

گزارش کوتاه علمی

اثر پیش تیمارهای مختلف بر صفات جوانه‌زنی و رشد بذرهای برنج (*Oryza sativa*) در مقایسه با نانوذرات نقره در طی تنش خشکیمهناز اقدسی^۱، پویان مهربان جوبنی^{۲*}، طاهره نظام دوست^۳، فاطمه تمسکنی^۱^۱ دانشجویار و فارغ‌التحصیل دکتری گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان
^۲ استادیار گروه علوم پایه، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری^۳ استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه سیستان و بلوچستان*پست الکترونیک نویسنده مسئول: Pooyan.mehraban@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۵/۲۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۰۲)

چکیده

این پژوهش با هدف مقایسه پیش تیمارهای هیدروپرایمینگ، آسکوبات و کلرید کلسیم با پیش تیمار غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره بر بذرهای دو رقم برنج بومی هاشمی و اصلاح شده شیروودی در طی تنش خشکی انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و صورت گرفت. فاکتور اول پیش تیمارهای شاهد (بدون پیش تیمار)، هیدروپرایمینگ، کلرید کلسیم ۲۰ میلی‌گرم در لیتر، آسکوبات ۲۰ میلی‌گرم در لیتر و غلظت‌های ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره بود. فاکتور دوم تنش خشکی با پتانسیل‌های اسمزی معادل صفر، $-1/48$ و $-4/91$ بار ایجاد شده با محلول پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ بود. در گیاهان بدون تنش خشکی، پیش تیمار آسکوبات در رقم هاشمی و کلرید کلسیم در رقم شیروودی به ترتیب سبب کاهش ۳۴ و ۵۴ درصدی زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی (T_{50}) شدند. در تنش خشکی، پیش تیمارهای آسکوبات و هیدروپرایمینگ بیشتر از تیمارهای نانوذرات نقره زمان لازم برای رسیدن بذرها به ۵۰ (T_{50}) و ۹۰ (T_{90}) درصد جوانه‌زنی را به‌ویژه در رقم شیروودی کاهش دادند. از طرف دیگر کلرید کلسیم نسبت به دیگر پیش تیمارها، نقش مهمی در افزایش صفات رشد در تیمارهای تنش خشکی داشت. غلظت ۴۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره تا حدودی سبب افزایش صفات رشد شده است، اما مقدار بیشتر نانوذرات نقره، تنش را در دانه‌رست‌ها القا نمود. پیش تیمار آسکوبات از طریق کاهش رادیکال‌های آزاد اکسیژن باعث بهبود مؤلفه‌های جوانه‌زنی و پیش تیمار کلرید کلسیم با افزایش کارایی غشاء پلاسمایی سبب افزایش رشد گیاهچه‌ها در شرایط تنش خشکی شد.

واژه‌های کلیدی: آسکوبات، رقم‌های برنج هاشمی و شیروودی، کلرید کلسیم، هیدروپرایمینگ، نانوذرات نقره

جنبه‌های نوآوری:

- ۱- نانوذرات نقره سبب افزایش اثر تنش در دانه‌رست‌های رقم‌های برنج شد.
- ۲- پیش تیمار آسکوبات و کلرید کلسیم به ترتیب سبب بهبود جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های برنج در شرایط تنش خشکی شد.



مقدمه

در بین عوامل بازدارنده محیطی مؤثر بر استقرار، رشد و عملکرد گیاهان، خشکی مهم‌ترین عامل کاهش تولید به‌خصوص در مناطق خشک و نیمه‌خشک به شمار می‌رود. در این مناطق استقرار ضعیف دانه‌رست‌های جوان در زمین در ابتدای فصل، موجب افزایش هجوم علف‌های هرز، کاهش مقاومت به خشکی و در نهایت کاهش محصول می‌شود (هریس^۱ و همکاران، ۲۰۰۱).

گیاه برنج یکی از مهم‌ترین محصولات زراعی ایران است که در طی تنش خشکی علاوه بر عدم آبنوشی مناسب و کاهش درصد جوانه‌زنی، به دلیل توسعه سیستم ریشه‌ای نامناسب دارای بنیه ضعیف می‌شوند و رشد مناسب و طبیعی ندارند. در این شرایط بوته‌های برنج مستعد حمله آفات می‌شود و مقدار عملکرد برنج به‌شدت کاهش می‌یابد (ژنگ^۲ و همکاران، ۲۰۱۶). از این‌رو لزوم رسیدن به راهکارهای مناسب جهت افزایش کارایی گیاه و استقرار مناسب گیاهچه‌ها جهت پایداری بیشتر در خاک بیش از پیش لازم به نظر می‌رسد. از راهبردهای کم‌هزینه و کاربردی جهت غلبه بر این تنش، پیش‌تیمار بذرها قبل از کشت یا پرایمینگ بذر^۳ است که به‌واسطه آن بذرها پیش از قرار گرفته در بستر خود و مواجهه با شرایط اکولوژیکی محیط، به لحاظ فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آمادگی جوانه‌زنی را به‌دست می‌آورند (مک‌دونالد^۴، ۲۰۰۰). افزایش جوانه‌زنی در بذرهای پیش‌تیمار شده را به ترمیم غشاء و ساخته‌شدن متابولیت‌های موردنیاز جوانه‌زنی و همچنین کاهش در مرحله تأخیری آبنوشی مرتبط می‌دانند (حسین^۵ و همکاران، ۲۰۱۴). خیساندن و مرطوب کردن دانه‌ها در آب و خشک کردن مجدد آن‌ها، استفاده از نمک‌ها و محلول‌های اسمزی مانند کلرید کلسیم و یا پیش‌تیمار بذرها با اسید آسکوربیک به‌ویژه در انبارداری بذرهای مانند برنج، آفتابگردان (باتاچارجی و باتاچاریا^۶، ۱۹۸۹) ذرت و خردل (دی و مخرجی^۷، ۱۹۹۸) استفاده شده

است. استفاده از ذرات نانو و نمک‌های آن‌ها نیز از جمله مواردی است که در چند سال اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است (کلین^۸ و همکاران، ۱۹۷۵). نانوذرات نقره یکی از مواردی است که به‌عنوان پیش‌تیمار بذری برای کنترل بیماری‌ها پیشنهاد شده است و همچنین ادعا می‌شود که موجب بهبود استقرار اولیه گیاهچه‌ها می‌شود (مک‌دونالد، ۲۰۰۰).

هدف از این پژوهش مقایسه پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره با هیدروپرایمینگ، آسکوربات و کلرید کلسیم در جوانه‌زنی دو رقم برنج ایرانی اصلاح شده (شیرودی) و بومی (هاشمی) در طی تنش خشکی بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در اتاقک کشت آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشگاه گلستان انجام شد. به این منظور از بذر گیاه برنج رقم‌های هاشمی و شیرودی که از مرکز تحقیقات برنج کشور (رشت) تهیه شده بود استفاده گردید. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و به‌صورت فاکتوریل با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول ترکیبات پرایمینگ شامل شاهد (بدون پرایمینگ)، ۲۴ ساعت هیدروپرایمینگ بذر با آب تقطیر شده (فرخ^۹ و همکاران، ۲۰۰۶)، ۲۴ ساعت پرایمینگ بذر با محلول کلرید کلسیم (Calcium dichloride-PubChem) ۲۰ میلی‌گرم در لیتر (رحمان^{۱۰}، ۲۰۱۱)، ۱۲ ساعت پرایمینگ بذر با محلول آسکوربات (L-Ascorbic acid sodium salt- PubChem) ۲۰ میلی‌گرم در لیتر (فرخ و همکاران، ۲۰۰۷) و ۳ دقیقه پرایمینگ بذر با غلظت‌های ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره (صالحی و همکاران، ۲۰۱۰) با نام تجاری نانوسید بود که از شرکت نانو نصب پارس خریداری شده بود.

بذرهای بعد از طی مدت زمان پیش‌تیمار با آب فراوان شسته و سپس در دمای محیط خشک شدند. فاکتور دوم تنش خشکی بود و به‌منظور ایجاد پتانسیل اسمزی در تنش خشکی از محلول پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰

¹ Harris² Zheng³ Seed priming⁴ McDonald⁵ Hussian⁶ Bhattacharjee and Bhattacharyya⁷ Dey and Mukherjee⁸ Klein⁹ Farooq¹⁰ Rehman

به‌منظور ارزیابی و تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SAS استفاده شد. همچنین جهت بررسی معنی‌دار بودن اختلاف میانگین داده‌ها از آنالیز واریانس (ANOVA) و آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس اثر پیش‌تیمارهای مختلف و شرایط تنش خشکی در رقم هاشمی نشان داد که پیش‌تیمارها بر کلیه صفات جوانه‌زنی و رشدی گیاه به‌جز طول ریشه‌چه اثر معنی‌دار داشت. خشکی نیز برای کلیه صفات اندازه‌گیری شده در سطح احتمال ۱ درصد اثر معنی‌دار داشت. اثر متقابل پیش‌تیمار و خشکی نیز تنها بر زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی (T_{50}) در سطح احتمال ۱ درصد اثر معنی‌دار داشت (جدول ۱).

در رقم اصلاح شده شیروودی تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر پیش‌تیمارها بر کلیه صفات جوانه‌زنی و رشدی گیاه به‌جز درصد جوانه‌زنی معنی‌دار بود. اثر خشکی نیز برای کلیه صفات به‌جز طول ریشه‌چه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. در رقم شیروودی اثر متقابل پیش‌تیمار و خشکی علاوه بر زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی (T_{50}) بر طول ساقه‌چه نیز اثر معنی‌دار داشت (جدول ۲).

نتایج نشان داد که در کلیه سطوح پتانسیل اسمزی پیش‌تیمارهای آسکوربات، هیدروپرایمینگ و کلرید کلسیم، سبب کاهش معنی‌دار زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی نسبت به پیش‌تیمارهای نانوسید ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم در لیتر گیاهان شاهد (بدون پیش‌تیمار) در هر دو رقم هاشمی و شیروودی شدند (شکل ۱). در هر دو رقم هاشمی و شیروودی پیش‌تیمار شده با آسکوربات، تنش خشکی ۱/۴۸- بار سبب افزایش زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی نشد، اما در بقیه پیش‌تیمارها، تنش خشکی ۱/۴۸- و ۴/۹۱- بار سبب افزایش معنی‌دار زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی (T_{50}) نسبت به گیاهان بدون تنش خشکی شدند. این افزایش زمان در پیش‌تیمارهای

(PEG 6000-Sigma-Aldrich) استفاده شد. مقدار پتانسیل اسمزی ایجاد شده توسط پلی‌اتیلن گلیکول مطابق روش مایکل و کافمن^۱ (۱۹۷۳) و رابطه ۱ محاسبه گردید.

رابطه (۱):

$$OP = (-1.18 \times 10^{-2}) \times C - (1.18 \times 10^{-4}) \times C + (2.67 \times 10^{-4}) \times C \times T + (8.39 \times 10^{-7}) \times C^2 T$$

که در آن:

OP: پتانسیل تنش اسمزی بر حسب بار

C: غلظت پلی‌اتیلن گلیکول (PEG)

T: دمای محیط بر حسب کلوین در نظر گرفته شد. بر مبنای رابطه ارائه شده بذره‌های برنج رقم هاشمی و شیروودی در سه سطح پتانسیل اسمزی صفر، ۱/۴۸- و ۴/۹۱- بار به ترتیب معادل ۱۰۰ و ۲۰۰ گرم در لیتر پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ قرار گرفتند.

جهت اندازه‌گیری شاخص‌های جوانه‌زنی و صفات فیزیولوژیکی مانند طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در مرحله جوانه‌زنی رقم‌های برنج از دو محیط مختلف پتری‌دیش و حوله‌های کاغذی استفاده شد. تعداد ۲۰ عدد بذر سالم و یکنواخت به مدت ۱۵ دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد ضدعفونی شد. بذره‌های ضدعفونی شده با آب مقطر فراوان شسته و بعد از قرار گرفتن در پتری‌دیش به انکوباتور و به مدت ۱۰ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی منتقل شدند. خروج ریشه‌چه از بذر به‌اندازه ۲ میلی‌متر به‌عنوان بذره‌های جوانه‌زده در نظر گرفته شد. صفات زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ (T_{50}) و ۹۰ (T_{90}) درصد جوانه‌زنی، درصد و سرعت جوانه‌زنی با استفاده از برنامه Germin-g محاسبه شد (سلطانی^۲ و همکاران، ۲۰۰۲). حوله‌های کاغذی استفاده شده در کشت بذرها ابتدا در دمای ۱۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت سترون شدند و سپس در داخل آب مقطر (صفر بار) و دیگر محلول‌های تیمار پلی‌اتیلن گلیکول معادل ۱/۴۸- و ۴/۹۱- بار غوطه‌ور و پس از خارج کردن آب اضافی بذره‌های برنج روی آن‌ها کشت داده شد.

¹ Michel and Kaufmann

² Soltani

مقدار طول ساقه چه کاسته شد. در تنش خشکی با پتانسیل اسمزی $1/48-$ و $4/91-$ بار تیمار هیدروپرایمینگ سبب افزایش طول ساقه‌چه نسبت به دیگر پیش تیمارها شد (جدول ۴).

کاهش معنی‌دار و مشخص زمان لازم برای رسیدن بذرها به 50 و 90 درصد جوانه‌زنی در بذرهاى پیش تیمار شده با آسکوربات، هیدروپرایمینگ و کلرید کلسیم نسبت به پیش تیمارهای نانوسید 20 ، 40 و 80 میلی‌گرم در لیتر سبب می‌شود که این دانه‌رست‌ها در طی زمان کوتاه‌تری سیستم ریشه‌ای خود را گسترش داده و با جذب بهتر آب و مواد غذایی و تولید بخش‌های فتوسنتزی به مرحله اتوتروفی برسد. همراه با تنش خشکی، پیش تیمار آسکوربات در رقم هاشمی و پیش تیمار آسکوربات، هیدروپرایمینگ و کلرید کلسیم در رقم شیروودی، بهترین اثر را از لحاظ کاهش زمان لازم برای رسیدن به 50 (T_{50}) و تا حدودی 90 (T_{90}) درصد جوانه‌زنی نسبت به سایر پیش تیمارها داشتند. استاسولا و یونگ^۱ (۲۰۰۱) بیان کردند که یکی از مراحل مهم در طی آبنوشی بذرها، سنتز و متابولیسم آسکوربات می‌باشد که این امر در افزایش فعالیت مرستمی جنین در طی جوانه‌زنی ضروری است. رشید^۲ و همکاران (۲۰۰۴) نیز گزارش نمودند که بذرهاى گیاه ماش *Vigna radiata* بعد از ۸ ساعت پرایمینگ در آب سبز شدن سریع‌تری نسبت به شاهد داشتند و عملکرد آنها ۵ برابر افزایش یافت.

همراه با افزایش تنش خشکی از درصد جوانه‌زنی بذرها کاسته شد. بر اساس نظر یاگمر و کایدن^۳ (۲۰۰۸) کاهش جوانه‌زنی و در نتیجه سبز شدن بذرها در اثر افزایش سطوح خشکی به دلیل کاهش شیب پتانسیل آب بین بذرها و محیط اطراف است که در نتیجه سبب اختلال در سنتز آنزیم‌های لازم برای جوانه‌زنی می‌شود. پیش تیمارهای هیدروپرایمینگ و نانوسید 40 میلی‌گرم در لیتر تا حدودی سبب افزایش درصد جوانه‌زنی به‌ویژه در رقم هاشمی شده‌اند. افزایش درصد جوانه‌زنی بذرهاى پرایمینگ شده با آب نسبت به بذرهاى تیمار نشده تحت

نانوسید نسبت به سایر پیش تیمارها بیشتر بود (شکل ۱).

در رقم هاشمی پیش تیمار آسکوربات با 27 درصد و در رقم شیروودی پیش تیمار هیدروپرایمینگ و کلرید کلسیم به ترتیب با 36 و 29 درصد سبب بیشترین کاهش زمان لازم برای رسیدن به 90 درصد جوانه‌زنی (T_{90}) نسبت به گیاهان شاهد شدند. افزایش تنش خشکی ایجاد شده با پلی اتیلن گلیکول تا $4/91-$ بار به ترتیب سبب افزایش معنی‌دار 39 و 43 درصدی زمان لازم برای رسیدن به 90 درصد جوانه‌زنی نسبت به گیاهان بدون تنش خشکی در رقم‌های هاشمی و شیروودی شد (جدول ۳). نتایج نشان داد که در رقم هاشمی پیش تیمار هیدروپرایمینگ با $91/7$ درصد جوانه‌زنی بیشترین مقدار جوانه‌زنی را نسبت به دیگر پیش تیمارها در مقایسه با گیاهان شاهد (بدون پیش تیمار) داشت (جدول ۳). تنش خشکی $4/91-$ بار، سبب کاهش معنی‌دار و 15 درصدی گیاهان بدون تنش خشکی هر دو رقم مورد آزمایش شد (جدول ۳).

مقایسه اثر پیش تیمارها بر طول ریشه‌چه نشان داد که در هر دو رقم هاشمی و شیروودی طول ریشه‌چه در پیش تیمار کلرید کلسیم افزایش معنی‌داری نسبت به دیگر پیش تیمارها در مقایسه با گیاهان شاهد داشت (جدول ۳). در رقم هاشمی مقدار طول ریشه‌چه در تنش خشکی با پتانسیل اسمزی $1/48-$ بار افزایش و در تنش خشکی با پتانسیل اسمزی $4/91-$ بار روند کاهشی و معنی‌دار نسبت به گیاهان بدون تنش خشکی نشان داد. اما در رقم شیروودی الگوی تغییرات طول ریشه‌چه در طی زیاد شدن تنش خشکی تا حدودی ثابت باقی مانده است (جدول ۳). نتایج نشان داد که در هر دو رقم هاشمی پیش تیمار کلرید کلسیم در حدود 26 درصد سبب افزایش معنی‌دار طول ساقه‌چه نسبت به بذرهاى بدون پیش تیمار شد (جدول ۳). در رقم هاشمی مقدار طول ساقه‌چه در گیاهان تیمار شده با تنش خشکی پتانسیل اسمزی $1/48-$ بار و $4/91-$ بار به ترتیب در حدود 27 و 73 درصد کاهش نشان داد (جدول ۳). در گیاهان بدون تنش خشکی رقم شیروودی پیش تیمار کلرید کلسیم سبب افزایش معنی‌دار طول ساقه‌چه نسبت به دیگر پیش تیمارها شده است همراه با تنش خشکی از

¹ Stasolla and Yeung

² Rashid

³ Yagmur and Kaydan

جدول ۱- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس اثر پیش‌ تیمار و خشکی بر صفات جوانه‌زنی و رشدی بذر برنج رقم هاشمی.

Table 1. Mean squares of variance analysis for germination and growth parameters of seeds in Hashemi cultivar under priming and drought stress treatments.

منابع تغییرات Source of variance	درجه آزادی DF	زمان لازم برای ۵۰ درصد جوانه‌زنی T ₅₀	زمان لازم برای ۹۰ درصد جوانه‌زنی T ₉₀	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	طول ریشه‌چه Root length	طول ساقه‌چه Shoot length
پیش‌ تیمار Priming	6	5687**	3607**	129.1*	2.36 ^{ns}	2.63**
خشکی Drought	2	34492**	34191**	3272**	42.8**	118.5**
پیش‌ تیمار × خشکی Priming × Drought	12	521.6**	157.8 ^{ns}	67.98 ^{ns}	1.66 ^{ns}	0.26 ^{ns}
خطا error	42	141.9	495.2	54.76	1.72	0.45

** معنی‌دار در سطح احتمال کم‌تر از ۱ درصد، * معنی‌دار در سطح احتمال کم‌تر از ۵ درصد، ^{ns} نشان دهنده معنی‌دار نبودن داده‌ها.

**Significantly different (P<0.01), * significantly different (P<0.05), ^{ns} Not significant.

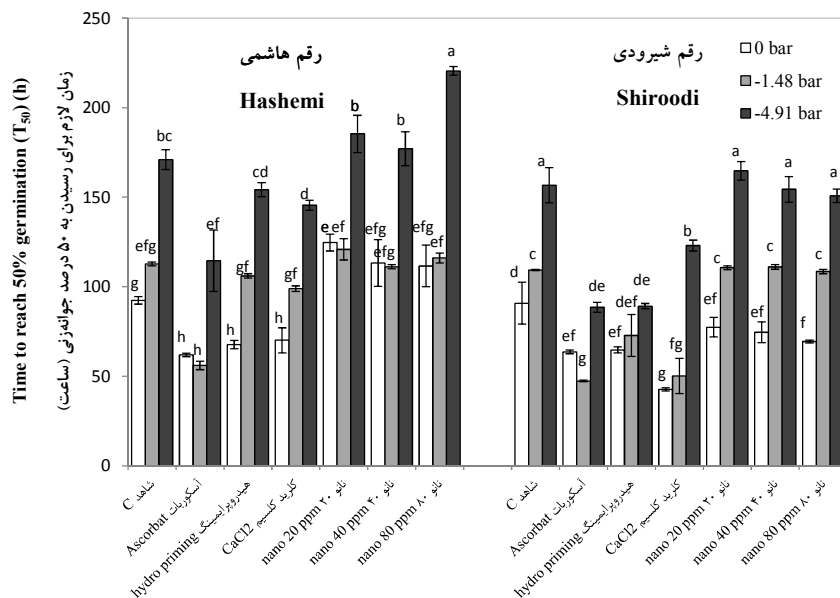
جدول ۲- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس اثر پیش‌ تیمار و خشکی بر صفات جوانه‌زنی و رشدی بذر برنج رقم.

Table 2. Mean squares of variance analysis for germination and growth parameters of seeds in Shiroodi cultivar under priming and drought stress treatments.

منابع تغییرات Source of variance	درجه آزادی DF	زمان لازم برای ۵۰ درصد جوانه‌زنی T ₅₀	زمان لازم برای ۹۰ درصد جوانه‌زنی T ₉₀	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	طول ریشه‌چه Root length	طول ساقه‌چه Shoot length
پیش‌ تیمار priming	6	5008**	5359**	28.42 ^{ns}	6.93**	2.94**
خشکی drought	2	22448**	30560**	1314**	0.44 ^{ns}	157.1**
پیش‌ تیمار × خشکی priming × drought	12	713.3**	747.9 ^{ns}	69.31 ^{ns}	1.97 ^{ns}	1.23*
خطا error	42	95.72	566.5	59.92	1.10	0.59

** معنی‌دار در سطح احتمال کم‌تر از ۱ درصد، * معنی‌دار در سطح احتمال کم‌تر از ۵ درصد، ^{ns} نشان دهنده معنی‌دار نبودن داده‌ها.

**Significantly different (P<0.01), *Significantly different (P<0.05), ^{ns} Not significant.



شکل ۱- مقایسه میانگین برهمکنش پیش تیمارها و تیمارهای مختلف خشکی بر زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی بذره‌های برنج رقم‌های هاشمی و شیروودی. میله‌های روی هر یک از ستون‌ها نشان‌دهنده خطای استاندارد است. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

Figure 1. Comparison of effect of interaction of seed primings and different drought stresses on time to reach 50% germination (T_{50}) in the rice seeds of Hashemi and Shiroodi cultivars. Values are means with standard errors shown by vertical bars ($n = 3$). Numbers followed by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$).

باقری^۳ (۲۰۱۲) گزارش نمودند که هیدروپرایمینگ سبب کاهش طول ریشه در گیاه کتان (*Linum usitatissimum*) شده است. در ارتباط با اثر تیمارهای نانوذرات نقره صالحي و همکاران (۲۰۱۰) گزارش نمودند که تیمار نانوسید ۲۰ میلی‌گرم در لیتر سبب افزایش طول ریشه‌چه در گیاهچه‌های کلزا شده است؛ اما ابوزید و مصطفی (۲۰۱۴) گزارش نمودند که تیمار نانوذرات نقره سبب کاهش طول ریشه در گیاهان گندم و جو شده‌اند. به نظر می‌رسد تیمار نانوذرات در غلظت‌های پایین، هدایت بیان ژن‌های مرتبط با طول ریشه را افزایش می‌دهد، اما در غلظت‌های بالاتر همراه با تأثیر بر شاخص تقسیمات میتوزی و افزایش ناهنجاری تقسیم سلولی در ریشه سبب کاهش رشد ریشه می‌شود. استامپولیس^۴ و همکاران (۲۰۰۹) گزارش نمودند که جوانه‌زنی و رشد ریشه گیاهان کدو سبز رشدیافته در محلول هیدروپونیک غنی‌شده با نانو ذرات نقره کاهش یافت و با وجود عدم علائم سمیت بر گیاه در طولانی

تنش خشکی ممکن است به علت افزایش جذب اکسیژن و کارایی حرکت مواد غذایی از کوتیلدون به سمت محور جنینی باشد (امجد^۱ و همکاران، ۲۰۰۷). تحقیقات متعددی نشان‌دهنده اثرات مثبت و منفی یا بی‌اهمیت بودن اثر نانوذرات در جوانه‌زنی دانه است. مطالعات ابوزید و مصطفی^۲ (۲۰۱۴) روی سه رقم گندم نشان داد که پیش تیمارهای نانوذرات نقره سبب افزایش درصد جوانه‌زنی می‌شود اما ناهنجاری‌های کروموزومی را در گیاه در پی داشته است. در شرایط بدون تنش خشکی، پیش تیمار هیدروپرایمینگ و نانوسید ۴۰ میلی‌گرم در لیتر در رقم هاشمی و تمامی پیش تیمارها به جز تیمار نانوسید ۸۰ میلی‌گرم در لیتر در رقم شیروودی سبب کاهش طول ریشه‌چه شده‌اند. در شرایط هیدروپرایمینگ گیاهان یک دوره آبنوشی کامل را می‌گذرانند و از این‌رو گیاه نیازی جهت افزایش طول ریشه در بالا رفتن کارایی جذب آب ندارد. کدخدایی و

³ Kadkhodaie and Bagheri

⁴ Stampoulis

¹ Amjad

² Abou-Zeid and Moustafa

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر پیش‌ تیمارها و تنش‌های مختلف خشکی بر زمان رسیدن به ۹۰ درصد جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در رقم‌های هاشمی و شیروودی.

Table 3. Comparison of the mean effect of seed priming and different treatments of drought stress on time to reach 90% germination (T_{90}), final germination percentage, root and shoot lengths in the rice seeds of Hashemi and Shiroodi cultivars.

تیمار Treatment	زمان لازم برای رسیدن به ۹۰ درصد جوانه‌زنی (T_{90} , h) (ساعت)	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	طول ریشه‌چه Root length (cm)	طول ساقه‌چه Shoot length (cm)
رقم هاشمی Hashemi cultivar				
پیش‌ تیمار Priming				
Control شاهد	176.8ab	89.44ab	6.59ab	4.21b
Ascorbat 20ppm آسکوربات	129.3d	86.1ab	6.94ab	4.52b
Hydro priming هیدروپرایمینگ	160.1bc	91.7a	7.3ab	4.43b
CaCl ₂ 20ppm کلرید کلسیم	150.4dc	86.6ab	7.66a	5.30a
Nano 20ppm نانو ۲۰	184.9a	82.7b	7.00ab	4.16b
Nano 40ppm نانو ۴۰	177.8ab	91.6a	7.06ab	4.22b
Nano 80ppm نانو ۸۰	177.8ab	82.2b	6.05b	3.48c
پتانسیل اسمزی (بار) Osmotic potential (bar)				
0	151.6b	95.95a	7.34a	6.49a
-1.48	133.9c	92.61a	8.13a	4.71b
-4.98	210.9a	72.85b	5.36b	1.79c
رقم شیروودی Shiroodi cultivar				
پیش‌ تیمار Priming				
Control شاهد	180.4a	88.3a	6.11b	-
Ascorbat 20ppm آسکوربات	150.5bc	87.7 a	6.84ab	-
Hydro priming هیدروپرایمینگ	116.9d	87.7 a	7.32a	-
CaCl ₂ 20ppm کلرید کلسیم	128.6dc	86.6 a	7.57a	-
Nano 20ppm نانو ۲۰	171.9ab	84.4 a	6.18b	-
Nano 40ppm نانو ۴۰	176.4a	84.4 a	5.10c	-
Nano 80ppm نانو ۸۰	160.3ab	84.4 a	7.26a	-
پتانسیل اسمزی (بار) Osmotic potential (bar)				
0	138.6b	90.4a	6.79 a	-
-1.48	127.7b	91.1a	6.55 a	-
-4.98	198.5a	77.1b	6.54 a	-

حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

Numbers followed by the same letter are not significantly different based on Duncan Test ($P < 0.05$).

مطالعات یاگمر و کایدن (۲۰۰۸) نشان دادند که پیش‌ تیمار بذرها موجب بهبود جوانه‌زنی و استقرار بهتر گیاهچه تحت شرایط تنش خشکی است و در نهایت می‌تواند منجر به افزایش وزن توده شود. در گیاهان بدون تیمار خشکی تغییرات طول بخش هوایی در هر دو رقم هاشمی و شیروودی مشابه یکدیگر است و پیش‌ تیمار کلرید کلسیم سبب افزایش طول ساقه‌چه نسبت به

مدت سبب کاهش تعرق و زیست‌توده گیاهان شد. تغییرات طول ریشه‌چه در طی جوانه‌زنی اولین پاسخ گیاه به تنش خشکی است. در نتیجه جذب آب تقسیم سلولی با سرعت بیشتری انجام می‌شود و به همین ترتیب درصد جوانه‌زنی و میزان رشد طولی ریشه و بخش هوایی افزایش می‌یابد.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر پیش تیمارها در تنش‌های مختلف خشکی بر طول ساقچه در رقم شیروودی.

Table 4. Comparison of mean effect of seed priming in different treatments of drought stress on the shoot of Shiroodi cultivar.

نانو ۸۰ Nano 80ppm	نانو ۴۰ Nano 40ppm	نانو ۲۰ Nano 20ppm	کلریدکلسیم CaCl ₂ 20ppm	هیدروپرایمینگ Hydro priming	آسکوربات Ascorbat 20ppm	شاهد Control	تیمار Treatment	
6.31±0.57bc	5.97±0.27bc	6.88±0.39b	8.58±0.63a	7.44±0.29b	6.32±0.49b	5.83±0.37a	0	پتانسیل اسمزی (بار)
4.17±0.36c	4.68±0.50c	4.75±0.18c	5.55±0.18b	4.62±0.12c	6.22±0.39a	4.02±0.31c	-1.48	Osmotic potential (bar)
1.45±0.02c	0.72±0.01d	0.81±0.01d	1.49±0.03c	2.18±0.02a	1.69±0.02b	1.24±0.04c	-4.98	

± نشان‌دهنده خطای استاندارد است. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.
±Values are means with standard errors (n = 3). Numbers followed by the same letter are not significantly different based on Duncan Test (P<0.05).

جوانه‌زنی و مقدار رشد کارایی لازم جهت افزایش قدرت استقرار گیاهچه‌های برنج در طی تنش خشکی را نداشته و خود می‌تواند به‌عنوان یکی از عوامل تنش‌زا در دانه‌رست‌ها باشد.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی داده‌های تحقیق حاضر نشان داد که در شرایط بدون تنش خشکی پیش تیمار بذرها سبب بهبود مؤلفه‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه به‌ویژه در برنج رقم شیروودی شده است. پیش تیمارهای آسکوربات و آب و تا حدودی کلرید کلسیم باعث کاهش زمان لازم برای رسیدن بذرها به ۵۰ و ۹۰ درصد جوانه‌زنی در کلیه سطوح خشکی نسبت به بذرهاى شاهد و پیش تیمار نانو ذرات نقره شده است. همچنین کلرید کلسیم نقش مهمی در افزایش صفات رشد در همه تیمارهای تنش خشکی نسبت به دیگر پیش تیمارها داشت. به نظر می‌رسد غلظت‌های پایین نانوذرات نقره سبب افزایش صفات رشد شده است اما مقادیر بیشتر آن با کاهش درصد جوانه‌زنی و مقدار رشد کارایی لازم جهت افزایش قدرت استقرار گیاهچه‌های برنج در طی تنش خشکی را نداشته و خود می‌تواند به‌عنوان یکی از عوامل تنش‌زا در دانه‌رست‌ها باشد.

پیش تیمارهای دیگر شده است. افزایش تنش خشکی به‌شدت سبب کاهش طول ساقچه در همه پیش تیمارها شده است. گزارش فرخ و همکاران (۲۰۱۰) حاکی از افزایش رشد گیاهچه‌های برنج حاصل از بذرهاى پرایم شده با نمک کلرید کلسیم و کلرید پتاسیم می‌باشد. کاتیرسان^۱ و همکاران (۱۹۸۴) شاهد افزایش رشد بذرهاى آفتاب‌گردان پرایم شده با نمک کلرید کلسیم بودند. در تنش خشکی با پتانسیل اسمزی ۱/۴۸- بار، پیش تیمارهای کلرید کلسیم نیز نسبت به سایر پیش تیمارها اثر افزایشی خود را نسبت به گیاهان بدون پیش تیمار حفظ کرد؛ اما تیمار نانوسید تأثیر معنی‌داری بر وزن ریشه‌چه و ساقچه‌ها نداشت و در تیمار نانوسید ۸۰ میلی‌گرم در لیتر نیز وزن ریشه‌چه و ساقچه‌ها کاهش یافت. به‌طور کلی داده‌های تحقیق حاضر نشان داد که در شرایط بدون تنش خشکی پیش تیمار بذرها سبب بهبود مؤلفه‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه به‌ویژه در برنج رقم شیروودی شده است. پیش تیمارهای آسکوربات و آب و تا حدودی کلرید کلسیم باعث کاهش زمان لازم برای رسیدن بذرها به ۵۰ و ۹۰ درصد جوانه‌زنی در کلیه سطوح خشکی نسبت به بذرهاى شاهد و پیش تیمار نانو ذرات نقره شد. همچنین کلرید کلسیم نقش مهمی در افزایش صفات رشد در همه تیمارهای تنش خشکی نسبت به دیگر پیش تیمارها داشت. به نظر می‌رسد غلظت‌های پایین نانوذرات نقره سبب افزایش صفات رشد شده است اما مقادیر بیشتر آن با کاهش درصد

¹ Kathiresan

منابع

- Abou-Zeid, H.M., and Moustafa, Y. 2014. Physiological and cytogenetic responses of wheat and barley to silver nano priming treatment. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 5: 265-278.
- Amjad, M., Ziaf, K., Iqbal, Q., Ahmad, I., Riaz, M.A., and Saqib, Z.A. 2007. Effect of seed priming on seed vigour and salt tolerance in hot pepper. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 44(3): 408-416.
- Bhattacharjee, A., and Bhattacharyya, R.N. 1989. Prolongation of seed viability of *Oryza sativa*. cultivar Ratna by dikegul ac-sodium. *Proceedings of the International Seed Test Association*, 17: 309-316.
- Dey, P.G., and Mukherjee, R.K. 1998. Invigoration of dry seeds with physiologically active chemicals in organic solvent. *Seed Science and Technology*, 16: 145-153.
- Farooq, M., Basra, S.M.A., Afzal, I., and Khaliq, A. 2006. Optimization of hydropriming techniques for rice seed invigoration. *Seed Science and Technology*, 34(2): 507-512. [[DOI:10.15258/sst.2006.34.2.25](https://doi.org/10.15258/sst.2006.34.2.25)]
- Farooq, M., Basra, S.M.A., and Ahmad, N. 2007. Improving the performance of transplanted rice by seed priming. *Plant Growth Regulation*, 51(2): 129-137. [[DOI:10.1007/s10725-006-9155-x](https://doi.org/10.1007/s10725-006-9155-x)]
- Farooq, M., Wahid, A., Ahmad, N., and Asad, S.A. 2010. Comparative efficacy of surface drying and re-drying seed priming in rice: changes in emergence, seedling growth and associated metabolic events. *Paddy and Water Environment*, 8(1): 15-22. [[DOI:10.1007/s10333-009-0170-1](https://doi.org/10.1007/s10333-009-0170-1)]
- Harris, D., Pathan, A.K., Gothkar, P., Joshi, A., Chivasa, W., and Nyamudeza, P. 2001. On-farm seed priming: using participatory methods to revive and refine a key technology. *Agricultural System*, 69(1-2): 151-164. [[DOI:10.1016/S0308-521X\(01\)00023-3](https://doi.org/10.1016/S0308-521X(01)00023-3)]
- Hussian, I., Ahmad, R., Farooq, M., Rehman, A., and Amin, M. 2014. Seed priming improves the performance of poor quality wheat seed under drought stress. *Applied Science Reports*, Okara, 7(1): 12-18.
- Kadkhodaie, A., and Bagheri, M. 2012. Seed treatment to overcome salt and drought stresses during germination in linseed (*Linum usitatissimum* L.). *Journal of Research in Agricultural Science*, 8: 141-151.
- Kathiresan, K., Kalyani, V., and Gnanarethinam, J.L. 1984. Effect of seed treatments on field emergence, early growth and some physiological processes of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Field Crops Research*, 9: 215-217. [[DOI:10.1016/0378-4290\(84\)90027-3](https://doi.org/10.1016/0378-4290(84)90027-3)]
- Klein, D.A., Striffler, W.D., and Tellner, H.L. 1975. Disposition and environmental impact of silver iodide. In *National Hail Research Expt, Operation Report No. 4*. Fort Collins: Colorado State University.
- McDonald, M.B. 2000. Seed priming. *Seed technology and its biological basis*. Sheffield Academic Press, Sheffield. P: 287-325.
- Michel, B.E., and Kaufmann, M.R. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiology*, 51(5): 914-916. [[DOI:10.1104/pp.51.5.914](https://doi.org/10.1104/pp.51.5.914)] [[PMID](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/141111/)] [[PMCID](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/141111/)]

- Rashid, A., Harris, D., Hollington, P.A., and Rafiq, M. 2004. Improving the yield of mungbean (*Vigna radiata*) in the North West Frontier province of Pakistan using on-farm seed priming. *Experimental Agriculture*, 40(2): 233-244. [[DOI:10.1017/S0014479703001546](https://doi.org/10.1017/S0014479703001546)]
- Rehman, H., Basra, S.M.A., Farooq, M., Ahmed, N., and Afzal, I. 2011. Seed priming with CaCl₂ improves the stand establishment, yield and quality attributes in direct seeded rice (*Oryza sativa*). *International Journal of Agriculture and Biology*, 13: 786-790.
- Salehi, M., Tamaskani, F., Ehsani, M., and Arefi, M. 2010. Priming effect on germination and seedling growth of canola in comparison to nanosilver treatment under salinity stress. *Journal on Plant Science Researches*, 4: 52-57. [In Persian with English Summary].
- Soltani, A., Galeshi, S., Zeinali, E., and Latifi, N. 2002. Germination, seed reserve utilization and seedling growth of chickpea as affected by salinity and seed size. *Seed Science and Technology*, 30: 51-60.
- Stampoulis, D., Sinha, S.K., and White, J.C. 2009. Assay-dependent phytotoxicity of nanoparticles to plants. *Environmental Science and Technology*, 43(24): 9473-9479. [[DOI:10.1021/es901695c](https://doi.org/10.1021/es901695c)] [[PMID](#)]
- Stasolla, C., and Yeung, E.C. 2001. Ascorbic acid metabolism during white spruce somatic embryo maturation and germination. *Physiologia Plantarum*, 111(2): 196-205. [[DOI:10.1034/j.1399-3054.2001.1110210.x](https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2001.1110210.x)]
- Yagmur, M., and Kaydan, D. 2008. Alleviation of osmotic stress of water and salt in germination and seedling growth of triticale with seed priming treatments. *African Journal of Biotechnology*, 7(13): 2156.
- Zheng, M., Tao, Y., Hussain, S., Jiang, Q., Peng, S., Huang, J., Cui, K., and Nie, L. 2016. Seed priming in dry direct-seeded rice: consequences for emergence, seedling growth and associated metabolic events under drought stress. *Plant Growth Regulation*, 78(2): 167-178. [[DOI:10.1007/s10725-015-0083-5](https://doi.org/10.1007/s10725-015-0083-5)]

Short communication

Effect of Different Primings on Germination and Growth Parameters of Rice (*Oryza sativa*) Seeds during Drought Stress, as Compared with Silver Nanoparticles

Mahnaz Aghdasi¹, Pooyan Mehrabanjoubani^{2,*}, Tahereh Nezamdoost³, Fatemeh Tamaskani¹

¹ Associate Professor and Ph.D., Department of Biology, Faculty of Science, Golestan University, Gorgan, Iran

² Assistant Professor, Department of Basic Science, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

³ Assistant Professor, Department of Biology, Sistan and Baluchestan University, Zahedan, Iran

*Corresponding author, E-mail address: Pooyan.mehraban@gmail.com

(Received: 15.08.2017 ; Accepted: 23.12.2017)

Abstract

The present study sought to compare the effect of seed priming by hydropriming, ascorbate and calcium chloride (CaCl₂) versus different concentrations of silver nanoparticles on two Iranian rice cultivars (Hashemi and Shiroodi) under drought stress. The experimental design, which was factorial, was completely randomized. The first factor was control (without priming), hydropriming, 20 mg.L⁻¹ calcium chloride, 20 mg.L⁻¹ ascorbates and 20, 40 and 80 mg.L⁻¹ of silver nanoparticles. The second factor was the drought stress, including control, -1.48 and -4.91 bars created by polyethylene glycol 6000 solutions. In plants without drought stress, the time required to reach 50% germination (T₅₀) reduced to 34 and 54 percent under ascorbate and CaCl₂ priming in the Hashemi and Shiroodi cultivars, respectively. In the drought stress condition, ascorbate and hydropriming pretreatments decreased T₅₀ and the time required to reach 90% germination (T₉₀) more than silver nanoparticles, especially in the Shiroodi cultivar. On the other hand, in comparison with other pretreatments, CaCl₂ had an important role in increasing the growth factors in all of the drought stress treatments. Although 40 mg.L⁻¹ silver nanoparticles increased the growth factors to some extent, it seems that higher levels of silver nanoparticles cause stress in seeds and therefore decrease the seed germination and growth of seedlings. By decreasing reactive oxygen species, Ascorbate improves the germination and by increasing plasma membrane efficiency, CaCl₂ enhances the seedling growth under drought stress.

Keywords: *Ascorbate, Hydro-priming, Rice cultivars of Hashemi and Shiroodi, Calcium chloride, Silver Nanoparticles*

Highlights:

- 1- Silver nanoparticles increased the effect of stress on the seedlings of rice cultivars.
- 2- Ascorbate and calcium chloride improved the germination and seedlings growth of the rice cultivars, respectively under drought stress conditions.

