha, 2003). این مقاومت ممکن است بر اثر افزایش فعالیت آنتی اکسیدان‌ها ایجاد گردد. در این میان اسید سالیسیلیک با تأثیر بر آنزیم‌های آنتی اکسیدان مانند کاتالاز (Slaymarker *et al*., 2002)، سوپراکسید دیسموتاز، پلی‌فنل‌اکسیداز و پراکسیدازها و متابولیت‌هایی مانند اسید آسکوربیک و گلوتاتیون و همچنین، تنظیم کننده‌ای اسمزی همانند پرولین، گلیسین و بتائین اثرات ناشی از تنش‌های خشکی، گرما، سرما و حتی بیماری‌های گیاهی را کاهش می‌دهد. اسلایمارکر و همکاران (Slaymarker *et al*., 2002) گزارش نمودند که پرایمینگ اسید سالیسیلیک با افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز تاثیر مثبتی بر جوانه‌زنی و رشد گیاه بابونه در شرایط تنش‌زا داشت.

اسید جیبرلیک در القای جوانه‌زنی و خواب فیزیولوژیکی بذر نقش اساسی ایفا می‌کند. این درحالی است که تنش‌های محیطی با جلوگیری از بیان ژن‌های مسئول سنتز اسید جیبرلیک در بذر، از تأثیراتی منفی روی جوانه‌زنی و سبز شدن گیاهان برخوردارند (Kim & Park, 2008). شاپفر و همکاران (Schopfer *et al*., 2001) نشان دادند که کاربرد اسید جیبرلیک برون‌زا موجب افزایش معنی‌دار جوانه‌زنی و فعالیت‌های آنتی اکسیدانی بذور گردید.

هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تأثیرات پرایمینگ‌های مختلف هورمونی روی ویژگی‌های زراعی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گندم دیم رقم سرداری ۳۹، در شرایط کمبود آب بود تا با افزودن بر توان گیاهچه‌ها موجب افزایش مقاومت در این مرحله حساس رشدی گردید.

مواد و روش‌ها

آزمایش به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۵ تیمار و سه تکرار، در آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه در سال ۱۳۹۳ اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی شامل سطوح آبیاری (۹۰، ۶۰ و ۳۰ درصد آب قابل استفاده) و پرایمینگ هورمونی (بذر خشک، هیدروپرایمینگ، اسید سالسیلیک (۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر)، اسید جیبرلیک (۷۵ میلی‌گرم بر لیتر) و پاکلوبوترازول (۲۵ میلی‌گرم بر لیتر) بود. برای تعیین تیمارهای آبی در هر گلدان (با قطر ۱۵ و طول ۲۵ سانتی‌متر)، نخست مقدار ۴ کیلوگرم خاک (با مشخصات ذکر شده در جدول ۱)،

[11] Priming
12 salicylic acid

در درون آون در دمای ۱۰۳ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و پس از ۴۸ ساعت توزین شد تا وزن خاک خشک تعیین گردد. سپس خاک خشک شده را در گلدان ریخته و به آرامی و تا حد اشباع، آب به آن افزوده گردید و پس از خارج شدن کامل آب ثقلی، گلدان‌ها توزین شدند. پس از کسر وزن گلدان و خاک خشک، مقدار آب نگهداری شده در ظرفیت زراعی تعیین گردید و با در نظر گرفتن نقطه پژمردگی تعیین شده (توسط دستگاه صفحه فشاری)، میزان آب در دسترس مشخص گردیده و تیمارهای مختلف بر این اساس محاسبه شدند (Amiri deh *et al*., 2012). بنابراین، اعمال تنش‌ها بر اساس وزنی بود و جهت نگهداری گلدان‌ها در سطح رطوبتی مناسب خود، وزن گلدان‌ها به‌صورت روزانه اندازه گیری و میزان کمبود آب جبران گردید.

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک

Table 1. Some physical and chemical properties of soil

بافت Texture	درصد نیتروژن کل Total nitrogen (%)	روی قابل جذب Zn (av.) (mg/kg)	منگنز قابل جذب Mn (av.) (mg/kg)	آهن قابل جذب Fe (av.) (mg/kg)	پتاسیم قابل جذب K (av.) (mg/kg)	فسفر قابل جذب P (av.) (mg/kg)	درصد کربن آلی Organic matter	درصد آهک Lime percent	pH	هدایت الکتریکی (دسی زیمنس بر متر) Electrical Conductivity (dS/m)
Sand-loam	0.05	0.48	7.52	6.13	321	4.47	0.31	11.68	7.43	0.42

گلدان‌ها در آزمایشگاه، با دمای ۱±۲۳ درجه سانتی‌گراد، شدت نور ۱±۲۵ کیلو لوکس و دوره نوری ۱۴ ساعت و دوره تاریکی ۱۰ ساعت و رطوبت نسبی ۶۵ درصد قرار گرفتند. شایان ذکر است که گیاهچه‌ها نزدیک به ۲ ماه در این شرایط رشد یافتند. سپس از برگ‌های مختلف بوته‌های گندم نمونه برگی تهیه و بی‌درنگ در نیتروژن مایع غوطه‌ور گشتند. نمونه‌های برگی تا زمان اندازه‌گیری پارامترهای مورد نظر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

جهت استخراج و سنجش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، اسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز به ترتیب براساس روش‌های سایروم و همکاران (Sairam *et al*., 2002)، ابی (Aebi, 1984) و یوشیمورا و همکاران (Yoshimura *et al*., 2000) بهره‌گیری شد. میزان پراکسید هیدروژن، میزان پراکسیداسیون لیپیدی و کلروفیل نیز به ترتیب، براساس روش ولیکوا و همکاران (Velikova *et al*., 2000)، استوارت و بولی (Stewart &Bewley, 1980) و نیکی (Niki, 2010) اندازه‌گیری گردید. همچنین، برای سنجش سطح برگ از دستگاه پلانیمتر (Planimeter No.317E Germany)، ارتفاع بوته، وزن خشک ریشه و وزن خشک ساقه از هر تیمار پنج تکرار گزینش و صفات مورد نظر اندازه‌گیری شدند.

تجزیه واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین‌ها به ترتیب با استفاده از نرم‌افزار Genstat 12 و آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز کل در برگ تحت تأثیر معنی‌دار سطوح تنش، پرایمینگ و اثر متقابل سطوح تنش و پرایمینگ قرار گرفت (جدول تجزیه واریانس نشان داده نشده است). بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (۲/۱ و ۲/۰۵ واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین) مربوط به پیش‌تیمار هورمونی اسید جیبرلیک و پاکلوبوترازول در شرایط اعمال تنش ۳۰ درصد آب در دسترس بود و کمترین مقدار فعالیت آن (۰/۳۸ واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین) مربوط به تیمار بذر خشک در شرایط بدون تنش بود (شکل ۱ و جدول ۲).

جدول۲- میانگین مربوط به پراکسید هیدروژن، پرولین، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز تحت تأثیر پیش‌تیمارهای هورمونی و کمبود آب در گندم.

Table 4. Mean of hydrogen peroxide, proline, superoxide dismutase and catalase under priming and water deficit in Wheat.

کمبود آب Water deficit	پراکسید هیدروژن H_2O_2 (µmol.g-1. FW)	پرولین Prolin (µmol.g-1. FW)	سوپراکسیددیسموتاز SOD (unit/mg.pr.min)	کاتالاز CAT (unit/mg.pr.min)
90	1.11b	10.82c	0.537c	0.054c
60	1.95a	20.56b	1.061b	0.110b
30	2.04a	29.8a	1.750a	0.155a
پرایمینگ Priming				
پاکلوبوترازول Paclobutrazol	1.4c	20.31b	1.31a	0.138a
اسید جیبرلیک Gibberellic acid	1.6bc	20.12b	1.39a	0.109b
هیدروپرایمینگ Hydropriming	1.5bc	19.5bc	1.00b	0.101b
سالیسیلیک اسید Salicylic Acid	1.72b	25a	1.10b	0.091b
بذر خشک Normal Seed	2.25a	17.54c	0.77c	0.092b

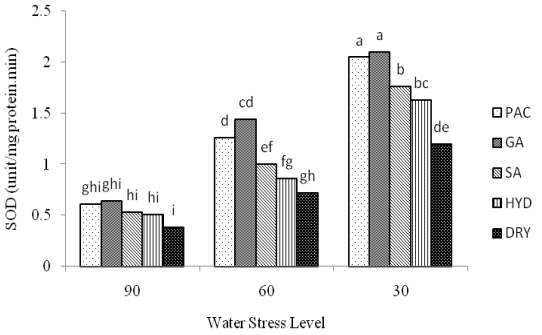
حروف مشابه بیانگر تفاوت غیرمعنی دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

The similar letters show non-significant difference at $P \leq 0.05$.

با کاربرد پرایمینگ اسید جیبرلیک و پاکلوبوترازول فعالیت این آنزیم در تیمارهای کمبود آب ۶۰ و ۳۰ درصد آب در دسترس به مقدار ۵۵/۵، ۵۰ و ۷۰، ۶۹ درصد افزایش یافت (شکل ۱). آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز یکی از آنزیم‌های کلیدی سیستم دفاعی گیاه جهت رویارویی با اکسیداسیون مواد بیولوژیک به شمار می‌آید که با فعالیت آن رادیکال سوپراکسید به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌شود (Alscher *et al.*, 2002). با کاهش فعالیت این آنزیم یا افزایش تولید سوپراکسید، این رادیکال در سلول تجمع می‌یابد که برآیند آن آسیب به مولکول‌های زیستی و بروز اختلالات متابولیسمی، همانند اکسیداسیون اسیدهای آمینه تریپتوفان، هیستیدین و متیونین می‌باشد (Breusegem *et al.*, 2001). از سویی دیگر این رادیکال در حضور عناصر چند ظرفیتی همانند مس و آهن و طی واکنش هابر-ویز به رادیکال هیدروکسیل تبدیل می‌گردد. این رادیکال خطرناک‌ترین فرم احیای ناقص اکسیژن می‌باشد که با تمامی ماکرومولکول‌های حیاتی وارد واکنش شده و آنها را اکسیده می‌نماید.

بنا به گزارش بایساک و همکاران (Baisak *et al.*, 1994) فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در طی کمبود آب افزایش معنی‌داری را نشان داد. شارما و همکاران (Sharma *et al.*, 2012) در گیاه جو گزارش کردند که با افزایش سطوح تنش خشکی میزان فعالیت این آنزیم در پاسخ به وقوع تنش افزایش می‌یابد. در صورتی که یانگ و همکاران (Yong *et al.*, 2006) نشان دادند که با افزایش شدت خشکی فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز کاهش می‌یابد. البته این اختلاف با نوع گونه گیاهی، مرحله رشد و نمو بافت گیاهی و شرایط محیطی مرتبط است(Yong *et al.*, 2006).

آسکوربات پراکسیداز یکی از مهمترین آنزیم‌های دفاعی است که نقش بسیار مهمی را در جمع‌آوری و احیای کامل پراکسید هیدروژن دارد. با فعالیت این آنزیم پراکسید هیدروژن به آب تبدیل می‌شود (Blokhina & Fagerstedt, 2010).

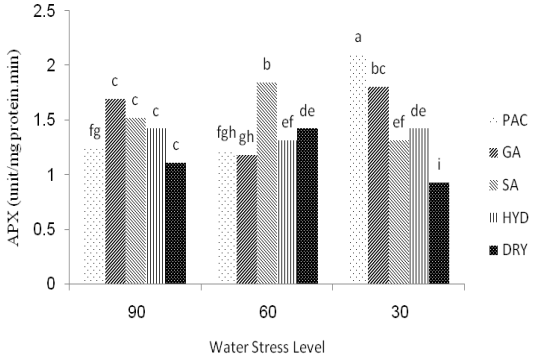


شکل ۱- اثر متقابل کمبود آب و پرایمینگ بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز .

میانگین‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون دانکن ندارند.

Figure 1. The interaction between water stress and priming on superoxide dismutase activity.

Means followed by similar letter are not significantly different at the 5% probability level- using Duncan´s Multiple Range test.

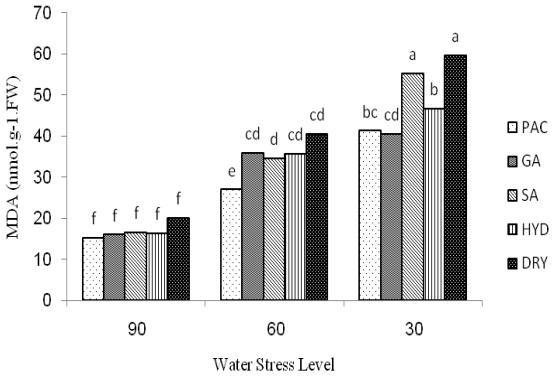


شکل ۲- اثر متقابل کمبود آب و پرایمینگ بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز.

میانگین‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون دانکن ندارند.

Figure 2. The interaction between water stress and priming on the activity of APX.

Means followed by similar letter are not significantly different at the 5% probability level- using Duncan´s Multiple Range test.

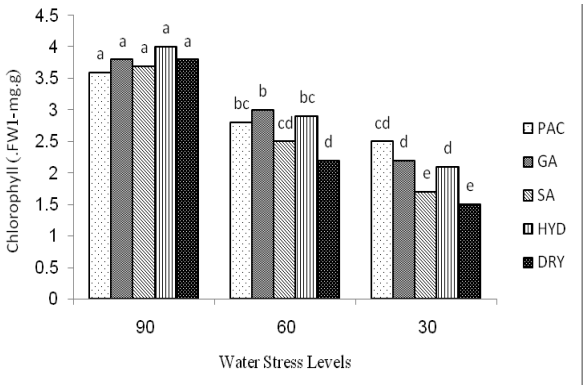


شکل ۳- اثر متقابل کمبود آب و پرایمینگ بر میزان مالون دی-آلدئید.

میانگین‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون دانکن ندارند.

Figure 3. The interaction between water stress and priming of the MDA.

Means followed by similar letter are not significantly different at the 5% probability level- using Duncan´s Multiple Range test.



شکل ۴- اثر متقابل کمبود آب و پرایمینگ بر میزان کلروفیل.

میانگین‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون دانکن ندارند.

Figure 4. The interaction between water stress and priming on chlorophyll.

Means followed by similar letter are not significantly different at the 5% probability level- using Duncan´s Multiple Range test.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت تأثیر معنی-دار کمبود آب، پرایمینگ و اثر متقابل تنش آبی و پرایمینگ قرار گرفت. بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با کاربرد پاکلوبوترازول در شرایط ۳۰ درصد آب در دسترس و کمترین مقدار آن در اثر متقابل بذر خشک و ۳۰ درصد آب در دسترس مشاهده شد. بنابراین پرایمینگ پاکلوبوترازول موجب افزایش ۱/۱۷ واحدی این آنزیم در مقایسه با عدم کاربرد پرایمینگ گردید (شکل ۲). شایان ذکر است که این آنزیم در چرخه مهلر و گلوتاتیون-آسکوربات، به‌عنوان آنزیم تمام کننده دارای فعالیت است. با توجه به بیشتر بودن فعالیت این آنزیم در تیمارهای پاکلوبوترازول، مقدار پراکسید هیدروژن سلولی کاهش می‌یابد. عباسی و همکاران (Abbasi *et al*., 2010a) در گندم، کاهش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

که سبب افزایش میزان خسارت‌زایی انواع اکسیژن فعال می‌شود، را گزارش کرده‌اند. کاهش میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز سبب تجمع پراکسید هیدروژن می‌گردد. همچنین، در مقادیر بالای این متابولیت مخرب فعالیت برخی از آنزیم‌های چرخه کالوین نظیر ریبولوز ۵-فسفات کیناز و بی فسفاتازها و آیزوزیم Mn-SOD و Cu/Zn-SOD متوقف می‌شود.

عباسی و همکاران (Abbasi *et al*., 2010b) عدم افزایش معنی‌دار آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گیاه خلر (*Lathyrus sativus* L.) را عامل اصلی حساسیت این گیاه به تنش شوری معرفی کردند. طبق گزارش حیدری (Heidari, 2009) در گیاه سورگوم افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در شرایط تنش شوری، سبب کاهش میزان تنش اکسیداتیو و مقاومت گیاه به تنش گردید. آنزیم کاتالاز از مهمترین آنزیم‌های آنتی اکسیدان می‌باشد که با فعالیت آن دو مولکول پراکسید هیدروژن به آب و سوپراکسید تبدیل می‌شود (Mittler, 2002). این آنزیم در پراکسی‌زوم و میتوکندری ایفای نقش می‌کند. میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در شرایط کمبود آب تغییر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشت.

بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز مربوط به تیمارهای ۳۰ درصد آب در دسترس و کمترین آن مربوط به تیمار کمبود آب ۹۰ درصد آب در دسترس بود (جدول ۲). کاربرد هورمون پاکلوبوترازول نیز موجب افزایش معنی‌دار (در سطح احتمال یک درصد) فعالیت این آنزیم گردید. به گونه‌ای که پاکلوبوترازول به تنهایی میزان فعالیت این آنزیم را ۳۳ درصد بهبود بخشید (جدول ۲). بالا بودن فعالیت آنزیم کاتالاز میزان پراکسید هیدروژن درون سلول را کاهش می‌دهد که پیآمد آن کاهش خسارت به غشاها و تثبیت دی اکسید کربن می‌باشد. یامازاکی و همکاران (Yamazaki *et al*., 2003) میزان بالای پراکسید هیدروژن را عامل مستقیمی در جلوگیری از تثبیت دی اکسید کربن دانستند، زیرا بعضی از آنزیم‌های چرخه کالوین به‌شدت حساس به پراکسید هیدروژن می‌باشند. سریوال و همکاران (Srivall *et al*., 2004)، شائو و همکاران (Shao *et al*., 2005) و حیدری و همکاران (Heidary *et al*., 2009)، افزایش فعالیت کاتالاز را در تحمل به تنش‌های غیر زیستی مؤثر دانسته‌اند.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که پراکسید هیدروژن تحت تأثیر معنی‌دار تنش آبی و سطوح پرایمینگ در سطح احتمال ۱ درصد واقع شد. با افزایش تنش خشکی میزان انباشت پراکسید هیدروژن افزایش پیدا کرد، البته بین سطوح ۶۰ و ۳۰ درصد آب در دسترس اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین، با کاربرد پرایمینگ میزان پراکسید هیدروژن نسبت به عدم پرایمینگ کاهش معنی‌داری یافت. میزان انباشت پراکسید هیدروژن در شرایط ۹۰ درصد آب در دسترس برابر ۱/۱۱ بود که این مقدار در شرایط تنش ۶۰ درصد به مقدار ۱/۹۵ و در شرایط تنش ۳۰ درصد آب در دسترس به مقدار ۲/۰۴ میلی-مول بر گرم وزن تر افزایش یافت (جدول ۲). میزان این ماده در شرایط بدون تنش در بذور خشک برابر ۲/۲۵ میلی‌مول بر گرم وزن تر بود که پرایمینگ پاکلوبوترازول و اسید جیبرلیک این مقدار را به ۱/۴ و ۱/۶ میلی‌مول بر گرم وزن تر کاهش دادند (جدول ۲).

با توجه به اینکه پاکلوبوترازول در تنظیم بیوسنتز جیبرلین و اکسیداسیون کارن[13] به کارنیک اسید[14] توسط کارن اکسیداز[15] نقش مهارکنندگی دارد. از این رو می‌تواند به‌صورت غیر مستقیم در تولید ماده خشک موثر واقع گردد. چنین تاثیراتی با کاهش تعرق گیاه و به تبع آن تقلیل ارتفاع و سطح برگ تقویت می‌گردد (Boughalleb *et al*., 2011). پراکسید هیدروژن (H_2O_2) یکی از سمی‌ترین فرم حاصل از احیای ناقص اکسیژن است که اثرات زیان آوری بر متابولیسم سلول‌های گیاهی دارد که از جمله آنها می‌توان به اکسیده نمودن گروه‌های تیول اشاره نمود. همچنین، فعالیت برخی از آنزیم‌های چرخه کالوین نظیر ریبولوز ۵ فسفات کیناز و بی فسفاتازها

[13] Kaurene
[14] Kurnik acid
[15] Kaurene oxidase

در مقادیر بالای پراکسید هیدروژن کاهش یا متوقف می‌شود. در نتیجه آن به دلیل کاهش نسبت $NADP^+/NADPH,H^+$ تولید انواع اکسیژن فعال نیز افزایش می‌یابد. به‌علاوه، آیزوزیم‌های Mn-SOD و Cu/Zn-SOD به مقادیر بالای این ماده حساس بوده و فعالیت خود را از دست می‌دهند.

کاستا و همکاران (Costa *et al.*, 2005) بیان داشتند که انباشت پراکسید هیدروژن گذشته از آسیب به غشاها موجب خسارت به ماکرومولکول‌هایی همانند DNA و پروتئین می‌شوند. طبق گزارش‌های سایروم و همکاران (Sairam *et al.*, 2002) و عباسی و همکاران (Abbasi *et al.*, 2009) تنش خشکی و شوری موجب افزایش معنی‌دار میزان پراکسید هیدروژن درون سلول می‌گردد. سایروم و همکاران (Sairam *et al.*, 2002) اظهار داشتند که انباشت پراکسید هیدروژن سبب افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش شاخص پایداری غشا در سلول‌های برگ گندم می‌شود. نتایج به‌دست آمده از فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات می‌تواند تاییدی بر این نتیجه باشد.

مالون‌دی‌آلدئید زیست‌نشانگری است که از آن جهت مطالعه اثرات تنش‌های محیطی روی پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب به غشاها استفاده می‌شود (Gawet *et al.*, 2004). آسیب به غشاها یکی از اثرات مخرب انواع اکسیژن فعال می‌باشد. نتایج تجزیه‌ی واریانس نشان داد که مالون دی آلدئید تحت تأثیر معنی دار پرایمینگ بذری، کمبود آب و اثر متقابل سطوح کمبود و پرایمینگ واقع شد. با افزایش کمبود آب میزان انباشت مالون‌دی‌آلدئید افزایش یافت، به‌طوری که بیشترین میزان این ماده در بذر تیمار نشده (خشک) و تیمار شده با اسید سالیسیلیک در آبیاری ۳۰ درصد آب در دسترس مشاهده شد. با انجام پرایمینگ با اسید جیبرلیک و پاکلوبوترازول در شرایط آبیاری ۳۰ درصد آب در دسترس میزان انباشت مالون‌دی‌آلدئید کاهش معنی‌داری پیدا کرد. به گونه‌ای که مقدار این ماده در تیمار عدم کاربرد پرایمینگ هورمونی در شرایط ۳۰ درصد آب در دسترس در حدود ۵۹/۶۶ نانومول بر گرم وزن‌تر بود. درحالی که پرایمینگ پاکلوبوترازول در همان شرایط موجب کاهش ۱۸/۳۳ واحدی این ماده گردید (شکل ۳). به عبارتی کاربرد پرایمینگ پاکلوبوترازول مقدار انباشت مالون‌دی‌آلدئید را در تیمارهای کمبود آب شامل ۶۰ و ۳۰ درصد آب در دسترس به ترتیب؛ به مقدار ۴۳/۳ و ۶۲/۹۵ درصد نسبت به تیمار عدم کاربرد پرایمینگ در همین مراحل کاهش داد.

بایستی توجه داشت پاکلوبوترازول از راه‌های گوناگون می‌تواند موجب افزایش مقاومت گیاهان به خشکی گردیده (Amina & Hanan, 2011) و با جلوگیری از تنش اکسیداتیو، کاستن از آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد و افزایش سم‌زدایی، به افزایش توان گیاهان منجر گردد (Somasundaram *et al.*, 2009). یکی از واکنش‌هایی که در حضور انواع اکسیژن فعال سرعت بیش‌تری پیدا می‌کند، پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی است که موجب تولید آلدئیدهایی مانند مالون‌دی‌آلدئید و فرآورده‌هایی همانند اتیلن می‌شود (Srivall & Khana, 2004). افزایش میزان این ترکیب را نشان دهنده افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و اکسید شدن اسیدهای چرب غشا می‌دانند. زیرا، با افزایش فعالیت این آنزیم‌ها میزان انواع اکسیژن موجود در سلول‌های گیاهی کنترل شده و از شدت صدمات به بیومولکول‌های حیاتی و اختلالات متابولیسمی پیش‌گفته کاسته می‌شود (Srivall & Khana, 2004). با توجه به بالا بودن میزان پراکسید هیدروژن در تیمارهای عدم کاربرد هورمون در شرایط تنش ۳۰ و ۶۰ درصد آب در دسترس می‌توان انباشت این ماده را عامل اصلی در تولید مالون دی آلدئید دانست.

کلروفیل کل تحت تأثیر معنی‌دار تنش آبی، پرایمینگ و اثر متقابل تنش آبی و پرایمینگ قرار گرفت. مشاهده شد که با افزایش شدت کم آبی میزان کلروفیل به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد، به‌طوری که کمترین میزان کلروفیل در بذر خشک و تیمار شده با سالیسیلیک اسید با آبیاری ۳۰ درصد آب در دسترس حاصل شد. در حالی که با کاربرد

پاکلوبوترازول در شرایط تنش آبی میزان کلروفیل بهبود یافت (شکل ۴). بروز تنش اکسیداتیو در کلروپلاست‌ها به‌دلیل گسیل انرژی مولکول‌های کلروفیل تحریک شده باعث تولید اکسیژن منفرد می‌گردد. رادیکال ایجاد شده بسیار زیان‌بار بوده و اثرات نامطلوبی را بر پروتئین‌ها و مراکز واکنش فتوسیستم II می‌گذارد (Jin *et al*., 2003).

محتوای پرولین هم تحت تأثیر معنی‌دار تنش خشکی و پرایمینگ واقع شد. با افزایش تنش خشکی میزان پرولین افزایش معنی‌داری پیدا کرد (جدول ۲). به گونه‌ای که بیشترین مقدار این ماده در تیمار تنش ۳۰ درصد با مقدار ۲۹/۸ میکرومول بر گرم وزن‌تر مشاهده گشت. انباشتگی میزان پرولین با میزان تحمل به خشکی گیاه ارتباط مستقیم دارد (Rensburg *et al*., 1993). در این زمینه گزارش‌هایی مبنی بر این که، پرولین اثر منفی کلروسدیم و تنش آبی را بر تثبیت کربن اصلاح نموده و می‌تواند کاهش فعالیت آنزیم روبیسکو را تحت چنین شرایطی تعدیل نماید، وجود دارد (Fendina *et al*., 1993). همچنین با کاربرد پرایمینگ بذری نسبت به عدم کاربرد، میزان انباشتگی پرولین افزایش پیدا کرد؛ به طوری که بیشترین مقدار پرولین از کاربرد اسید سالیسیلیک و بعد از آن با کاربرد پاکلوبوترازول و اسید جیبرلیک حاصل شد (جدول ۲). یکی از شاخص‌های ارزیابی گیاه تحت تنش کمبود آب، انباشت پرولین در اندام‌های گوناگون گیاهی می‌باشد (Zengin, 2006). اثرات تنظیم کننده اسمزی پرولین در توازن آب و تحمل تنش خشکی در پژوهش‌های مختلف گزارش شده است (Mohammadkhani & Heidary, 2008).

خصوصیات زراعی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که وزن خشک اندام هوایی فقط تحت تأثیر معنی‌دار تنش آبی، پرایمینگ و اثر متقابل تنش آبی و پرایمینگ قرار گرفت. ماده‌ی خشک تولید شده در تیمار عدم استفاده از پرایمینگ بذری در شرایط آبیاری کامل در حدود ۳۶/۳۳ میلی‌گرم بود. این درحالی بود که پرایمینگ پاکلوبوترازول در همان شرایط باعث بهبود وزن خشک اندام هوایی گیاه به مقدار ۴۸/۶۷ میلی‌گرم گردید. مشاهده می‌شود که با افزایش شدت تنش آبی میزان ماده خشک هوایی کاهش یافته، ولی با کاربرد پرایمینگ پاکلوبوترازول میزان وزن خشک اندام هوایی نسبت به تیمار شاهد درشرایط۳۰ درصد آب در دسترس ، ۱۶/۶ درصد افزایش یافت (جدول ۳). اثرات ضدتعرقی پاکلوبوترازول تاثیر مستقیم آن بر روابط آبی و تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه از دیرباز مورد بحث بوده است (Asare- Boamah *et al*., 1986). کاربرد مواد ضد تعرق، به عنوان راهکاری جهت کاهش تلفات آب از برگ‌های گیاه با کاهش سرعت انتشار بخار آب از گیاه مطرح شده است (Abraham *et al*., 2008). باتلانق و همکاران (Batlang, 2006) اظهار داشتند که تیمار پاکلوبوترازول تاثیر مثبتی را در روند افزایش وزن خشک اندام هوایی در گیاه ذرت در شرایط تنش خشکی داشت. مصرف پاکلوبوترازول در گیاه سیب زمینی باعث افزایش ماده خشک کل گردید (Tekalign & Hammes, 2004).

نتایج تجزیه واریانس بیانگر تفاوت معنی‌دار بین سطوح تنش آبی و پرایمینگ از لحاظ وزن خشک ریشه است. با افزایش شدت تنش از ۹۰ درصد به ۳۰ درصد میزان وزن خشک ریشه نسبت به حالت آبیاری کامل ۳۵/۷۱ درصد کاهش یافت. همچنین مشاهده می‌شود در صورت کاربرد پرایمینگ وزن خشک ریشه بهبود پیدا کرد، به‌طوری که بیشترین وزن خشک ریشه با مقدار ۱۶/۷۸ گرم مربوط به پیش‌تیمار هورمونی پاکلوبوترازول بدون تفاوت معنی‌دار با اسید جیبرلیک و سالیسیلیک اسید بود. افزایش رشد ریشه و گسترش سیستم ریشه‌ای در شرایط تنش خشکی در گیاهچه‌های تحت تیمار با پاکلوبوترازول موجب افزایش توده‌ی ریشه و افزایش وزن خشک کل در گیاه کلزا می‌گردد (Razavi & Beigv, 2012).

جدول۳- میانگین مربوط به سطح برگ، ارتفاع بوته، وزن خشک، کلروفیل و مالون دی آلدئید گندم تحت تأثیر پیش‌تیمارهای هورمونی و کمبود آب در گندم.

Table 5. Mean of Leaf area, plant height, dry matter, chlorophyll and malondialdehyde under priming and water deficit in Wheat.

کمبود آب Water deficit	سطح برگ Leaf area (cm^2)	ارتفاع بوته Plant Height (cm)	وزن خشک اندام هوایی SDW (mg)	وزن خشک ریشه RDW	کلروفیل کل Chlorophyll (mg.g-1. FW)	مالون دی آلدهید MDA nmol.g-) (1.FW
90	15.29a	16.26a	37.8a	17.53a	2.17a	3.85a
60	14b	15.86a	30.8b	16.53a	1.92b	2.72b
30	12.84c	9.13b	21.6c	11.2b	1.87b	2.06c
پرایمینگ (Priming)						
پاکلوبوترازول Paclobutrazol	14/18	12/5b	33/22	16/7a	2	3.10a
اسید جیبرلیک Gibberellic acid	13.89	15.7a	31.11	15.7a	1.99	3.04a
هیدروپرایمینگ Hydropriming	14.02	13.4b	29.55	15.6ab	1.85	2.98a
سالیسیلیک اسید Salicylic Acid	13.99	13.6ab	28.66	14.6ab	1.96	2.74b
بذر خشک Normal Seed	14.14	13.3b	27.88	12.6b	2.14	2.53b

حروف مشابه بیانگر تفاوت غیرمعنی دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

The similar letters show non-significant difference at $P \leq 0.05$.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که ارتفاع بوته فقط تحت تأثیر معنی‌دار تنش خشکی قرار گرفت. اثرهای بارز کاربرد تریآزول‌ها روی گیاهان، شامل کاهش بلندی و قطر ساقه، همراه با افزایش فشردگی آنها است. شدت این دگرگونی‌ها نیز بستگی به سن و گونه‌ی گیاه، میزان به کار رفته و شیوه‌ی کاربرد مواد یاد شده دارد (Davis *et al*., 1991). طی این پژوهش حاضر نیز کاربرد پاکلوبوترازول موجب کاهش هشت سانتی‌متری گیاه گردید، این درحالی بود که وزن خشک گیاهان در تیمار کاربرد پاکلوبوترازول افزایشی ۵/۳۴ گرمی را نشان داد. ویژگی کاهش بلندی گیاه، پیامدی از فرآیند بازدارندگی تری‌آزول‌ها روی اسید جیبرلیک است. برای نمونه، این اثر می‌تواند با کاهش فواصل میانگره‌ها انجام پذیرد. در این پژوهش، با مصرف اسید جیبرلیک در شرایط آبیاری کامل بلندی گیاهان به ۱۵/۷ سانتی‌متر رسید که نسبت به تیمار عدم بکارگیری هورمون در همین شرایط ۱۵/۲۸ درصد افزایش را نشان داد (جدول ۳).

با مصرف اسید جیبرلیک در تنش ۳۰ درصد آب در دسترس ارتفاع بوته به مقدار ۲/۶ سانتی‌متر افزایش نشان داد، همچنین، کاربرد این هورمون در تنش ۶۰ درصد آب در دسترس بلندی گیاهچه را به میزان ۳/۶۷ سانتی‌متر افزایش داد. در همین راستا، به دلیل این‌که مواد غذایی به صورت محلول در آب جذب گیاه می‌شوند، چنین به نظر می‌رسد که محدودیت در منابع آبی منجر به کاهش جذب منابع غذایی گردید و گیاه وادار به کم کردن رشد رویشی و پایان زود هنگام مرحله رویشی و آغاز مرحله زایشی شد که نتیجه آن کاهش دوره رشد و کوتاهی بوته می‌باشد. طبق اظهارات والدرن و فلاوردی (Waldern & flowerday, 1982) تنش خشکی موجب کوتاه شدن رشد میانگره‌ها و کاهش وزن خشک ریشه و ساقه می‌گردد.

از نظر میانگین سطح برگ تفاوت معنی‌داری بین سطح آبیاری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت. بیشترین سطح برگ مربوط به تیمارهای ۹۰ درصد آب در دسترس و کمترین آن مربوط به تیمارهای ۳۰ درصد آب دردسترس بود. همچنین تیمار ۶۰ درصد آب در دسترس با تفاوت معنی‌داری نسبت به دو تیمار دیگر دارای وضعیت متوسط از

لحاظ این صفت بود (جدول ۳). این در حالی است که تیمار تنش از جمله تغییراتی که در نتیجه‌ی کمبود آب حاصل می‌شود، کاهش سطح برگ و حجم سلولی و افزایش ضخامت برگ می‌باشد. کاهش تعرق علت اصلی کاهش سطح برگ در شرایط تنش است (Pessarkli *et al*., 1993). گائو و همکاران (Gao *et al*., 1988) گزارش کردند که گیاهان تیمار شده با تری‌آزول‌ها، به‌طور مشخصی دارای برگ‌های کوچکتر بوده و افزایش سطح برگ در این تیمارها مشاهده نشد، ولی این برگ‌ها، گذشته از برخورداری از موم کوتیکولی، پهن‌تر و کلفت‌تر از گیاهان شاهد بودند. در واحد سطح این امر به انباشت ماده‌ی خشک بیشتر بدون افزایش سطح برگ می‌انجامد (Davis & Curry, 1991).

نتیجه‌گیری

با توجه به فروپاشی تعادل انواع اکسیژن فعال و بهم‌ریختگی سیستم‌های حذف کننده آنها، مرگ برنامه‌ریزی شده سلول رخ خواهد داد. لیکن با اتخاذ راهکارهایی که به حذف این مولکول‌های زیانبخش توسط آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، شامل سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز بیانجامد، می‌توان مقاومت گیاهان را به شرایط ناهنجار بهبود بخشید. تحقیق حاضر آشکار نمود که پرایمینگ‌های هورمونی می‌توانند تاثیرات مثبتی را بر فعالیت این آنزیم‌ها برجای گذارند. چرا که فرایند پرایمینگ و کاربرد مواد هورمونی در بسیاری از مواقع به واسطه تغییر سازوکارهای درونی گیاه قادر به فراهم نمودن چنین روندی می‌باشد. در این تحقیق، پرایمینگ پاکلوبوترازول به‌طور نسبی از تأثیر بیشتری نسبت به دیگر پرایمینگ‌ها در ایجاد تعادل و حفظ پایداری سلولی برخوردار بود. بایستی توجه داشت که به علت استفاده از پاکلوبوترازل در مقادیر بسیار پایین در فرایند پرایمینگ بهره‌گیری از آن می‌تواند از دیدگاه اقتصادی نیز مقرون به صرفه باشد.

References

Abbasi, A., Enayati, W. and Tajik, T. 2009. Decrease of cell defense mechanisms efficiency and oxidative stress accruing in Mg deficiency condition. **The first national conference on environmental stresses in Agricultural Sciences**. Birjand. Iran. 27 (Presentation).

Abbasi, A., Esfandiari, E. and Enayati, V. 2010 a. Reduction of Mehler cycle activity and its relationship with salinity sensitivity in grass pea. **11 th Iranian Crop Science Congress**. Tehran. Iran. 125 (Abst.).

Abbasi, A., Esfandiari, E., Enayati, W. and Hamzee, J. 2010 b. The realationship of SOD and its isozymes aetivity with lipid peronielation in grass pea in salinity condition. **11 th Iranian Crop Science Congress**. Tehran. Iran. 126 (Abst).

Abraham, S.S., Abdul Jaleel, C., Chang-Xing, Z., Somasundaram, R., Azooz, M.M., Manivannan, P. and Panneerselvam, R. 2008. Regulation of growth and metabolism by paclobutrazol and ABA in *Sesamum indicum* L. under drought condition. **G. J. Mol. Sci**. 3(2): 57-66.

Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. **Method of Enzymology**. 105:121-126.

Alscher, R.G., Erturk, N. and Heath, L.S. 2002. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative strese in plants. **J. Exp. Bot**. 53: 1331–1341.

Amina, A.A. and Hanan, H.L. 2011. Differential effects of paclobutrazol on water stress alleviation through electrolyte leakage, phytohormones, reduced glutathione and lipid peroxidation in some wheat genotypes (*Triticum aestivum* L.) grown in vitro. **Rom. Biotech Lett**. 6: 6710-6721.

Amiri Deh Ahmadi, S. R., Rezvani Moghadam, P. and Ehiaee, H. R. 2012. Effect of drought stress on some morphological characteristics and yield of herb dill, coriander and fennel in greenhouse. **Iran J. Field Crops Res**. 10(1): 116-124. (In Farsi with English Summary).

Asare- Boamah, N. K., Hofstra, G., Fletcher, R. A. and Dumbroff, E. B. 1986. Triadimefon protect bean plants from water stress through its effect on abscisic acid. **Plant Cell Physiol**. 27: 383-390.

Ashraf, M. and Foolad, M. R. 2005. Pre-sowing seed treatment-a shotgun approach to improve germination growth and crop yield under saline and none-saline conditions. **Advan. Agron**. 88: 223-271.

Baisak, R., Rana, D., Acharya, R.B.B. and Kar, M. 1994. Alternations in the activities of active oxygen scavenging of wheat leaves of *Oryza sativa* L. during drought**. J EXP BOT**. 48: 2075-2085.

Batlang, U. 2006. Studies with triazoles to alleviate drought stress in greenhouse-grown maze (*Zea mays* L.) seedlings. **Master Sci. thesis**. Pp: 123.

Benech-Arnold, R. and Sanchez, R.A. 2004. **Handbook of Seed Physiology Applications to Agriculture.** London, The Haworth press. 480 Pp.

Blokhina, O. K. and Fagerstedt, V. 2010. Oxidative metabolism, ROS and NO under oxygen deprivation. **Plant Physiol Bioch.** 48(5):359-73.

Bougne, S., Job, C. and Job, D. 2000. Sugarbeet seed priming: seed in nutrient solution. **J. Agric. Sci**. 38: 458- 468.

Boughalleb, F. and Mhamdi, M. 2011. Possible involvement of praline and the antioxidant defense systems in the drought tolerance of three olive cultivars grown under increasing water deficit regimes. **Agri J**. 6: 378391.

Breusegem, F. V., Vranova, E., Dat, J. F. and Inze, D. 2001. The role of active oxygen species in plant signal transduction. **Plant Sci**. 161:405-414.

Campbell, J. A., Naidu, B. P. and Wilson, J. R. 1999. The effect of glycinebetaine application on germination and early growth of sugarcane. **Seed Sci. Technol**. 27: 747–752.

Costa, P.H., Neto, A.D., Bezerra, D.A. and Prisco, J. T. 2005. Antioxidant- enzymatic system of two sorghum genotypes differing in salt tolerance. **Braz. J. Plant Physiol**. 17(4):353-361.

Davis, T.D. and Curry, E.A. 1991.Chemical regulation of vegetative growth . **Cr. Rev. Plant Sci**.10:151-188.

Fendina, I. S., Tsonev, T. and Guleva, E. L. 1993. The effect of pretreatment with praline on the responses of (*Pisum sativum* L.) to salt stress. **Photosynthetica** 29:521-527.

Foyer Christine, H. and S, Shigeoka. 2011. Understanding Oxidative Stress and Antioxidant Functions to Enhance Photosynthesis. **Plant Physiol**. 155: 93–100.

GAO, J., Hofstra, G., and Fletcher. R. A. 1988. Anatomical changes induced by triazoles in wheat seedlings. **Canadian J. Botany**. 66: 1178- 1185.

Gawel, S., Wardas, M., Niedworok, E. and Wardas, P. 2004. Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker**. Wiad Lek.** 57(9-10):453-5.

Heidari, M. 2009. Antioxidant activity and osmolyte concentration of sorghum (*Sorghum bicolor* L.) and Wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes under salinity stress. **Asian J. Plant Sci**. 1682-3974.

Heidary, Y. and Moaveni, P. 2009. Study of Drought stress on accumulation and proline among aba in different genotypes forage corn. **Research J. biological sci.** 4:1121-1124.

Jin, E. S., Yokthongwattana, K., Polle, J. E. W. and Melis, A. 2003 Role of the reversible xanthophyll cycle in the photosystem II damage and in dunaliella salina. **Plant physiology**. 132:325-364.

Kazaz, S. and Karaguzel, O. 2010. Influence of growth regulators on the growth and flowering characteristics of Goldenrod. **Eur. J. Sci. Res**. 5: 498-507.

Kaya, Y., Kaya, Y., Arisoy, R. Z. and Göcmen, A. 2002. Variation in grain yield and quality traits of bread wheat genotypes by zinc fertilization. **Pak. J. Agronomy**.1: 142-144.

Kim, S.G. and Park, C.M. 2008. Gibberellic acid-mediated salt signaling in seed germination. **Plant Signal Behav**. 3: 877-879.

Lee, S. S., Kim, J. H., Hong , S. B., Yuu, S. H. and Park, E. H. 1998. Priming effect of rice seeds on seedling establishment under adverse soil conditions. **Korean J. Crop Sci**. 43: 194–198.

Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends Plant Sci**. 7: 405-410.

Mohammadkhani, N. and Heidary, R. 2008. Drought-induced accumulation of soluble sugars and proline in two maize varieties.**World Applied Sci. J.** 3: 448-453.

Niki, E. 2010. Assessment of Antioxidant Capacity in vitro and in vivo. **Free Radical Biology & MedicineFRB**. 49: 503-515.

Oraki, H., Parhizkar khajani, F. and Aghaalikhana, M. 2012. Effect of water deficit stress on pro-line contents, soluble sugars, chlorophyll and grain yield of sunflower (*Helianthus annuus* L.) hybrids. **Afr J Biotechnol**. 25: 164-168.

Pan, Y., Wu, L.J. and Yu, Z. L. 2006. Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* fisch). **Plant Growth Regul**. 49: 157-165.

Pessarkli, M. 1993. **Handbook of plant and crop stress**. Marcel Dekker, Inc. 543.

Razavi, Z.R. and beigy, A.M. 2012. Paclobutrazol impact on improving drought tolerance in rapeseed plants in vitro. **P. Plant Functions**. 2 (1):21-34.

Rensburg, V.L., Kruger, C. H. and Kruger, H. 1993. Proline accumulation as droughttolerance selection criterion: its relationship to member integrity and chloroplast ultrastructure in *Nicotiana tobacum* L. **J. Plant Physiol.** 141:188-194.

Rouhi, H.R., Aboutalebian, M.A., Moosavi, S.A., Karimi, F.A., Karimi, F., Saman, M. and Samadi, M. 2012. Change in several antioxidant enzymes activity of Berseem clover (*Trifolium alexandrinum* L.) by priming. **Int. J. Agri. Sci**. 2(3): 237- 243.

Sabir-Ahamed, A. 1999. Field performance of hardened greengram seeds. **Legume Res**. 22: 207–208.

Sairam, R. K., Rao, K. V. and Srivastava, G. C. 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. **Plant Sci**. 163:1037-1046.

Schopfer, P., Plachy, C. and Frahry, G. 2001. Release of reactive oxygen intermediates (superoxide radicals, hydrogen peroxide, and hydroxyl radicals) and peroxidase in germinating radish seeds controlled by light, gibberellin, and abscisic acid. **Plant Physiol.** 125: 1591-1602.

Shao, H., Liang, Z.S. and Shao, M. 2005. Changes of anti-oxidative enzymes and MDA content under soil water deficits among 10 wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes at maturation stage. **Colloids Surfaces.** 45 7–13.

Sharma. P., Ambuj, B.J., Rama, S.D. and Pessarakli, M. 2012. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. **J. Bot. Vol.** 26 Pp.

Sopher, C.R., Krol, M., Huner, N.P., Moor, A.E. and Fletcher, R.A. 1999. Chloroplastic changes associated with paclobutrazol–induced stress protection in maize seedling. **Can .J .Botany**. 77:297-290.

Singh, B. and Usha, K. 2003. Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. **Plant Growth Regul**. 39: 137-141.

Slaymarker, D. H., Navarre, D. A., Clark, D., Pozo, O. D., Martin, G. B. and Klessing, D. F. 2002. The tobacco salicylic plays a role in the hypersensitive defense response. **Natl. Acad. Sci Colloquium**. 99 (18): 11640-11645.

Somasundaram, R., Abdul Jaleel, C., Abraham, S., Azooz, M.M. and Panneerselvam, R. 2009. Role of paclobutrazol and ABA in drought stress amelioration in *Sesamum indicum* L. **Global J. Molecular Sci**. 4 (2):56-62.

Srivall, B. and R. Khanna-Chopra. 2004. The developing reproductive sink induces oxidative stress to mediate nitrogen mobilization during monocarpic senescence in wheat. **Biochem and Biophy Res Commun**. 325: 198- 202.

Stewart, R. R. C. and Bewley, J. D. 1980. Lipid peroxidation associated aging of soybean axes. **Plant Physiology**. 65: 245-248.

Tan, Y., Liang, Z. S., Hongbo, H. B. and Du, F. 2006. Effect of water deficits on the activity of anti-oxidative enzymes and osmoregulation among three different genotypes of Radix Astragali at graining stage. **Colloids Surfaces**. 49: 60-65.

Tekalign, T. and Hammes, P. S. 2004. Response of potato grown under non-inductive condition to paclobutrazole: shoot growth, chlorophyll content, net photosynthesis, assimilate partitioning, tuber yield, quality, and dormancy. **Plant Growth Regul**. 43: 227-236.

Velikova, V., Yordanov, I. and Edreva, A. 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants. Protective role of exogenous polyamins. **Plant Sci**. 151: 59-66.

Waldern, R.P. and flowerday, A.D. 1982. **Introductory Crop Sci**. Burgress publishing company, Minneapolis. 194 Pp.

Yamazaki, J., Ohashi, A., Hashimoto, Y., Negishi, E., Kumagai, S., Kubo, T., Oikawa, T., Maruta, E. and Kamimura, Y. 2003. Effects of high light and low temperature during harsh winter on needle photodamage of Abies mariesii growing at the forest limit on Mt. Norikura in Central Japan. **Plant Sci**. 165:257-264.

Yong, T., Zongsuo, L., Hongbo, S. and Feng, D. 2006. Effect of water deficits on the activity of anti-oxidative enzymes and osmoregulation among three different genotypes of Radix astragali at seedling stage. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.** 49: 60-65.

Yoshimura, K., Yabute, Y., Ishikawa, T. and Shigeoka, S. 2000. Expression of spinach ascorbate peroxidase isoenzymes in response to oxidative stresses. **Plant Physiol**. 123: 223-233.

Zengin, K.F. 2006. The effects of Co^{2+} and Zn^{2+} on the contents of protein, abscisic acid, proline and chlorophyll in bean (*Phaseolus vulgaris* cv. Strike) seedlings. **J. Environmental Biology**. 27: 441-448.

Effect of seed priming on enzymatic and morphological characteristics of wheat (*Triticum aestivum* L.) under water deficiency conditions

Fariborz Shekari[1*], Amin Abbasi[2], Abdollah Javanmard[3]

1-Associated Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Maragheh University, Maragheh -Iran.
2-Ph.D Student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Maragheh University, Maragheh -Iran.
3-Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Maragheh University, Maragheh -Iran.
*Corresponding author: shekari_fb@yahoo.com

Received: 2015.12.15 **Accepted: 2015.09.06**

Abstract

Seed priming is one of the methods to improve function that can be taken to promote early growth of the plant and to overcome environmental problems and fainaly, the optimal deployment seedling lead to high-yield in plants. In order to identify the effects of priming on enzyme and morphological characteristics in terms of water stress on wheat, this study was performed based on randomized complete block design with 15 treatments and 3 replications in Maragheh University in 2014. Factors examined include irrigation levels (30, 60 and 90% of field capacity) and hormonal priming (dry seed, Hydropriming, salicylic acid, gibberellic acid, paclobutrazol). Results showed that drought stress significantly reduced leaf area, root dry weight, chlorophyll, malondialdehyde, hydrogen peroxide, proline, superoxide dismutase, catalase and ascorbate peroxidase. While the use of hormonal priming significantly increased chlorophyll, MDA, proline, superoxide dismutase and ascorbate peroxidase under drought stress treatments. The composition Paclobutrazol priming and 30% of field capacity increased the enzyme activity of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and catalase, respectively, 2.05, 0.12 and 0.046 units. Hormonal priming had positive effect on enzyme activity. Paclobutrazol treatment was more effective than other treatments.

Key Words: Antioxidant enzymes, Gibberllic acid, Salicylic acid, Paclobutrazol and prolin.