

اثر تیمارهای مختلف پرایمینگ بذر و فواصل مختلف آبیاری بر ویژگی‌های بیوشیمیایی دو رقم

گندم نان (*Triticum aestivum* L.)

زهرا رزمی^{۱*} و رضا حمیدی^۲

(۱) دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

(۲) استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد است.

* نویسنده مسئول: Razmi89z@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۶/۲۱

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۴/۱۸

چکیده

پرایمینگ بذر روشی است که پیش از کشت، اجازه جذب آب به صورت کنترل شده به بذر تا اندازه‌ای داده می‌شود که فعالیت‌های نخستین جوانه‌زنی آغاز می‌شود، اما از خروج ریشه چه جلوگیری می‌شود. به منظور بررسی امکان افزایش تحمل به تنش آبی در گندم با استفاده از فناوری پرایمینگ بذر، این آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل دو رقم گندم (آذر ۲ و شیراز)، چهار سطح پرایمینگ (عدم پرایمینگ، اسموپرایمینگ، فسفوپرایمینگ و هیدروپرایمینگ) و چهار سطح تنش آبی (فاصله آبیاری ۲ (بدون تنش)، ۴، ۶ و ۸ روز یک‌بار) بودند. در هر دو رقم گندم، بیش‌ترین سطح تنش (فاصله آبیاری هشت روز) موجب افزایش اندازه کاتالاز در سطح احتمال پنج درصد گردید. با افزایش تنش آبی، مقدار آنزیم‌های اسکوربیک پراکسیداز و پراکسیداز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. انواع تیمارهای پرایمینگ باعث اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد در فعالیت آنزیم کاتالاز نشد. در این پژوهش رقم آذر ۲ نسبت به رقم شیراز به عنوان رقم مقاوم‌تری به تنش آبی شناخته شد. فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و اسکوربیک پراکسیداز تحت اثر تیمار اسموپرایمینگ به ترتیب ۱۰/۰۱ و ۴/۲۱ درصد در مقایسه با بدون پرایمینگ افزایش نشان داد. بیش‌ترین تجمع پرولین (۱۳/۶۸ میکرومول بر گرم وزن تر) مربوط به تیمار اسموپرایمینگ در رقم آذر ۲ تحت بیش‌ترین سطح تنش (فاصله آبیاری هشت روز) بود. با توجه به نتایج به‌دست آمده از این پژوهش به نظر می‌رسد که تیمار اسموپرایمینگ با اثر بر سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه، در فرآیند افزایش مقاومت به خشکی در گیاهچه‌های گندم نقش داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: گندم، فواصل آبیاری، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پرولین.

مقدمه

توانایی جوانه‌زنی بذرهای در شرایط تنش خشکی، شانس استقرار بیش‌تری برای گیاه و تراکم بالاتر را دارد که در نتیجه به افزایش عملکرد منجر می‌گردد (Baalbaki *et al.*, 1999). تحت این تنش یکی از راه‌های افزایش ویژگی‌های جوانه‌زنی و سبز شدن بذر، استفاده از روش‌های پرایمینگ می‌باشد (Murungu *et al.*, 2003). پرایمینگ بذر روشی است که به وسیله‌ی آن بذرهای پس از قرار گرفتن در بستر خود و مواجهه با شرایط اکولوژیک محیطی، به لحاظ فیزیولوژیک و بیوشیمیایی آمادگی جوانه‌زنی را به‌دست می‌آورند (Baalbaki *et al.*, 1999). در روش هیدروپرایمینگ، بذرهای با آب خالص و بدون استفاده از هیچ ماده شیمیایی تیمار می‌شوند. این نوع پرایمینگ بسیار ساده و ارزان بوده و مقدار جذب آب از طریق مدت زمانی که بذرهای در تماس با آب هستند کنترل می‌شود (Ashraf and Foolad, 2005). اسموپرایمینگ نیز نوع خاصی از آماده‌سازی پیش از کاشت بذرهای می‌باشد که از طریق قراردادن بذرهای در محلول‌هایی با پتانسیل اسمزی پایین مانند مانیتول^۱، کود شیمیایی (نظیر اوره)، پلی‌اتیلن گلیکول^۲، سولفات منیزیم، کلوروسدیم، کلروپتاسیم، کلوروکلسیم و سولفات سدیم در آزمایش‌ها استفاده می‌شود (Ashraf and Foolad, 2005; Buyukalace, 1999; Parera and Cantliffe, 1994). بروز تنش خشکی سبب ایجاد اختلالات متابولیسمی در سلول‌های گیاهی می‌گردد که می‌توان به افزایش تولید فرم‌های فعال اکسیژن به عنوان یکی از فاکتورهای اصلی اختلالات متابولیسمی سلول اشاره کرد (Mittler, 2002). احیای ناقص اکسیژن اتمسفری، سبب تشکیل فرم‌های فعال اکسیژن نظیر رادیکال سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل می‌شود (Blokhina *et al.*, 2003). نتایج پژوهش‌های مختلف نشان دادند که یک ارتباط قوی میان تحمل به تنش‌های اکسیداتیو که به دلیل تنش‌های محیطی ایجاد می‌شود و افزایش در غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان وجود دارد هرچند واکنش آنزیم کاتالاز در شرایط تنش خشکی متغیر بوده و می‌تواند افزایشی، کاهش یا بدون تغییر باشد (Zhang and Kirkham, 1996; Ashkani *et al.*, 2007). پرولین یکی از مواد پرورده (آسمیلات) مؤثر در مقاومت گیاهان به تنش خشکی است و می‌توان آن را به عنوان یک آنتی‌اکسیدانت غیرآنزیمی دانست که باعث حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود (Chen and Dickman, 2005). پرایمینگ باعث افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از قبیل گلوکاتایون^۳ و آسکوربات^۴ در بذر گردید (Hsu and Sung, 1997). این پژوهش که در راستای استفاده از فناوری آماده‌سازی بذر برای افزایش مقاومت به تنش خشکی، اجرا خواهد شد دارای اهداف ۱- مقایسه سه نوع پرایمینگ بذر (اسمو، فسفو و هیدرو پرایمینگ) و مطالعه اثر آن‌ها بر ویژگی‌های بیوشیمیایی دو رقم گندم نان در شرایط

¹ Mannitol² Polyethylene glycol³ Glutathione⁴ Ascorbate

تنش آبی، ۲- بررسی اثراتی که پرایمینگ بذری می‌تواند در دو رقم مورد بررسی، تحت شرایط کم آبیاری بگذارد و نیز تعیین رقم مقاوم‌تر به تنش آبی در شرایط انجام این آزمایش و ۳- مطالعه برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی، در ارقام مورد نظر در رو به رو شدن با تنش آبی، بودند.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در شرایط کنترل شده در گلخانه تحقیقاتی بخش زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز، به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی و با سه تکرار به مرحله اجرا در آمد. فاکتورهای آزمایشی شامل دو رقم گندم (آذر ۲ و شیراز)، چهار سطح پرایمینگ (عدم پرایمینگ، اسموپرایمینگ، فسفوپرایمینگ و هیدروپرایمینگ) و چهار سطح تنش خشکی (فاصله آبیاری دو، چهار، شش و هشت روز یک‌بار و هر بار رساندن رطوبت خاک به حد ظرفیت زراعی) بودند. برای اندازه‌گیری ظرفیت گلدانی^۱ از روش مستقیم (علیزاده، ۱۳۸۵) و با توجه به شرایط گلخانه استفاده شد. به این صورت که چهار گلدان مشابه زهکش‌دار با آب اشباع شد و سپس روی گلدان‌ها با پلاستیک سیاه پوشانیده پس از قطع آبیاری و فروکش کردن آب در فواصل زمانی ۱۲ ساعت مقدار رطوبت آن به روش وزنی اندازه‌گیری شد. این عمل آنقدر ادامه یافت تا سرانجام مقدار رطوبت در دو اندازه‌گیری پشت سر هم تقریباً با هم برابر شد. به عبارت دیگر خروج آب از زیر گلدان متوقف شد این مقدار رطوبت که در این جا معادل ۱۰۰۰ میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد برابر با رطوبت ظرفیت گلدانی بود. نقطه پژمردگی دائم (PWP)^۲ خاک مورد استفاده با استفاده از صفحه فشاری حدود ۱۲ درصد وزنی به‌دست آمد. وزن خاک خشک شده در آن سه کیلوگرم بود و دارای بافت رسی شنی بود که با احتساب PWP میزان آب در این نقطه برابر ۳۶۰ میلی‌لیتر بود. با تفاضل مقدار رطوبت خاک در دو نقطه پژمردگی دائم و ظرفیت زراعی، آب قابل استفاده محاسبه شد که این حدود ۶۴۰ میلی‌لیتر به‌دست آمد. سپس این مقدار آب به چهار قسمت تقسیم گردید و سطوح مختلف آبیاری به‌صورت صفر (بدون تنش)، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد تعیین شد و هر زمان که گلدان‌ها این مقدار آب را از دست می‌دادند آبیاری انجام می‌گرفت که معادل فاصله آبیاری دو، چهار، شش و هشت روز بود و هر بار که آبیاری انجام می‌گرفت آب گلدان‌ها به حد ظرفیت مزرعه رسانده می‌شد. برای تیمار هیدرو پرایمینگ از آب مقطر، برای اسموپرایمینگ از محلول سدیم کلرید با غلظت ۵۰ میلی‌مولار و برای فسفوپرایمینگ از محلول فسفات دی‌هیدروژن پتاسیم با غلظت ۵۰ میلی‌مولار استفاده شد. انتخاب غلظت و زمان مورد استفاده بر اساس نتایج آزمون اولیه که در قالب طرح کامل تصادفی با آرایش فاکتوریل در سه تکرار در آزمایشگاه اجرا شده بود، گزینش شدند (رزمی، ۱۳۹۱). برای اجرای تیمارهای پرایمینگ، بذرها درون کیسه‌های توری قرار گرفته و در محلول‌های پرایمینگ غوطه‌ور شدند. سپس بذرها از محلول خارج

^۱Pot Capacity

^۲ Permanent Wilting Point

و با آب مقطر به‌طور کامل شسته و در دمای آزمایشگاه روی حوله‌ی کاغذی خشک شدند. تعداد ۹۶ گلدان پلاستیکی یکسان با گنجایش سه کیلو با خاک مزرعه، واقع در باجگاه و مقداری خاک‌برگ (به نسبت ۵۰:۵۰) پُر گردیدند (جدول ۱). برای زهکشی و جلوگیری از تجمع زهاب، تعدادی سنگ ریزه درکف گلدان قرار داده شد. در هر گلدان ۱۰ بذر در عمق چهار سانتی‌متر کشت گردید و هنگامی که بلندی گیاهچه به حدود پنج سانتی‌متر رسید، پنج بوته نگه داشته شده و بقیه حذف گردیدند. با توجه به این که حساس‌ترین دوره زندگی گندم به آبیاری از آغاز مرحله غلاف رفتن تا خمیری نرم است (امام، ۱۳۸۶)، تنش آبی از ظهور سنبله اعمال شد و برای تجزیه‌های آنزیمی، در مرحله گل‌دهی کامل، نمونه‌های برگ پرچم از هر گلدان جمع آوری شده را درون فویل آلومینیومی پیچیده شده و بلافاصله در ازت مایع به آزمایشگاه منتقل گردید تا بررسی فعالیت‌های آنزیمی بر روی آن‌ها صورت بگیرد.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) از روش Dhindsa (۱۹۸۱) استفاده شد. بر اساس این روش ۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراج را با یک میلی‌لیتر محلول اندازه‌گیری کاتالاز که شامل ۵۰ میلی‌مول بافر فسفات‌پتاسیم ($pH=7$) و ۱۵ میلی‌مول پراکسید هیدروژن (H_2O_2) است مخلوط شد. سپس جذب آن را در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت یک دقیقه با دستگاه اسپکتوفتومتر خوانده شد. یک واحد آنزیمی کاتالاز برابر با تجزیه یک میلی‌مولار پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در یک دقیقه است. به منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD) از روش Chance و Maehly (۱۹۹۵) با اندکی تغییر استفاده شد. اندازه‌گیری بر اساس میزان اکسید شدن گوایکول توسط این آنزیم انجام گرفت. در این روش ۳۳ میکرولیتر از عصاره استخراج را با یک میلی‌لیتر از محلول پراکسیداز که شامل ۱۳ میلی‌مولار گوایکول، پنج میلی‌مولار پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات‌پتاسیم ($pH=7$) است مخلوط نموده و به مدت یک دقیقه با فواصل ۱۰ ثانیه در طول موج ۴۷۰ نانومتر جذب آن خوانده شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم اسکوربیک پراکسیداز (APX) از روش Asada و Nacano (۱۹۸۱) استفاده شد. بر اساس این روش ۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراج را با یک میلی‌لیتر محلول اندازه‌گیری اسکوربیک پراکسیداز که شامل ۵۰ میلی‌مول بافر فسفات‌پتاسیم ($pH=7$)، ۰/۱ میلی‌مول EDTA، ۰/۵ میلی‌مولار اسید اسکوربیک (ASA) و ۰/۱۵ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن (H_2O_2) است مخلوط شد. سپس جذب آن در طول موج ۲۹۰ نانومتر بعد از مدت یک دقیقه با دستگاه اسپکتوفتومتر خوانده شد. یک واحد آنزیمی اسکوربیک پراکسیداز برابر با تجزیه یک میلی‌مولار اسید اسکوربیک در یک دقیقه است. برای اندازه‌گیری مقدار پرولین از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳)، استفاده شد. بر اساس این روش ۰/۵ گرم برگ، از هر نمونه را در ۱۰ میلی‌لیتر محلول آبی اسید سولفوسالسیلیک سه درصد قرار داده و مخلوط حاصل در هاون چینی هموژنیزه و سپس مخلوط صاف گردید بعد ۲ میلی‌لیتر از این محلول را با دو میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین مخلوط نموده و دو میلی‌لیتر اسیداستیک به هر لوله اضافه گردید. سپس نمونه‌ها به

مدت یک ساعت در حمام بن‌ماری در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد بلافاصله به مدت کوتاهی در حمام یخ قرار داده شد. بعد از این مرحله به هر لوله آزمایش چهار میلی‌لیتر تولوئن اضافه کرده و نمونه‌ها با هم‌زن به هم زده شده تا کاملاً یکنواخت شوند. سپس بعد از مدتی، از فاز رویی داخل لوله برای تعیین غلظت پرولین با توجه به منحنی استاندارد پرولین در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر استفاده گردید. برای محاسبه پرولین از رابطه ۱ استفاده می‌شود (Bates et al., 1973).

$$\text{Proline } (\mu\text{M g}^{-1} \text{ fresh wt.}) = \frac{M \times T \times W}{115/5} \times 1000 \quad \text{رابطه ۱:}$$

که در آن M = عدد قرائت شده با دستگاه اسپکتروفتومتر، T = حجم تولوئن مورد استفاده (در این آزمایش چهار میلی‌لیتر است) و W = وزن نمونه برگ مورد استفاده (برای نمونه‌های این آزمایش برابر ۰/۵ است). تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS، مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد و رسم شکل‌ها با استفاده از نرم‌افزار اکسل انجام شد.

جدول ۱: برخی ویژگی‌های فیزیکی- شیمیایی خاک محل آزمایش در عمق ۳۰ سانتی‌متری

هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر)	اسیدیته کل اشباع	رس (درصد)	سیلت (درصد)	شن (درصد)	نیترژن کل (درصد)	کربن آلی (درصد)	فسفر قابل جذب (میلی‌گرم در کیلوگرم)	پتاسیم قابل جذب (میلی‌گرم در کیلوگرم)
۰/۵۷	۷/۷۴	۴۰	۴۲	۱۸	۰/۱۴	۱/۲۶	۲۱/۵	۵۶۰

نتایج و بحث

اثر فاصله آبیاری، رقم و پرایمینگ بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

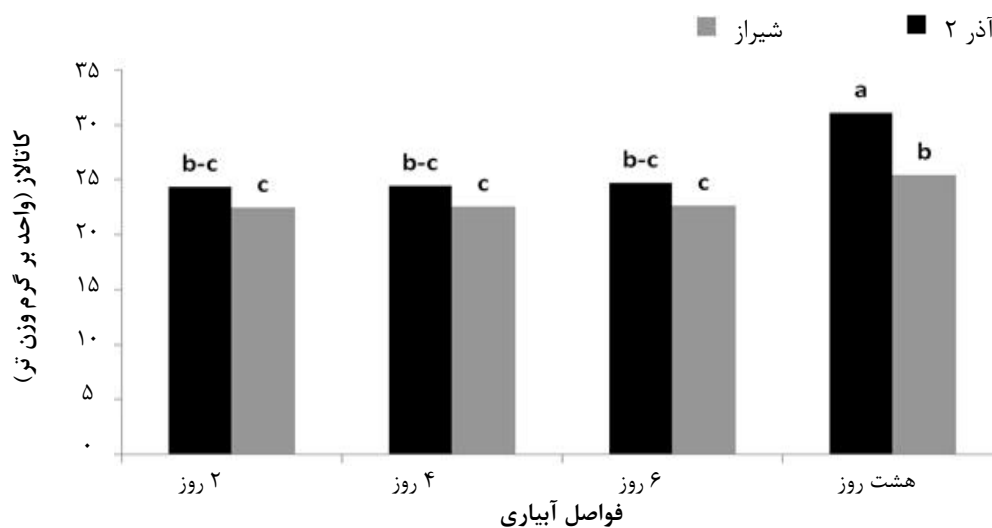
داده‌های جدول ۲ نشان می‌دهند که اثر رقم، فاصله آبیاری و برهمکنش دوگانه‌ی آن‌ها بر سه آنزیم آنتی‌اکسیدانی مورد بررسی، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد داشت. تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از این بود ارقام مورد بررسی تحت اثر تیمارهای مختلف پرایمینگ قرار نگرفت به عبارتی برهمکنش رقم و پرایمینگ معنی‌دار نبود (جدول ۲). به منظور بررسی پاسخ سیستم آنتی‌اکسیدانی دو رقم گندم آذر ۲ و شیراز به فاصله آبیاری، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، اسکوربیک‌پراکسیداز (APX) و آنزیم پراکسیداز (POD) بررسی شد و نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم کاتالاز در فاصله آبیاری چهار و شش روز نسبت به فاصله آبیاری دو روز (بدون تنش) تفاوت معنی‌داری نداشت در حالی که با اعمال تنش آبی شدیدتر (فاصله آبیاری هشت روز) در مقایسه با سایر فواصل آبیاری افزایش معنی‌داری نشان داد به‌طوری‌که در فاصله آبیاری هشت روز (تنش شدید) موجب افزایش ۲۰/۴۷ درصدی فعالیت کاتالاز نسبت به شرایط آبیاری مطلوب (فاصله آبیاری دو روز) شد (جدول ۳). نتایج پژوهش Luna و همکاران (۲۰۰۵) نیز نشان داد که افزایش فعالیت کاتالاز در گندم فقط تحت تنش شدید، بود. فاصله آبیاری تنها در شرایط فاصله آبیاری هشت روز (تنش شدید) نسبت به آبیاری مطلوب

(فاصله آبیاری دو روز) موجب افزایش میزان کاتالاز (CAT) در رقم‌های مورد بررسی گردید به‌طوری‌که این افزایش در رقم آذر ۲ بیش‌تر از رقم شیراز بود (شکل ۱). اسفندیاری و همکاران (۱۳۸۸) فعالیت کاتالاز در رقم آذر ۲ در تمامی سطوح تنش خشکی مورد بررسی یکسان گزارش کردند، هم‌چنین در یک مطالعه فعالیت کاتالاز در دو رقم گندم با ظرفیت متفاوت تحمل خشکی، تحت تنش اسمزی به مدت دو روز، افزایش یافت (Wu et al., 2012). که با نتایج این پژوهش مطابقت نداشت، به این ترتیب به نظر می‌رسد با توجه به متفاوت بودن نحوه اعمال تنش و سطوح تنش در این دو پژوهش، فاصله آبیاری هشت روز در پژوهش حاضر منجر به القای فعالیت کاتالاز شد. در شرایط بدون تنش (فاصله آبیاری دو روز) و سطوح تنش پایین‌تر (چهار و شش روز) تفاوت معنی‌داری بین دو رقم آذر ۲ و شیراز مشاهده نگردید اما رقم آذر ۲ در فاصله آبیاری هشت روز (تنش شدید) افزایش ۲۲/۰۵ درصدی میزان فعالیت کاتالاز نسبت به رقم شیراز، نشان داد (شکل ۱). از آن‌جا که کاتالاز با حذف پراکسید هیدروژن نقش مؤثری در مقاومت به خشکی دارد وجود فعالیت بیش‌تر این آنزیم می‌تواند نشان‌دهنده مقاومت بیش‌تر گیاه باشد (Sarvajeet and Narendra, 2010).

جدول ۲: نتایج تجزیه واریانس اثر رقم، پرایمینگ و فاصله آبیاری بر آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و پرولین

منابع تغییرات	درجه آزادی	کاتالاز	پراکسیداز	اسکوربیک پراکسیداز	پرولین
رقم	۱	۱۹۶/۱۷**	۸۵۵۴/۰۶**	۲۷۹۴/۰۸**	۲۰۰/۹۵**
پرایمینگ	۳	۵/۳۰ ^{n.s}	۳۴۸/۳۷*	۲۳۹/۰۲*	۱۸/۴۰**
فاصله آبیاری	۳	۱۳۲/۲۷**	۳۱۷۰/۲۵**	۵۴۳۹/۹۱**	۲۷۹۹/۱۱**
رقم × پرایمینگ	۳	۰/۲۴۷ ^{n.s}	۱۸۷/۱۷ ^{n.s}	۵۷/۵۲ ^{n.s}	۹/۶۱**
رقم × فاصله آبیاری	۳	۲۰/۱۶*	۲۳۷/۷۴*	۴۳۸/۹۷**	۱۹/۲۷**
پرایمینگ × فاصله آبیاری	۹	۰/۱۲۳ ^{n.s}	۲۱/۸۶ ^{n.s}	۳۶/۹۴ ^{n.s}	۴/۱۸**
رقم × پرایمینگ × فاصله آبیاری	۹	۰/۰۷۸ ^{n.s}	۱۵/۲۴ ^{n.s}	۱۳/۴۵ ^{n.s}	۲/۴۸**
اشتباه آزمایشی	۶۴	۵/۰۹	۸۴/۱۳	۶۶/۸۲	۰/۷۸۳
ضریب تغییرات		۹/۱۳	۱۵/۰۴	۵/۲۶	۶/۱۸

ns، * و **: به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.



شکل ۱: مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و فاصله آبیاری بر میزان فعالیت کاتالاز

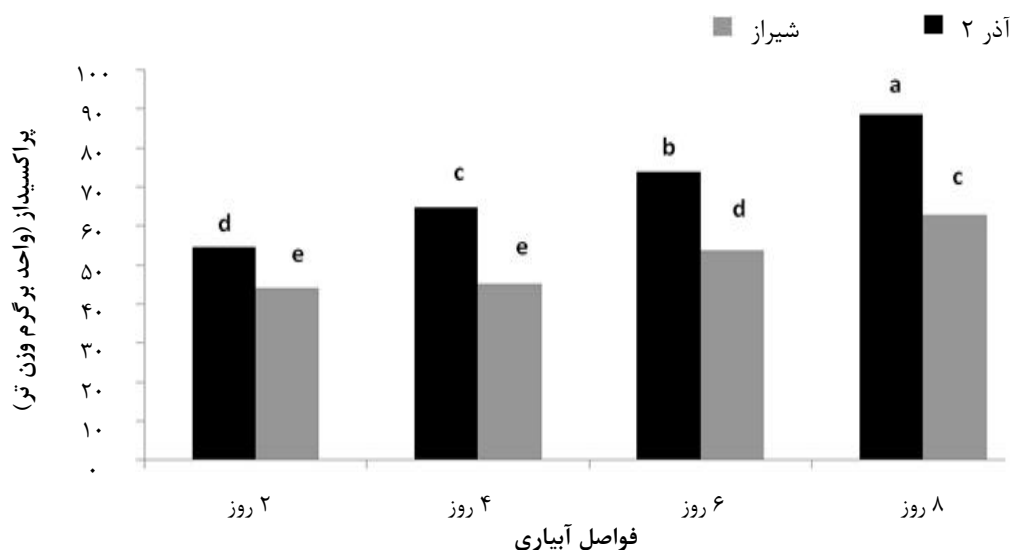
ستون‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد می‌باشند.

کمترین فعالیت آنزیم پراکسیداز (*POD*) و اسکوربیک پراکسیداز (*APX*) در فاصله آبیاری دو روز (بدون تنش آبی) به ترتیب با میانگین ۴۹/۲۷ و ۱۳۹/۶۲ (واحد برگرم وزن تر) ملاحظه شد و با افزایش فاصله آبیاری در میزان اسکوربیک پراکسیداز (*APX*) و آنزیم پراکسیداز (*POD*) افزایش معنی داری حاصل شد به طوری که در فاصله آبیاری هشت روز (حداکثر اعمال تنش آبی) به بیشترین میزان فعالیت خود به ترتیب با میانگین ۷۵/۷۰ و ۱۷۴/۸۶ (واحد برگرم وزن تر) رسید (جدول ۳). در رقم شیراز، فعالیت آنزیم پراکسیداز (*POD*) و اسکوربیک پراکسیداز (*APX*) در شرایط تنش ملایم (فاصله آبیاری چهار روز) نسبت به شرایط بدون تنش (فاصله آبیاری دو روز) تفاوت معنی داری نشان نداد اما با افزایش فاصله آبیاری، فعالیت این دو آنزیم مذکور نیز افزایش یافت به طوری که فاصله آبیاری شش و هشت روز به ترتیب موجب افزایش ۲۱/۹۶ و ۴۲/۷۱ درصدی فعالیت آنزیم پراکسیداز (*POD*) و افزایش ۱۰/۵۵ و ۱۸ درصدی فعالیت آنزیم اسکوربیک پراکسیداز (*APX*) نسبت به فاصله آبیاری ۲ روز (بدون تنش) شد (شکل ۲ و ۳).

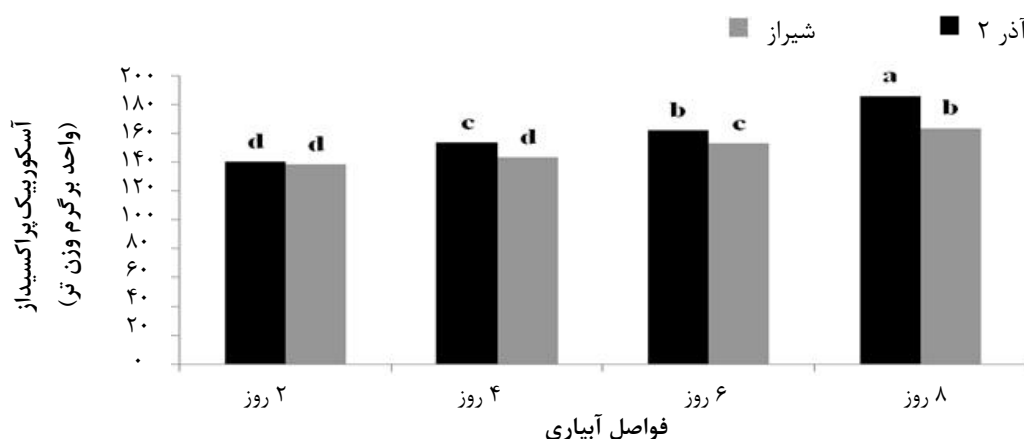
جدول ۳: مقایسه میانگین اثر، رقم، پرایمینگ و فاصله آبیاری بر آنزیمهای آنتی اکسیدانی و پرولین

تیمار	کاتالاز	پراکسیداز	آسکوربیک پراکسیداز	پرولین
	(واحد برگرم وزن تر)	(واحد برگرم وزن تر)	(واحد برگرم وزن تر)	(میکرومول برگرم وزن تر)
رقم	آذر ۲	۲۶/۱۵a	۷۰/۴۰a	۱۶۰/۵۴a
	شیراز	۲۳/۲۹b	۵۱/۵۲b	۱۴۹/۷۵b
پرایمینگ	عدم پرایمینگ	۲۴/۸۹a	۵۹/۵۰bc	۱۵۲/۶۶b
	اسموپرایمینگ	۲۴/۱۱a	۶۵/۴۶a	۱۵۸/۸۸a
	فسفوپرایمینگ	۲۵/۲۳a	۶۲/۳۲ab	۱۵۶/۶۵ab
	هیدروپرایمینگ	۲۴/۱۱a	۵۶/۵۶c	۱۵۲/۶۰b
فاصله آبیاری	دو روز	۲۳/۴۴b	۴۹/۲۷d	۱۳۹/۶۲d
	چهار روز	۲۳/۵۲b	۵۵/۰۸c	۱۴۸/۴۹c
	شش روز	۲۳/۶۹b	۶۳/۷۹b	۱۵۷/۶۳b
	هشت روز	۲۸/۲۴a	۷۵/۷۰a	۱۷۴/۸۶a

میانگینهای با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی داری ندارند.



شکل ۲: مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و فواصل آبیاری بر میزان فعالیت پراکسیداز (واحد برگرم وزن تر) ستونهایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد می‌باشند.

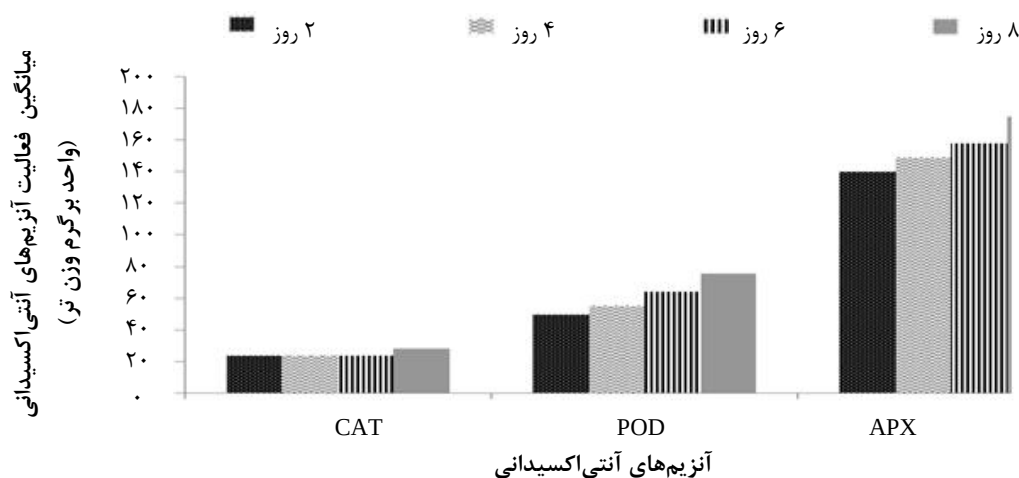


شکل ۳: مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و فواصل آبیاری بر میزان فعالیت اسکوربیک پراکسیداز (واحد بر گرم وزن تر) ستون‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

در رقم آذر ۲، فاصله آبیاری چهار، شش و هشت روز به ترتیب موجب افزایش ۱۹/۰۱، ۳۵/۵۲ و ۶۲/۴۵ درصدی فعالیت آنزیم پراکسیداز (*POD*) و افزایش ۹/۲۴، ۱۵/۲۰ و ۳۲/۳۵ درصدی فعالیت آنزیم اسکوربیک پراکسیداز (*APX*) نسبت به فاصله آبیاری دو روز (بدون تنش) شد (شکل‌های ۲ و ۳). Hossein Boldaji و همکاران (۲۰۱۲) اظهار کردند که پاسخ آنتی‌اکسیدان‌ها به کمبود آب، به شدت تنش و نوع رقم بستگی دارد ارقام مقاوم معمولاً ظرفیت حفاظتی کارآمدتری در مقابل تنش آبی دارند که می‌تواند از طریق بالا بردن میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش یابد. افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز (*POD*) و همین‌طور آنزیم اسکوربیک پراکسیداز (*APX*) در سطوح بالای تنش در رقم آذر ۲، نسبت به رقم شیراز، چشم‌گیر بود به‌طوری که در شدیدترین سطح تنش (فاصله آبیاری هشت روز)، فعالیت آنزیم پراکسیداز و اسکوربیک پراکسیداز به ترتیب در رقم آذر ۲، افزایش ۴۰/۶۶ و ۱۳/۷۰ درصدی نسبت به رقم شیراز نشان داد (شکل‌های ۲ و ۳). نتایج به‌دست آمده با گزارشی مبنی بر این که تنش خشکی باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها می‌شود و این فعالیت در ارقام مقاوم بالاتر است، مطابقت داشت (Khanna-Chopra and Selote, 2007). Harba و همکاران (۲۰۱۵) بیان کردند که هر رقم پاسخ مولکولی و بیوشیمیایی متفاوتی نسبت به شرایط تنش خشکی مشابه نشان می‌دهند. به‌طور کلی نتایج به‌دست آمده نشان داد که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مورد بررسی معیار مناسبی برای شناسایی ارقام مقاوم از حساس بودند. اثر پرایمینگ بر آنزیم‌های اسکوربیک پراکسیداز و پراکسیداز تفاوت معنی‌داری داشت با این وجود، بر آنزیم کاتالاز تفاوت معنی‌داری نشان نداد (جدول ۲). نتایج بررسی اثر تیمارهای مختلف پرایمینگ بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نشان داد که آنزیم کاتالاز در گیاهان رشد کرده از بذره‌ای پرایم شده نسبت به عدم پرایمینگ تفاوت معنی‌داری نشان نداد در واقع این نتیجه بیانگر عدم اثر تیمارهای مختلف پرایمینگ بر فعالیت آنزیم کاتالاز بود (جدول ۲). این نتایج با نتایج گزارشی مبنی بر اثر پرایمینگ در افزایش کاتالاز در شرایط سطوح تنش شوری بالا مغایرت داشت (Farhoudi et al., 2011). تیمار اسموپرایمینگ بیش‌ترین فعالیت آنزیم پراکسیداز (*POD*) و آنزیم اسکوربیک پراکسیداز

(APX) را نشان داد که به ترتیب در مقایسه با تیمار بدون پرایمینگ از افزایش ۱۰/۰۱ و ۴/۲۱ درصدی برخوردار بود، البته این تیمار با فسفو پرایمینگ تفاوت معنی‌داری نداشت کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم‌های یاد شده نیز در تیمار بدون پرایمینگ و هیدروپرایمینگ مشاهده گردید (جدول ۳). بر اساس نتایج پژوهش‌های Farhoudi و همکاران (۲۰۱۱)، پرایمینگ بذر با محلول کلرور سدیم، فعالیت پراکسیداز در شرایط تنش شوری را افزایش داد و همچنین در مطالعه‌ی Chen و Arora (۲۰۱۱) میزان فعالیت آنزیم اسکوربیک پراکسیداز در سه شرایط نرمال، تنش سرمایی و تنش خشکی در بذره‌های اسمو پرایمینگ شده بیش‌تر از بذره‌های پرایم نشده گزارش گردید که با نتایج این پژوهش مطابقت داشت (جدول ۳). از آن‌جا که گیاهان برای مقابله با خسارت ناشی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن به یک سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی مجهز شده‌اند که به گیاه کمک می‌کند در شرایط تنش به رشد خود ادامه دهد (Kocsy et al., 1996). بنابراین به نظر می‌رسد برخی از انواع پرایمینگ در افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و اسکوربیک پراکسیداز مؤثر باشند و در نتیجه در جلوگیری از خسارت رادیکال‌های آزاد اکسیژن و در پی آن سازگاری با تنش خشکی کمک نماید. در پژوهش حاضر پرایمینگ بذر با محلول سدیم کلرید (اسموپرایمینگ) و محلول فسفات‌دی‌هیدروژن پتاسیم (فسفوپرایمینگ) در افزایش سطح فعالیت دو آنزیم مذکور مؤثر واقع شد (جدول ۳).

بسیاری از پژوهشگران اسکوربیک پراکسیداز را مؤثرتر از کاتالاز و پراکسیداز در حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌دانند (Aravind and Prasad, 2003; Hsu and Kao, 2007; Khan et al., 2007). نتایج به‌دست آمده از این پژوهش نشان داد که به ترتیب اسکوربیک پراکسیداز، پراکسیداز و کاتالاز دارای بالاترین فعالیت بودند. به این معنی که در این پژوهش اسکوربیک پراکسیداز و کاتالاز به ترتیب دچار بیش‌ترین و کم‌ترین تغییرات در اثر فواصل آبیاری گردیدند (شکل ۴).



شکل ۴: میانگین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (POD) و اسکوربیک پراکسیداز (APX) در فاصله آبیاری دو، چهار، شش و هشت روز

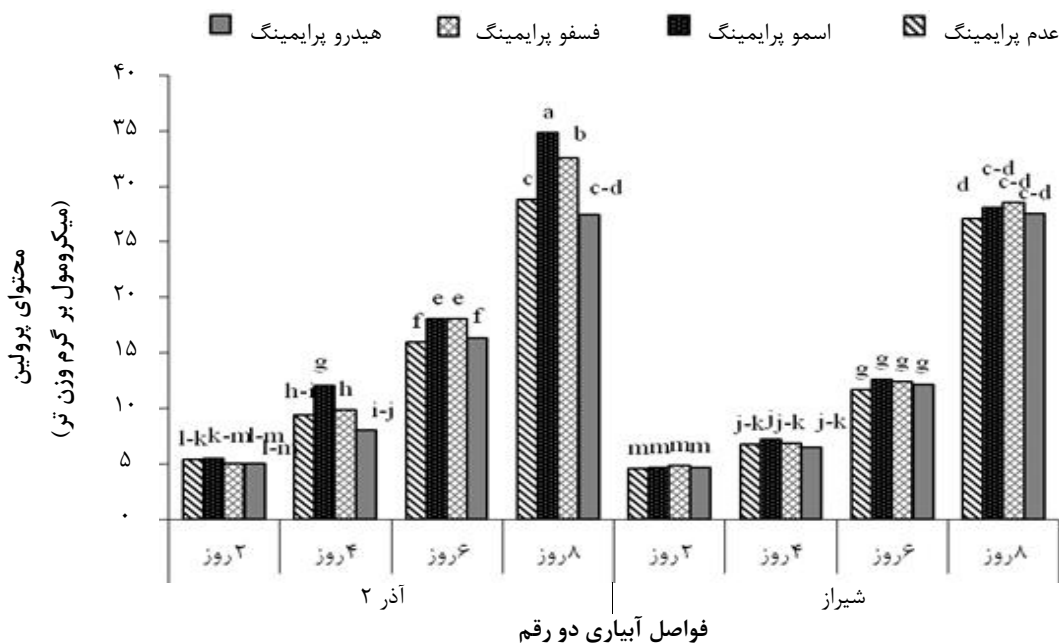
به عقیده Nair و همکاران (۲۰۰۸) از آن‌جا که اسکوربیک پراکسیداز با کمک اسیداسکوربیک باعث حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود، بالاتر بودن فعالیت این آنزیم به معنی حذف بیش‌تر رادیکال‌های اکسیژن و در نتیجه آن کاهش مرگ سلولی و افزایش مقاومت به خشکی است.

اثر فاصله آبیاری و پرایمینگ و رقم بر میزان تجمع پرولین

نتایج جدول ۲ نشان می‌دهند که اثر رقم، فاصله آبیاری و پرایمینگ و برهمکنش سه گانه‌ی آن‌ها بر تجمع پرولین، در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری داشت. نتایج جدول ۳ نشان داد که با افزایش فاصله آبیاری، تجمع پرولین افزایش معنی‌داری یافت به‌طوری که فاصله آبیاری هشت روز نسبت به فاصله آبیاری دو روز از اختلاف ۲۴/۴۱ میکرومول بر گرم برخوردار است. در هیچ یک از معیارهای بیوشیمیایی مقاومت به خشکی این افزایش چندین برابری نشان نداده است به همین دلیل در بسیاری از پژوهش‌ها از آن به عنوان شاهده‌ی برای سایر معیارهای بیوشیمیایی استفاده می‌کنند (Sarvajeet and Narendra, 2010). مقایسه میانگین اثرات اصلی، افزایش ۲۲/۶۱ درصدی تجمع پرولین در رقم آذر ۲ نسبت به رقم شیراز نشان داد (جدول ۳). بررسی مقایسه میانگین برهمکنش فاصله آبیاری و رقم نشان داد که، در شرایط آبیاری مطلوب (فاصله آبیاری دو روز) بین رقم آذر ۲ و شیراز در تجمع پرولین تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ولی همان‌گونه که انتظار می‌رفت در فاصله آبیاری چهار، شش و هشت روز، رقم آذر ۲ نسبت به رقم شیراز در میزان تجمع پرولین افزایش معنی‌داری، نشان داد (شکل ۵). Yadav و Bhardwaj (۲۰۱۲) نیز بیان داشتند که افزایش تجمع پرولین در ارقام متحمل به خشکی بسیار چشم‌گیرتر از ارقام حساس به خشکی است و این امر با افزایش تحمل به خشکی و سازگاری گیاه با شرایط خشکی ارتباط نزدیکی دارد.

بیش‌ترین تجمع پرولین مربوط به تیمار اسموپرایمینگ (پرایمینگ بذر با محلول سدیم کلرید) مقدار ۱۵/۳۳ (میکرومول بر گرم وزن تر) و پس از آن تیمار فسفوپرایمینگ (پرایمینگ بذر با محلول فسفات‌دی‌هیدروژن‌پتاسیم) با مقدار ۱۴/۷۵ (میکرومول بر گرم وزن تر) و کم‌ترین مربوط به تیمار هیدروپرایمینگ با مقدار ۱۳/۴۹ میکرومول بر گرم وزن تر بود که با تیمار عدم پرایمینگ تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۳). Farhodi و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که بذره‌های کلزای پرایم شده با سدیم کلرید با افزایش غلظت پرولین نهال کلزا و کاهش آسیب‌غشای سلولی تحمل به شوری را در نهال کلزا بهبود داد. با توجه به این که پرولین مانند یک آنتی‌اکسیدان قوی این توانایی را دارد که از مرگ سلول‌ها در برابر تنش‌های محیطی جلوگیری کند می‌توان به اهمیت نقش تیمار اسموپرایمینگ و فسفوپرایمینگ در افزایش محتوای پرولین در پژوهش حاضر پی برد (Chen and Dickman, 2005).

نتایج حاصل از بررسی برهمکنش پرایمینگ و رقم بیانگر آن بود که در رقم شیراز تفاوت معنی‌داری بین انواع پرایمینگ بذر و همین‌طور عدم پرایمینگ مشاهده نشد که می‌توان واکنش پذیری کم‌تر رقم شیراز در مقایسه با رقم آذر ۲ به تیمارهای پرایمینگ بذر توجیه کرد ولی در رقم آذر ۲ بیش‌ترین تجمع پرولین در تیمار اسموپرایمینگ با میانگین ۱۷/۵۶ و کم‌ترین در تیمار هیدروپرایمینگ با میانگین ۱۴/۲۴ (میکرومول بر گرم وزن تر) بود (شکل ۵).



شکل ۵: مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و فواصل آبیاری و پرایمینگ بر محتوای پرولین (میکرومول بر گرم وزن تر) میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

طبق بررسی برهمکنش فاصله آبیاری و پرایمینگ می‌توان نتیجه گرفت که در شرایط بدون تنش، تیمارهای مختلف پرایمینگ و عدم پرایمینگ با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشت اما در فاصله آبیاری چهار روز اسموپرایمینگ با میانگین ۹/۶۳ (میکرومول بر گرم وزن تر) بیش‌ترین تجمع پرولین را نشان داد که در مقایسه با عدم پرایمینگ از افزایش ۱۹/۷۶ درصدی برخوردار بود. در فاصله آبیاری شش روز، تیمارهای اسموپرایمینگ و فسفوپرایمینگ به ترتیب با میانگین ۱۵/۲۶ و ۱۵/۲۱ (میکرومول بر گرم وزن تر) بالاترین میزان پرولین را نشان دادند و بیش‌ترین تجمع پرولین در فاصله آبیاری هشت روز (تنش شدید) مربوط به تیمار اسموپرایمینگ (پرایمینگ بذر با محلول سدیم کلرید) با میانگین ۳۱/۴۱ (میکرومول بر گرم وزن تر) بود که افزایش ۱۲/۴۵ درصدی نسبت به تیمار عدم پرایمینگ نشان داد (شکل ۵). طبق گزارش یوسفی‌تنها و همکاران (۱۳۹۳)، در شرایط شدیدترین سطح تنش سرمای پرایمینگ بذر با اسموپرایمینگ بیش‌ترین مقدار پرولین را نشان داد که با نتایج تحقیق حاضر همسو است و همچنین در همین راستا Aymen و همکاران (۲۰۱۴) در بررسی اثر پرایمینگ بذر با سدیم کلرید تحت تنش شوری افزایش معنی‌دار پرولین را گزارش کردند. در همه‌ی سطوح آبیاری، کم‌ترین

میزان تجمع پرولین در تیمار هیدروپرایمینگ مشاهده شد که با تیمار عدم کاربرد پرایمینگ تفاوت معنی‌داری نداشت که می‌توان به مؤثر نبودن تیمار هیدروپرایمینگ در افزایش تجمع پرولین در پژوهش حاضر اشاره نمود (شکل ۵). این نتایج با نتایج گزارش اشرفی و رزمجو (۱۳۸۸) مبنی بر این که محتوای پرولین در قسمت‌های رویشی گلرنگ در بذور هیدروپرایم شده تحت شرایط تنش و غیر تنش افزایش یافت، مغایرت دارد.

با بررسی نتایج حاصل از برهمکنش رقم، پرایمینگ و فاصله آبیاری می‌توان عنوان کرد که بیش‌ترین تجمع پرولین تحت تنش شدید (فاصله آبیاری هشت روز) و مربوط به رقم آذر ۲ و کاربرد اسموپرایمینگ و پس از آن فسفوپرایمینگ به ترتیب با میانگین ۳۴/۸۱ و ۳۲/۵۷ (میکرومول بر گرم وزن تر) بود (شکل ۵). طبق گزارش احمدپوردهکردی و بلوچی (۱۳۹۱) نیز بیش‌ترین تجمع پرولین در شرایط شدیدترین سطح تنش و در گیاهان رشد کرده از بذور پرایم شده با اسیدسالیسیلیک مشاهده شد.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش فاصله آبیاری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و محتوای پرولین افزایش یافت هر چند میزان آنزیم کاتالاز تنها در شرایط تنش شدید افزایش معنی‌داری نشان داد. میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و پرولین در رقم آذر ۲ در بیش‌تر فواصل آبیاری دارای تفاوت قابل توجهی در مقایسه با رقم شیراز بود بنابراین معیارهای بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده در این پژوهش معیار مناسبی برای تشخیص ارقام مقاوم از حساس بودند. همچنین اسکوریک پراکسیداز به عنوان بهترین معیار بیوشیمیایی مقاومت به تنش آبی نسبت به دیگر آنزیم‌های مورد بررسی در این پژوهش شناخته شد. کاربرد اسموپرایمینگ و فسفوپرایمینگ در افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز و اسکوریک پراکسیداز و تجمع پرولین اثر معنی‌داری داشت که این موضوع می‌تواند مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی سلول را بهبود داده و به مقاومت بیش‌تر گیاه کمک کند بنابراین کاربرد اسموپرایمینگ و فسفوپرایمینگ برای بررسی‌های بیش‌تر قابل توصیه می‌باشد.

منابع

- احمدپوردهکردی، س. و بلوچی، ح. ر. ۱۳۹۱. اثر پرایمینگ بذر بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلول گیاهچه سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) تحت تنش شوری و خشکی. مجله الکترونیک تولید گیاهان زراعی. ۵ (۴): ۸۵-۶۳.
- اسفندیاری، ع.، شکیبی، م. ر.، محبوب، س.، آلیاری، ه. و برادران فیروزآبادی، م. ۱۳۸۸. اثر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پراکسیداسیون لیپیدی گیاهچه‌های گندم. مجله دانش کشاورزی. ۱۹ (۲): ۱۳۸-۱۲۹.
- اشرفی، ا. و رزمجو، خ. ۱۳۸۸. بررسی اثر هیدروپرایمینگ بر خصوصیات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گلرنگ تحت تنش خشکی. فصلنامه اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی. ۱ (۱): ۴۳-۳۴.

- امام، ی. ۱۳۸۶. زراعت غلات، چاپ سوم، انتشارات دانشگاه شیراز. ۱۹۰ ص.
- رزمی، ز. ۱۳۹۱. تأثیر تیمارهای مختلف پرایمینگ بذر بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی رشد و عملکرد دو رقم گندم نان در شرایط تنش خشکی، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه شیراز، ۱۲۵ ص.
- علیزاده، ا. ۱۳۸۵. رابطه آب و خاک و گیاه. چاپ ششم. انتشارات دانشگاه امام رضا (ع). مشهد. ۴۷۰ ص.
- یوسفی‌تنها، ا.، فلاح، س. و تدین، ع. ۱۳۹۴. اثر پرایمینگ بذر بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی مؤثر بر جوانه‌زنی بذر نخود فرنگی (*mPisum satvu L.*) تحت تنش سرما. فرآیند و کاربرد گیاهی. ۴ (۱۳): ۱-۱۵.

Aravind, P. and Prasad, M.N.V. 2003. Zinc alleviates cadmium-induced oxidative stress in *Ceratophyllum demersum L.*: a free floating freshwater macrophyte. *Plant Physiology and Biochemistry* 41: 391-397.

Ashkani, J., Pakniyat, H., Emam, Y., Assad, M. and Bahrani, M. 2007. The evaluation and relationships of some physiological traits in spring safflower (*Carthamus tinctorius L.*) under stress and non-stress water regimes. *Journal of Agricultural Science* 9: 267-277.

Ashraf, M. and Foolad, M. 2005. Pre-Sowing Seed Treatment –A Shotgun approach to improve germination, plant Growth, and crop yield under Saline and Non-Saline Conditions. *Advances in Agronomy* 88: 223-271.

Aymen, E.M., Meriem, B., Kaouther, Z. and Cherif, H. 2014. Influence of NaCl Seed Priming on Growth and Some Biochemical Attributes of Safflower Grown under Saline Conditions. *Res Crop Ecophysiol* 9:13-20.

Baalbaki, R., Zurayk, R., Bleik, M. and Talhouk, S. 1999. Germination and seedling development of drought tolerant and susceptible wheat under moisture stress. *Seed Science and Technology* 27: 291-302.

Bates, L.S., Waldern, R.P. and Teave, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress standies. *Plant and Soil* 39: 205-107.

Bhardwaj, J. and Yadav, S.K. 2012. Comparative study on biochemical parameters and antioxidant enzymes in drought tolerant and a sensitive variety of Horsegram (*Macrotyloma uniflorum*) under drought stress. *American Journal of Plant Physiology* 7: 17-29.

Blokhina, O., Virolainen, E. and Fagerstedt, K.V. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: A review. *Annals of Botany* 91: 179-194.

Buyukalace, S. 1999. The effect of NaCl priming on salt tolerance in melon seedling. *Acta Horticulture* 492: 77-84.

Chance, B. and Maehly, A.C. 1995. Assay of catalase and peroxidase 2: 764-765 In: S. P. Culowic, and N. O. Kaplan (eds). Methods in enzymology Academic Press. Inc. New York.

Chen, C. and Dickman, M.B. 2005. Proline suppresses apoptosis in the fungal pathogen *Colletotrichum trifolii*. Proceedings of National Academy of Seed 102: 3459-3464.

Chen, K. and Arora, R. 2011. Dynamics of the antioxidant system during seed osmopriming, post-priming germination, and seedling establishment in Spinach (*Spinacia oleracea*). Plant Science 180: 212-220.

Dhindsa, R.S., Plumb-Dhindsa, P. and Thorpe, T.A. 1981. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. Journal of Exp. Bot 32: 93-101.

Farhoudi, R., Saeedipour, S. and Delfie, M. 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. African Journal of Agricultural Research 6: 1363-1370.

Farhoudi, R., Sharifzadeh, F., Poustini, K., Makkizadeh, M.T. and Kochakpor, M. 2007. The effects of NaCl priming on salt tolerance in canola (*Brassica napus*) seedlings grown under saline conditions. Seed Science Technology 35: 754-759.

Harba, A., Awada, D. and Samarahb, N. 2015. Gene expression and activity of antioxidant enzymes in barley (*Hordeum vulgare* L.) under controlled severe drought. Journal of Plant Interactions 10: 109-116.

Hosseini Boldaji, S.A., Khavari-Nejad, R.A., Hassan Sajedi, R., Fahimi, H. and Saadatmand, S. 2012. Water availability effects on antioxidant enzyme activities lipid peroxidation, and reducing sugar contents of alfalfa (*Medicago sativa* L.). Acta Physiologia Plantarum 34: 1177-1186.

Hsu, J. and Sung, J. 1997. Antioxidant role of glutathione associated with accelerated aging and hydration of triploid watermelon seeds. Physiologia Plantarum 100: 967-974.

Hsu, Y.T. and Kao, C.H. 2007. Heat shock-mediated H₂O₂ accumulation and protection against Cd toxicity in rice seedlings. Plant and Soil 300: 137-147.

Khan, N., Singh, S. and Nazar, R. 2007. Activities of antioxidative enzymes, sulphur assimilation, photosynthetic activity and growth of wheat (*Triticum aestivum*) cultivars differing in yield potential under cadmium stress. Journal of Agronomy and Crop Science 193: 435-444.

Khanna-Chopra, R. and Selote, D.S. 2007. Acclimation to drought stress generates oxidative stress tolerance in drought-resistant than-susceptible wheat cultivar under field conditions. Environmental and Experimental Botany 60: 276-283.

Kocsy, G., Brunner, M., Rueggsegger, A., Stamp, P. and Brunold, C. 1996. Glutathione synthesis in maize genotypes with different sensitivities to chilling. *Planta* 198: 365-370.

Luna, C.M., Pastori, G.M., Driscoll, S., Groten, K., Bernard, S. and Foyer, C.H. 2005. Drought controls on H₂O₂ accumulation, catalase CAT activity and CAT gene expression in wheat. *Journal of Experimental Botany* 56: 417-423.

Parera, C.A. and Cantliffe, D.J. 1994. Presowing seed priming. *Horticultural Reviews* 16: 109-141.

Sarvajeet, S.G. and Narendra, T. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in a biotic stresstolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 3: 1-22.

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

Murungu, F., Nyamugafata, P., Chiduzi, C., Clark, L. and Whalley, W. 2003. Effects of seed priming, aggregate size and soil matric potential on emergence of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) and maize (*Zea mays* L.). *Soil and Tillage Research* 74: 161-168.

Nair, A.S., Abraham, T. and Jaya, D. 2008. Studies on the changes in lipid peroxidation and antioxidants in drought stress induced cowpea (*Vigna unguiculata* L.) varieties. *Journal of Environmental Biology* 29: 689-691.

Nakano, Y. and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol* 22: 867-880.

Wu, G.O., Zhang, L.N. and Wang, Y.Y. 2012. Response of growth and antioxidant enzymes to osmotic stress in two different wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars seedlings. *Plant Soil Environ* 58:534-539.

Zhang, J. and Kirkham, M.B. 1996. Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedlings. *New Phytologist* 132: 361-373.