

مقاله پژوهشی

ویژگی‌های جوانه‌زنی و فعالیت‌های آنزیمی ماش سبز (*Vigna radiata*) در پاسخ به متیل جاسمونات و تیمار شوری

مجید قنبری^۱، علی مختصی بیدگلی^{۲*}، کامران منصورقناعی پاشاکی^۳، سهیل کرم‌نیا^۳

چکیده مبسوط

مقدمه: حبوبات، مهم‌ترین منبع تأمین پروتئین گیاهی بوده و ماش سبز با تولید دانه‌هایی حاوی درصد بالای پروتئین، از ارزش غذایی زیادی برای انسان برخوردار است. عمده مشکل شوری در جوانه‌زنی بذر گیاهان عالی در اثر مقادیر بیش‌ازحد کلرید سدیم، ایجاد فشار اسمزی، اختلال در جذب و انتقال یون‌های غذایی و اثرات مستقیم سمیت یونی روی غشا و سیستم‌های آنزیمی می‌باشد که در کل موجب کاهش جوانه‌زنی بذرهای می‌گردند. استفاده خارجی از متیل جاسمونات می‌تواند اثرات ناشی از تنش‌های مختلف از جمله شوری و خشکی را از طریق افزایش فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی بذر تعدیل نماید. لذا هدف از این تحقیق ارزیابی اثر متیل جاسمونات و تیمار شوری بر ویژگی‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیمی ماش سبز است.

مواد و روش‌ها: این آزمایش به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه گروه زراعت دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل چهار پیش‌تیمار متیل جاسمونات، صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار و چهار تیمار شوری، صفر، ۴، ۲ و ۶ دسی‌زیمنس بر متر شوری از منبع کلراید سدیم بود. پتری‌ها در ژرمیناتور در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و در تاریکی کامل به مدت ۱۴ روز قرار داده شدند. در این آزمایش صفات سرعت و درصد جوانه‌زنی، زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی، آلفا و بتا آمیلاز، کاتالاز و پراکسیداز اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج آزمایش نشان داد که کم‌ترین شیب سرعت و درصد جوانه‌زنی نهایی، در تیمارهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار محلول متیل جاسمونات حاصل شد. از نظر زمان لازم برای ۵۰ درصد جوانه‌زنی، افزایش ۴/۷ روز به ازای افزایش هر یک دسی‌زیمنس بر متر تنش شوری و کم‌ترین زمان آن در غلظت ۷۹ میلی مولار محلول متیل جاسمونات برآورد شد. از نظر فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی، کاهش ۰/۳۱ میکرومول بر میلی‌لیتر بر دقیقه به ازای افزایش هر یک دسی‌زیمنس بر متر تنش شوری و بیشترین مقدار آلفا آمیلاز ۷۲/۶ میکرومول بر میلی‌لیتر بر دقیقه در غلظت ۷۳ میلی مولار محلول متیل جاسمونات تخمین زده شد. همچنین، کم‌ترین فعالیت آنزیم بتا آمیلاز ۰/۷۹ میکرومول بر میلی‌لیتر بر دقیقه در غلظت ۵/۵۷ دسی‌زیمنس بر متر تنش شوری و بیشترین فعالیت آنزیم بتا آمیلاز ۱/۳ میکرومول بر میلی‌لیتر بر دقیقه در غلظت ۸۷ میلی مولار محلول متیل جاسمونات برآورد شد. بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز (۲۵/۷ بر میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه) در ۱۴/۷۲ دسی‌زیمنس بر متر تنش شوری و کم‌ترین فعالیت آنزیم کاتالاز (۸/۸ تغییرات جذب بر میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه) در ۸۸ میلی‌مولار محلول متیل جاسمونات برآورد شد. بیشترین فعالیت آنزیم پرکسیداز (۲۲/۰۶ تغییرات جذب بر میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه) را در غلظت ۲۴/۳۰ دسی‌زیمنس بر متر تنش شوری و کم‌ترین فعالیت آنزیم پرکسیداز (۲/۵ تغییرات جذب بر میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه) را در غلظت ۲۶۷ میلی مولار محلول متیل جاسمونات تخمین زده شد.

نتیجه‌گیری: به‌طور کلی، کاربرد پیش‌تیمار متیل جاسمونات، از طریق بهبود فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی و افزایش فعالیت آنزیم‌های تنش، موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیزکننده در آندوسپرم بذرهای جوانه‌زده شده، که این امر سبب کاهش مدت زمان جوانه‌زنی، افزایش سرعت جوانه‌زنی و کاهش تنش اکسیداتیو در شرایط تنش شوری می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: آمیلاز، تنش، اسید جاسمونیک، حبوبات، کلرید سدیم

جنبه‌های نوآوری:

- ۱- سرعت و درصد جوانه‌زنی و تغییرات مورفولوژیک بذر ماش سبز تحت تأثیر متیل جاسمونات بررسی گردید.
- ۲- نقش آنزیم‌های جوانه‌زنی آلفا و بتا آمیلاز در تسریع تولید گیاهچه ماش سبز تحت شرایط شور تخمین زده شد.
- ۳- فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز ناشی از متیل جاسمونات در بروز مقاومت به تنش شوری برآورد شد.

<http://dorl.net/dor/20.1001.1.23831251.1399.7.1.9.6>

^۱ دکترای اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشگاه تربیت مدرس

^۲ استادیار گروه زراعت، دانشگاه تربیت مدرس

^۳ دانشجوی دکتری زراعت، دانشگاه گیلان

<http://dx.doi.org/10.29252/yujs.7.1.83>



CrossMark

*ایمانه نویسنده مسئول: mokhtassi@modares.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۵/۰۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۹/۱۵)

مقدمه

حبوبات، مهم‌ترین منبع تأمین پروتئین گیاهی بوده و ماش سبز با تولید دانه‌هایی حاوی ۲۸/۵-۱۹/۵ درصد پروتئین، از ارزش غذایی بالایی برای انسان برخوردار بوده و در اکثر جوامع امروزی از منابع عمده تأمین پروتئین به‌شمار می‌رود. علوفه ماش سبز نیز با دارا بودن ۱۰ تا ۲۰ درصد پروتئین گیاهی، به‌عنوان علوفه‌ای خوشخوراک برای تغذیه حیوانات مورد استفاده قرار می‌گیرد (قنبری^۱ و همکاران، ۲۰۱۶). ماش سبز از خانواده حبوبات، گیاهی است علفی، بومی هندوستان که در سایر نقاط جهان از جمله جنوب شرق آسیا، آفریقا، آمریکای جنوبی، استرالیا و همچنین ایران نیز رشد می‌کند. ماش سبز نیز مانند بسیاری از حبوبات، حاوی اسیدهای آمینه ضروری است که نقش مهمی را در رژیم غذایی بشر بازی می‌کند. ماش سبز دارای طیف گسترده‌ای از پروتئین‌ها بوده و از نظر فسفر و ویتامین‌های A، B₁ و B₂ و تیامین غنی می‌باشد. این گیاه همچنین در کاهش سطح کلسترول خون می‌تواند بسیار مفید باشد (رستگار^۲، ۲۰۰۵). مهم‌ترین روش تکثیر ماش، بذر است. بذر آن به رنگ‌های زرد، سیاه، قهوه‌ای و سبز، دارای ابعاد کوچک، کروی، بدون کرک، غلاف آن قهوه‌ای راه راه و دارای آلکالوئید، کومارین و فیتواسترین است (دگفا^۳، ۲۰۱۶).

قسمت اعظم کشور ما دارای آب و هوای خشک و نیمه خشک بوده و وسعت زمین‌های شور با درجه‌های شوری متفاوت در ایران قابل توجه است. با توجه به محدود بودن منابع آبی در دسترس، استفاده از آب‌های شور می‌تواند ضمن حفاظت از منابع آبی، بخشی از کمبود آب را نیز جبران نماید (کورنیف^۴ و همکاران، ۲۰۰۲). در حالت کلی، تنش شوری به شرایطی گفته می‌شود که یون‌هایی نظیر سدیم، پتاسیم، سولفات و کلر در محیط رشد بذر تجمع نموده‌اند، به‌نحوی که رشد و نمو طبیعی گیاهچه حاصل از بذر را مختل سازند (اشرف و مک نیلی^۵، ۲۰۰۴). اثرهای منفی شوری بر جوانه‌زنی،

اختلال در فرآیند جذب آب توسط بذر به‌علت پتانسیل اسمزی پایین محیط رشد (تنش اسمزی)، تجمع املاحی نظیر سدیم و کلر در بافت بذری، عدم تعادل عناصر غذایی درون بذر در شرایط جوانه‌زنی (که از دو مورد آخر به‌عنوان اثرهای ویژه یونی یاد می‌شود) یا مجموعه این عوامل ایجاد می‌شود (خان^۶ و همکاران، ۲۰۰۹). محققین با بررسی تأثیر تنش شوری و هیدروپرایمینگ بر ویژگی‌های جوانه‌زنی بذرها ماش سبز گزارش دادند که با افزایش سطوح تنش شوری از مقادیر کلیه صفات جوانه‌زنی کاسته شد و کم‌ترین مقادیر آن‌ها در شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر دیده شد (قنبری و همکاران، ۲۰۱۶). پژوهشگران با بررسی تأثیر هیدروپرایمینگ و پیری بذر بر ویژگی‌های جوانه‌زنی و بیوشیمیایی بذر لوبیا چیتی تحت تیمار شوری دریافتند که با افزایش سطوح تنش شوری میزان مالون دی‌آلدهید افزایش یافت و از میزان فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی و رشد گیاهچه کاسته شد (قنبری^۴ و همکاران، ۲۰۱۸). محققین در بررسی تأثیر پیری بذر بر جوانه‌زنی و فعالیت‌های آنزیمی لوبیا تحت شرایط تنش شوری اعلام نمودند که افزایش سطوح تنش شوری از طریق تجمع انواع گونه‌های اکسیژن فعال در سلول و آسیب رساندن به لیپیدهای غشاء، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک بر جوانه‌زنی و شاخص‌های مرتبط با آن و فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی در بذر گیاه لوبیا، تأثیر منفی گذاشته و در نهایت موجب افت شاخص‌های جوانه‌زنی می‌گردد (قنبری و همکاران، ۲۰۱۹).

اولین بار از گیاه جاسمین اسپانیایی^۷ ماده‌ای استخراج شد که متیل استر جاسمونیک اسید نام گرفت و هم‌اکنون مشخص شده است که جاسمونات‌ها به‌عنوان یک خانواده جدید از هورمون‌های گیاهی نقش مهمی در تنظیم فرآیند رشد و نمو گیاه به‌ویژه در شرایط تنش را دارا هستند (فارمر^۸ و همکاران، ۲۰۰۳). جاسمونیک اسید و متیل استر آن (متیل جاسمونات) ترکیبات مشتق شده از سیکلوپنتان اسید لینولنیک می‌باشند. جاسمونات‌ها از مسیر اکتادکانوئید ساخته‌شوند که در این مسیر اسید

¹ Ghanbari² Rastegar³ Degefa⁴ Koornneef⁵ Ashraf and McNeilly⁶ Khan⁷ *Jasminum grandiflorum*⁸ Farmer

دهنده احتمالاً می‌تواند باعث کاهش اثرات منفی شوری شود و با افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی مثل درصد و سرعت جوانه‌زنی، در بهبود رشد گیاهچه حاصل از بذر مؤثر باشد (محمدیان^۸ و همکاران، ۲۰۱۸). با توجه به این موارد، در این تحقیق تعدیل اثرات مخرب تنش شوری توسط پیش‌تیمار متیل جاسمونات با ارزیابی خصوصیات جوانه‌زنی و فعالیت‌های آنزیمی بذر ماش سبز در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر تنش شوری و پیش‌تیمار متیل جاسمونات بر ویژگی‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیمی توده‌های بذرهای ماش سبز، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گروه زراعت دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل پیش‌تیمار چهار غلظت متیل جاسمونات (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار از شرکت مرک) و چهار سطح تنش شوری (صفر، ۲، ۴ و ۶ دسی‌زیمنس بر متر از منبع کلراید سدیم) بود. به‌منظور کشت، ۲۵ عدد بذر متحدالشکل و هم‌اندازه، خریداری شده از شرکت پاکان بذر اصفهان، درون هر پتری سترون دارای کاغذ صافی واتمن نمره ۴۲ قرار گرفتند. به هر پتری، پنج میلی‌لیتر محلول متیل جاسمونات اضافه شد. در تیمار شاهد از آب مقطر سترون استفاده گردید. پس از اعمال تیمارها، ظروف توسط پارافیلیم پوشیده شد و پتری‌ها در ژرمیناتور در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و در تاریکی کامل به مدت ۱۴ روز قرار داده شدند.

شمارش جوانه‌زنی از روز چهارم آغاز و تا روز چهاردهم ادامه یافت. معیار جوانه‌زنی خروج ریشه‌چه به اندازه دو میلی‌متر بود (ایستا^۹، ۲۰۰۴). درصد جوانه‌زنی نهایی از نسبت تعداد بذرهای جوانه‌زده پس از ۱۴ روز به تعداد کل بذرهای به‌دست آمد (هانتز^{۱۰} و همکاران، ۱۹۸۴). به منظور محاسبه سرعت از رابطه ۱ استفاده گردید (صالح‌زاده^{۱۱} و همکاران، ۲۰۰۹).

لینولنیک به اسید جاسمونیک تبدیل می‌شود (کرامت و دانشمند^۱، ۲۰۱۲). در این بین، متیل جاسمونات یکی از تنظیم‌کننده‌های طبیعی رشد در گیاهان محسوب شده که می‌تواند با تأثیر بر فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان به تنش‌های محیطی پاسخ داده و مقاومت گیاهان را در برابر عوامل تنش‌زا افزایش دهد (نورسته‌نیا^۲ و همکاران، ۲۰۰۷؛ والیا^۳ و همکاران، ۲۰۰۷). گیاهان در پاسخ به تنش اکسیداتیو از آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی مانند سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و آنتی‌اکسیدانت‌های غیر آنزیمی مانند آسکوربات و گلوتاتیون استفاده می‌کنند (سبارتای^۴ و همکاران، ۲۰۰۸). شواهد بسیاری از تأثیر متیل جاسمونات بر سیستم آنتی‌اکسیدانی سلول‌های گیاهی حکایت دارد (منصور^۵ و همکاران، ۲۰۰۸). لی^۶ و همکاران (۱۹۹۶) در بررسی تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متیل جاسمونات بر مقاومت به سرما در برنج، بر نقش متیل جاسمونات در حفاظت گیاهان نسبت به تنش‌های محیطی اذعان کردند. نقش متیل جاسمونات در واکنش گیاهان نسبت به تنش‌های محیطی، کد کردن ژن‌های دخیل در سنتز پروتئین‌های بازدارنده مانند تئوین، اسموتین، هیدروکسی پرولین و پرولین می‌باشد (کریمان و مولت^۷، ۱۹۹۷). کرامت و دانشمند (۲۰۱۲) در بررسی نقش دوگانه متیل جاسمونات بر عملکردهای فیزیولوژیک در گیاه سویا (*Glycine max* L.) دریافتند که متیل جاسمونات در غلظت‌های کم با افزایش توان دفاع آنتی‌اکسیدانی و کاهش تنش اکسیداتیو موجب بهبود رشد گیاهان سویا شد درحالی‌که غلظت‌های بالای متیل جاسمونات خود موجب افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش رشد گیاه گردید. محققین با بررسی تأثیر پیش‌تیمار متیل جاسمونات بر شاخص‌های جوانه‌زنی و ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاهچه استویا تحت تنش شوری دریافتند که متیل جاسمونات به عنوان بهبود

¹ Keramat and Daneshmand

² Norastehnia

³ Walia

⁴ Sbartai

⁵ Mansour

⁶ Lee

⁷ Creelman and Mullet

⁸ Mohamadian

⁹ ISTA

¹⁰ Hunter

¹¹ Salehzadeh

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز، ۰/۲ گرم از بافت گیاهچه حاصل از بذر ماش سبز تازه منجمد شده در ۱۰ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۰/۰۵ مولار با pH=۷ در دمای صفر تا ۴ درجه سلسیوس ساییده و عصاره‌گیری گردید. سپس همگن حاصل در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴-۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول واکنش شامل عصاره آنزیمی، بافر و پراکسید هیدروژن با کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر برای آنزیم کاتالاز (ککمک و هورست^۴، ۱۹۹۱) و محلول واکنش شامل عصاره آنزیمی، بافر، گایاکول و پراکسید هیدروژن با افزایش جذب در طول موج ۲۷۰ نانومتر برای آنزیم پراکسیداز (قناتی^۵ و همکاران، ۲۰۰۲) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر به صورت تغییرات جذب بر میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه گزارش شد.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۳ تجزیه شد. قبل از تجزیه واریانس داده‌ها، تست نرمالیتی انجام گرفته و پس از اطمینان از توزیع نرمال باقیمانده‌ها، تجزیه واریانس از طریق مدل خطی عمومی (GLM) انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح پنج درصد احتمال استفاده شد. در مواقعی که اثر متقابل دو گانه معنی‌دار شد، برای تفسیر بهتر نتایج و برای جلوگیری از مقایسه میانگین‌های طولانی و پیچیده، برش‌دهی فیزیکی برای محلول‌های متیل جاسمونات و شوری انجام شد. به علاوه، مقایسات مستقل چند جمله‌ای برای آزمون اثر خطی یا درجه دو غلظت‌های محلول متیل جاسمونات و شوری بر صفات جوانه‌زنی اندازه‌گیری شده در سطح پنج درصد احتمال استفاده گردید.

نتایج و بحث

درصد و سرعت جوانه‌زنی

تجزیه واریانس نشان داد که تنش شوری، متیل جاسمونات و برهمکنش تنش شوری در متیل جاسمونات بر درصد نهایی جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی معنی‌دار بود (جدول ۱).

$$\text{رابطه ۱: } GR = \sum_{i=1}^n \frac{Si}{Di}$$

که در آن، GR^۱ سرعت جوانه‌زنی (تعداد بر روز)، Si تعداد بذرهای جوانه‌زده در هر شمارش، Di تعداد روز تا شمارش nام و n دفعات شمارش است. T50 (زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی) با استفاده از رابطه ۲ محاسبه گردید.

$$\text{رابطه ۲: } T50 = ti + [(N/2 - ni)(tj - ti)] / (nj - ni)$$

در این رابطه N تعداد نهایی بذرهای جوانه‌زده، ni و nj تعداد تجمعی بذرهای جوانه‌زده در زمان‌های ti و tj است، به طوری که ni < N/2 < nj باشد (فاروق^۲ و همکاران، ۲۰۰۴).

به منظور تعیین فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی، نمونه‌های بذری جوانه‌زده، که در نیتروژن مایع منجمد شده‌اند، در بافر سدیم فسفات ۰/۰۲ مولار، pH=۶/۹ و ۰/۰۰۶ مولار برای آلفا آمیلاز و بافر سدیم استات ۰/۰۱۶ مولار، pH=۴/۸ برای بتا آمیلاز در هاون چینی ساییده و سپس در ۱۲۰۰۰ دور در دمای ۴-۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از سانتریفیوژ، برای اطمینان از عدم وجود ذرات معلق از کاغذ صافی عبور داده و از محلول صاف شده برای سنجش آنزیم α و β -آمیلاز استفاده شد. در هر لوله آزمایش مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی ریخته و سپس به هر کدام ۰/۵ میلی‌لیتر نشاسته یک درصد افزوده شد. محیط واکنش دقیقاً به مدت سه دقیقه برای انجام واکنش بین مواد مختلف، رها شد. سپس یک میلی‌لیتر معرف DNS به هر یک افزوده گردید. برای تهیه نمونه شاهد عصاره آنزیمی حذف شد. پس از تهیه استاندارد مالتوز، لوله‌ها به مدت پنج دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفتند و پس از سرد شدن در دمای اتاق، ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن‌ها افزوده شد. پس از به هم زدن، جذب آن‌ها در ۵۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. فعالیت آنزیم به صورت تغییر در جذب بر اساس منحنی استاندارد مالتوز ارزیابی گردید و به صورت گرم بر میلی‌لیتر گزارش شد (برن‌فلد^۳، ۱۹۷۰).

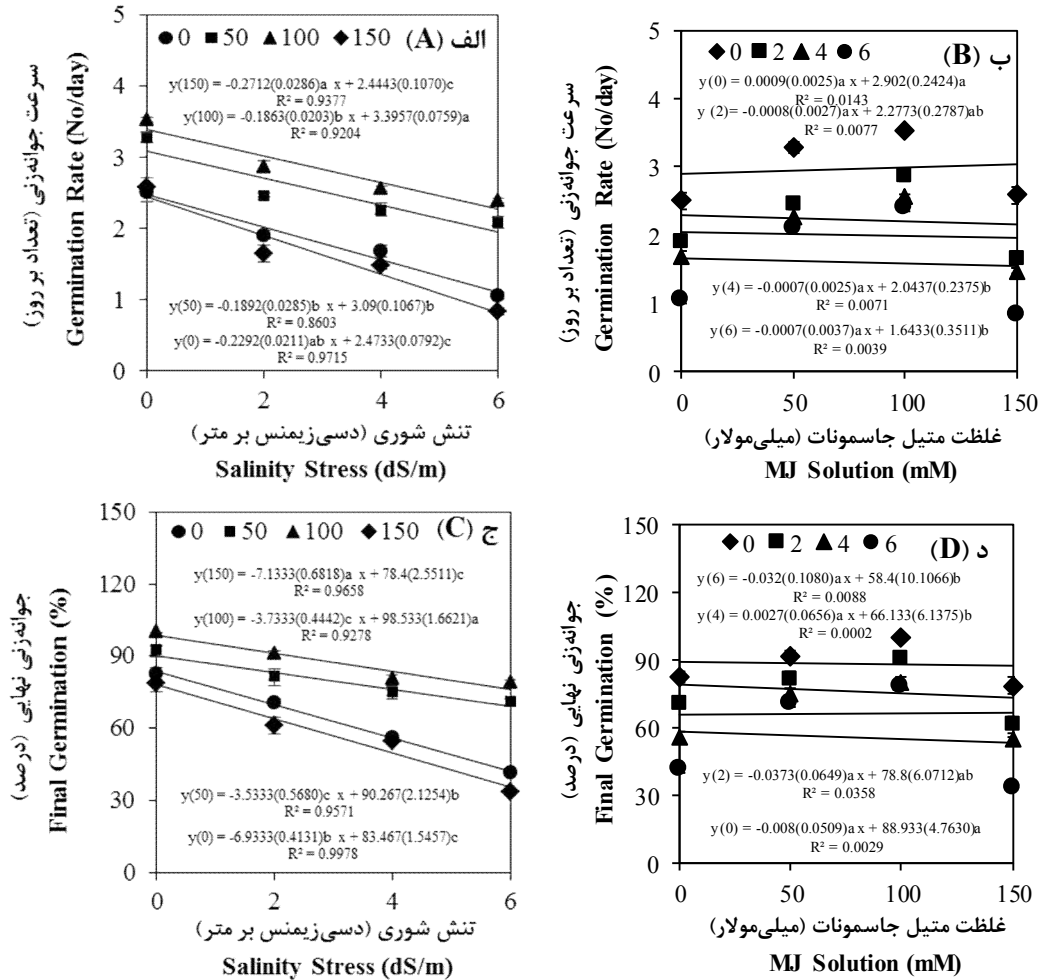
¹ Germination Rate

² Farooq

³ Bernfeld

⁴ Cakmak and Horst

⁵ Ghanati



شکل ۱. سرعت جوانه‌زنی ماش سبز، برش داده شده در سطوح مختلف متیل جاسمونات (الف) و تنش شوری (ب) و درصد جوانه‌زنی نهایی ماش سبز، برش داده شده در سطوح مختلف متیل جاسمونات (ج) و تنش شوری (د). رگرسیون‌های خطی بر اساس معنی‌داری در سطح ۵ درصد ارائه شده‌اند. خطای استاندارد شیب خط و عرض از مبدأ داخل پرانتز آمده است. برای دسته‌بندی فراسنجه‌ها Z test انجام و معنی‌داری آن‌ها با حروف نمایش داده شد. در شکل‌های (الف) و (ج)، شاهد (●)، ۵۰ میلی‌مولار (■)، ۱۰۰ میلی‌مولار (▲) و ۱۵۰ میلی‌مولار (◆) محلول متیل جاسمونات و در شکل‌های (ب) و (د)، صفر (◆)، ۲ دسی‌زیمنس بر متر (■)، ۴ دسی‌زیمنس بر متر (▲) و ۶ دسی‌زیمنس بر متر (●) تنش شوری، نمایش داده شده است.

Fig. 1. Mung bean germination rate, sliced on various levels of methyl jasmonate (MJ) (A) and salinity stress (B) and Mung bean final germination, sliced on various levels of methyl jasmonate (MJ) (C) and salinity stress (D). Linear regressions are presented at a significance level of 5%. The standard error of slope and interception are presented in parentheses. Z test was performed for separating parameters by the letters. In figures (A) and (C), control (●), 50 mM (■), 100 mM (▲) and 150 mM (◆) methyl jasmonate solution and in figures (B) and (D), 0 (◆), 2 dS/m (■), 4 dS/m (▲) and 6 dS/m (●) of salinity stress are shown.

جدول ۱. تجزیه واریانس تأثیر متیل جاسمونات و تنش شوری بر خصوصیات و فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی ماش سبز

Table 1. Analysis of variance for the effect of methyl jasmonate and salinity stress on the characteristics and activity of germination enzymes of Mung bean

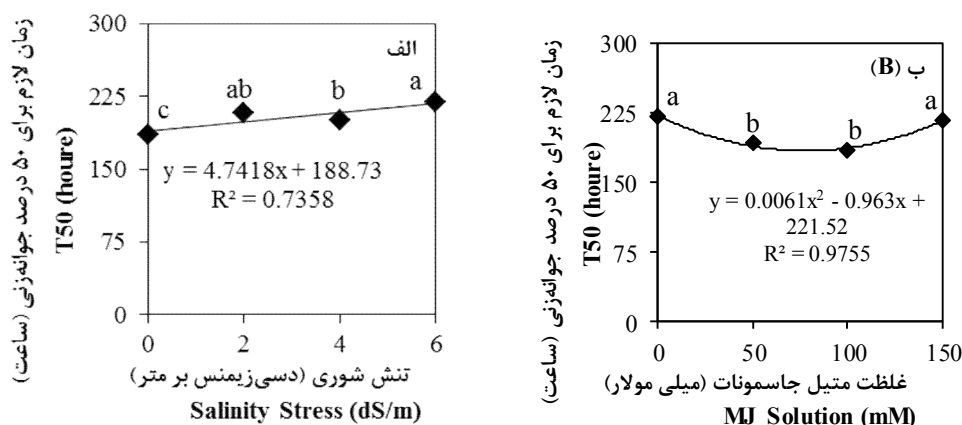
		میانگین مربعات (Mean Squares)							
منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی نهایی	سرعت جوانه‌زنی	زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی	آلفا آمیلاز	بتا آمیلاز	کاتالاز	پراکسیداز	
Source of variation	df	Final germination percent	Germination rate	T50	α -Amylase	β -Amylase	CAT	POX	
تنش شوری	3	2281.77**	4.05**	2444.47**	3.10**	247086.34**	0.06**	0.14**	
متیل جاسمونات	3	2422.22**	4.01**	3951.02**	0.36*	7430.41 ^{ns}	0.004**	0.009**	
تنش شوری × متیل جاسمونات	9	98.96**	0.06**	373.49 ^{ns}	0.22 ^{ns}	22774.08*	0.0005 ^{ns}	0.00007 ^{ns}	
خطای آزمایش	47	15.00	0.01	197.62	0.08	8039.22	0.0007	0.0006	
ضریب تغییرات (درصد)	-	5.40	6.14	6.92	18.27	27.90	4.06	5.37	

ns, * و ** به ترتیب نشان‌دهنده غیر معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱ است

ns, * and ** Represent non-significant and significant at 5 and 1% probability, respectively.

نداشت و کم‌ترین مقدار آن (۱/۶ بذر در روز) در غلظت ۶ دسی‌زیمنس بر متر دیده شد که با تیمارهای ۲ و ۴ دسی‌زیمنس بر متر تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۱-ب). مقایسه میانگین برهمکنش تنش شوری در متیل جاسمونات نشان داد، بیشترین شیب تغییرات (۷/۱) درصد جوانه‌زنی نهایی در تیمار ۱۵۰ میلی مولار متیل جاسمونات دیده شد و کم‌ترین شیب تغییرات (۳/۵) درصد جوانه‌زنی نهایی در تیمار ۵۰ میلی مولار متیل جاسمونات مشاهده شد که با تیمار ۱۰۰ میلی مولار متیل جاسمونات تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۱-ج). همچنین، بیشترین مقدار کمی درصد جوانه‌زنی نهایی بدون توجه به اثر سطوح تنش شوری (۹۸/۵ درصد) در غلظت ۱۰۰ میلی مولار متیل جاسمونات مشاهده شد و کم‌ترین مقدار آن (۷۸/۴ درصد) در غلظت ۱۵۰ میلی مولار متیل جاسمونات دیده شد که با شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۱-ج). تفاوت معنی‌داری بین شیب تغییرات جوانه‌زنی نهایی بین سطوح مختلف تنش شوری دیده نشد (شکل ۱-د). بیشترین مقدار درصد جوانه‌زنی نهایی بدون توجه به اثر سطوح متیل

مقایسه میانگین برهمکنش تنش شوری × متیل جاسمونات نشان داد، بیشترین شیب تغییرات (۰/۳) سرعت جوانه‌زنی در تیمار ۱۵۰ میلی مولار متیل جاسمونات دیده شد که با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت و کم‌ترین شیب تغییرات (۰/۲) سرعت جوانه‌زنی در تیمار ۱۰۰ میلی مولار متیل جاسمونات مشاهده شد که با تیمار ۵۰ میلی مولار متیل جاسمونات تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۱-الف). همچنین، بیشترین مقدار کمی سرعت جوانه‌زنی بدون توجه به اثر سطوح تنش شوری (۳/۳ بذر در روز) در غلظت ۱۰۰ میلی مولار متیل جاسمونات مشاهده شد و کم‌ترین مقدار آن (۲/۴ بذر در روز) در غلظت ۱۵۰ میلی مولار متیل جاسمونات دیده شد که با شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۱-الف). همچنین، تفاوت معنی‌داری بین شیب تغییرات سرعت جوانه‌زنی بین سطوح مختلف تنش شوری دیده نشد (شکل ۱-ب). بیشترین مقدار کمی سرعت جوانه‌زنی بدون توجه به اثر سطوح متیل جاسمونات (۲/۹ بذر در روز) در تیمار شاهد مشاهده شد که با غلظت ۲ دسی‌زیمنس بر متر تفاوت معنی‌داری



شکل ۲. اثر تنش شوری (الف) و متیل جاسمونات (ب) بر مدت زمان لازم برای ۵۰ درصد جوانه‌زنی ماش سبز. رگرسیون‌های خطی و درجه دوم بر اساس معنی‌داری در سطح ۵ درصد ارائه شده‌اند.

Fig. 2. The effect of salt stress (A) and methyl jasmonate (MJ) (B) on the T50 of Mung bean. Linear and quadratic regressions are presented at a significance level of 5%.

بذر برای جوانه‌زنی را مختل می‌کند (موسوی^۲ و همکاران، ۲۰۱۳).

پیش‌ تیمار متیل جاسمونات تولید پلی‌آمین آزاد در بافت بذر را تحریک کرده، که خود این پلی‌آمین آزاد به همراه متیل جاسمونات به صورت هم‌افزایی عمل کرده و درصد و سرعت جوانه‌زنی را در شرایط تنش شوری بهبود می‌بخشد (نورسته‌نیا و نوجوان اصغری^۳، ۲۰۰۶). غلظت‌های بالای متیل جاسمونات خود موجب افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش رشد گیاهچه گردیده، به طوری که افزایش توان آنتی‌اکسیدانی گیاهچه نیز موجب کاهش تنش اکسیداتیو و بهبود سرعت و درصد جوانه‌زنی بذر نگردید (کرامت و دانشمند، ۲۰۱۲).

زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی (T50)

جدول ۱ نشان می‌دهد که اثر تنش شوری و متیل جاسمونات در سطح احتمال آماری یک درصد بر مدت زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی معنی‌دار است (جدول ۱). معادله خطی اثر تنش شوری بر مدت زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی نشان داد که به ازای افزایش هر یک دسی‌زیمنس بر متر تنش شوری، افزایش مدت زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی را

جاسمونات (۸۸/۹ درصد) در تیمار شاهد مشاهده شد که با غلظت ۲ دسی‌زیمنس بر متر تفاوت معنی‌داری نداشت و کم‌ترین مقدار آن (۵۸/۴ درصد) در غلظت ۶ دسی‌زیمنس بر متر دیده شد که با تیمارهای ۲ و ۴ دسی‌زیمنس بر متر تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۱-د). سلیمی و شکاری^۱ (۲۰۱۲) در بررسی تأثیر متیل جاسمونات و تنش شوری روی برخی خصوصیات ریخت‌شناسی و عملکرد گل در بابونه آلمانی کاربرد متیل جاسمونات موجب افزایش عملکرد گل در هر دو شرایط تنش شوری و بدون تنش گردید. محققین با بررسی تأثیر تنش شوری و هیدروپرایمینگ بر ویژگی‌های جوانه‌زنی بذرهای ماش سبز گزارش دادند که با افزایش سطوح تنش شوری از مقادیر کلیه صفات جوانه‌زنی کاسته شد و کم‌ترین مقادیر آن‌ها در شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر دیده شد (قنبری و همکاران، ۲۰۱۸). کاهش سرعت و درصد جوانه‌زنی بذرهای گیاهان در معرض شوری، ممکن است به سبب تجمع نمک در بافت‌های بذر باشد که تأثیرات سمی جبران‌ناپذیری را بر جای می‌گذارد. و جذب آب توسط

² Mousavi

³ Norastehnia and Nojavan Asghari

¹ Salimi and Shekari

میکرومول بر میلی‌لیتر بر دقیقه را به ازای افزایش هر یک دسی‌زیمنس بر متر تنش شوری را پیشنهاد کرد (شکل ۳-الف). پاسخ فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز به متیل جاسمونات را می‌توان با استفاده از معادله درجه دوم بیان کرد که بیشترین فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز (۷۲/۶) میکرومول بر میلی‌لیتر بر دقیقه) را در غلظت ۷۳/۳ میلی مولار محلول متیل جاسمونات برآورد کرد (شکل ۳-ب).

معادلات خطی غلظت‌های صفر، ۵۰ و ۱۵۰ میلی مولار محلول متیل جاسمونات نشان داد که به ازای افزایش هر یک دسی‌زیمنس بر متر تنش شوری، کاهش فعالیت بتا آمیلاز را به ترتیب ۰/۰۳۳۳، ۰/۰۱۸۵ و ۰/۰۳۱۲ میکرومول بر میلی‌لیتر بر دقیقه برآورد کرد (شکل ۳-ج). همچنین، معادله درجه دوم، در غلظت ۱۰۰ میلی مولار، کم‌ترین فعالیت آنزیم بتا آمیلاز (۰/۷۹) میکرومول بر میلی‌لیتر بر دقیقه) در غلظت ۵/۵۷ دسی‌زیمنس بر متر تنش شوری تخمین زد (شکل ۳-د). معادلات درجه دوم در غلظت‌های صفر، ۲، ۴ و ۶ دسی‌زیمنس بر متر تنش شوری، بیشترین فعالیت آنزیم بتا آمیلاز را به ترتیب ۰/۱۳، ۰/۱۸، ۰/۷ و ۰/۷ میکرومول بر میلی‌لیتر بر دقیقه به ترتیب در غلظت‌های ۸۶/۶، ۶۸/۷، ۶۵ و ۷۶/۶ میلی مولار محلول متیل جاسمونات برآورد کرد (شکل ۳-د). محققین در بررسی خصوصیات جوانه‌زنی و فعالیت‌های آنزیمی لوبیا تحت شرایط تنش شوری اعلام نمودند که با افزایش سطوح تنش شوری، از میزان فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز کاسته شد (قنبری و همکاران، ۲۰۱۹).

پژوهشگران در بررسی اثرات تنش شوری بر شاخص‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های آلفا آمیلاز و پراکسیداز بذر گیاه دارویی ماریتیغال دریافتند که با افزایش میزان شوری، میزان فعالیت آلفا و آمیلاز و پراکسیداز بذور در روزهای مختلف کاهش یافت، به طوری که کم‌ترین میزان صفات اندازه‌گیری شده مربوط به تنش شدید شوری و بیشترین میزان آن مربوط به شاهد بود (معصومی زواریان^۳ و همکاران، ۲۰۱۳). پژوهش‌ها نشان داده است که کمبود یون کلسیم در شرایط تنش شوری حاصل از NaCl به‌منظور

۴/۷ ساعت برآورد کرد (شکل ۲-الف). معادله درجه دوم اثر متیل جاسمونات بر مدت زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی نشان داد که کم‌ترین مدت زمان لازم برای ۵۰ درصد جوانه‌زنی (۱۸۳/۷ ساعت) را در غلظت ۷۸/۶۸ میلی مولار محلول متیل جاسمونات تخمین زد (شکل ۲-ب). فاضلی کاخکی^۱ و همکاران (۲۰۱۵) در ارزیابی مؤلفه‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه اکوتیپ‌های کنجد (*Sesamum indicum* L.) در شرایط شوری گزارش دادند که زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی با افزایش سطوح تنش شوری افزایش یافت. در بررسی تأثیر پیش‌تیمار متیل جاسمونات بر شاخص‌های جوانه‌زنی و ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاهچه استویا (*Stevia rebaudiana*) تحت تنش شوری، بیشترین زمان لازم برای جوانه‌زنی در سطوح شوری با هدایت الکتریکی ۹ دسی زیمنس در شرایط پرایمینگ بذر با متیل جاسمونات در سطوح صفر، ۱۰ و ۱۵ میکرو مولار گزارش شده است (محمدیان و همکاران، ۲۰۱۸). پیش‌تیمار متیل جاسمونات باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیزکننده شده، به‌علت قابلیت دسترسی آسان گیاهچه به مواد غذایی در طول جوانه‌زنی، بذره‌های پرایم شده، قادرند فرآیند جوانه‌زنی را در شرایط تنش شوری، در زمان کوتاه‌تری تکمیل نمایند (پانديا^۲ و همکاران، ۲۰۰۴). اگرچه گزارش شده است که غلظت‌های بالای متیل جاسمونات با القاء NADP اکسیداز به‌عنوان مسئول تولید سریع آب اکسیژنه در زمان تنش، موجبات تنش اکسیداتیو را در گیاهچه فراهم کند (کرامت و دانشمند، ۲۰۱۲).

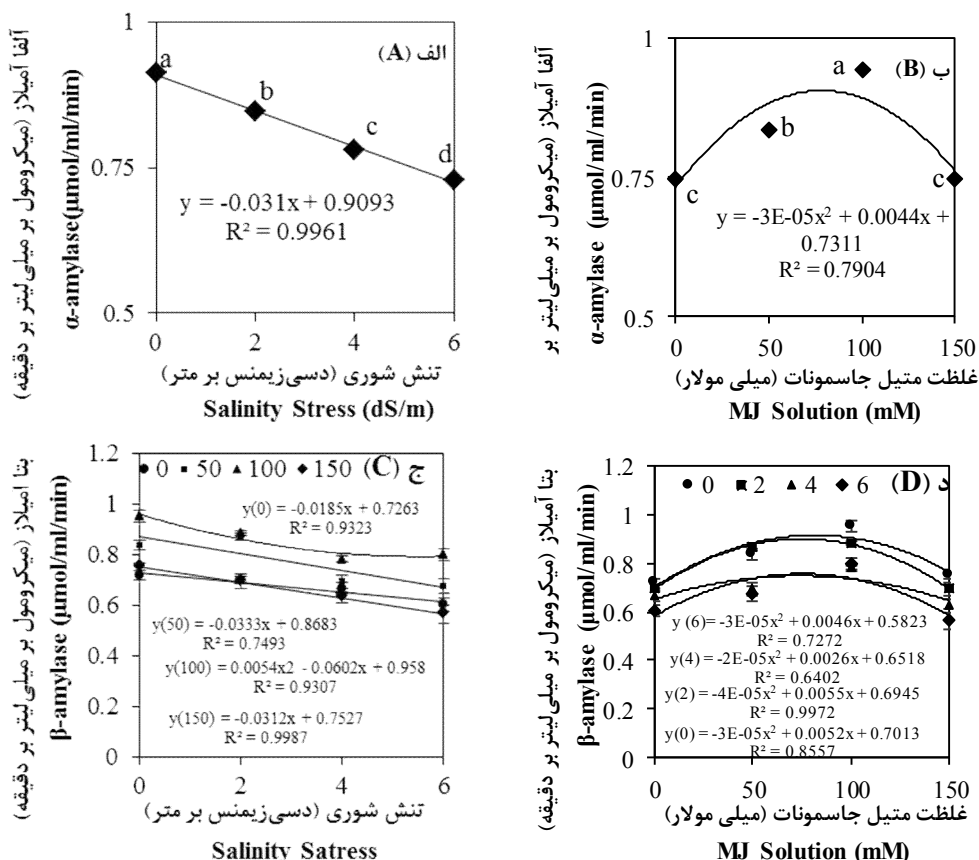
فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز

تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از آن است که اثر تنش شوری بر فعالیت آلفا و بتا آمیلاز در سطح احتمال یک درصد و اثر متیل جاسمونات بر آلفا آمیلاز و برهمکنش تنش شوری x متیل جاسمونات بر بتا آمیلاز در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). پاسخ فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز به تنش شوری را می‌توان با استفاده از معادله خطی بیان کرد که کاهش ۰/۰۳۱

^۱ Fazeli-Kakhki

^۲ Pandya

^۳ Masumi Zavvarian



شکل ۳. اثر تنش شوری (الف) و متیل جاسمونات (ب) بر فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز. فعالیت آنزیم بتا آمیلاز، برش داده شده در سطوح مختلف تنش شوری (ج) و متیل جاسمونات (د) بذور ماش سبز. رگرسیون‌های خطی و درجه دوم بر اساس معنی‌داری در سطح ۵ درصد ارائه شده‌اند. خط‌های عمودی نشان‌دهنده خطای معیار می‌باشند. در شکل ج، شاهد (●)، ۵۰ میلی‌مولار (■)، ۱۰۰ میلی‌مولار (▲) و ۱۵۰ میلی‌مولار (◆) محلول متیل جاسمونات و در شکل د، صفر (●)، ۲ دسی‌زیمنس بر متر (■)، ۴ دسی‌زیمنس بر متر (▲) و ۶ دسی‌زیمنس بر متر (◆) تنش شوری، نمایش داده شده است.

Fig. 3. The effect of salt stress (A) and methyl jasmonate (MJ) (B) on the activity of α -amylase enzymes. β -amylase enzyme activity, sliced at different levels of salinity stress (c) and methyl jasmonate (MJ) (d) in Mung bean. Linear and quadratic regressions are presented at a significance level of 5%. In figure (C), control (●), 50 mM (■), 100 mM (▲) and 150 mM (◆) methyl jasmonate solution and in figure (D), 0 (●), 2 dS/m (■), 4 dS/m (▲) and 6 dS/m (◆) of salinity stress are shown.

افزایش فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی می‌گردد (محمدیان و همکاران، ۲۰۱۸). جاسمونات‌ها فرآیندهای فیزیولوژیکی شامل جوانه‌زنی، به عنوان یک تنظیم‌کننده رشد گیاهی عمل می‌کند. اثر تحریک‌کنندگی یا بازدارندگی متیل جاسمونات بر جوانه‌زنی به غلظت متیل جاسمونات به کار برده شده بستگی دارد، به طوری که در غلظت‌های بالا اثر بازدارندگی و در غلظت‌های پایین اثر

فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز منجر به کاهش هیدرولیز نشاسته به گلوکز و کاهش میزان جوانه‌زنی می‌گردد (قنبری و همکاران، ۲۰۱۹). پژوهشگران در بررسی تأثیر پیش‌تیمار متیل جاسمونات بر شاخص‌های جوانه‌زنی و ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاهچه استویا (*Stevia rebaudiana*) تحت تنش شوری دریافتند که پرایمینگ بذر با متیل جاسمونات موجب افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی از طریق تحریک این فرآیند با

کوماری^۳ و همکاران (۲۰۰۶) در بررسی تغییرات القاء شده متیل جاسمونات الگوی پروتئین، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و ایزوآنزیم پراکسیداز در گیاهچه بادام زمینی گزارش کردند که متیل جاسمونات در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۵۰ میکرومولار باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز گردیده است. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز به‌خاطر نقش حفاظتی آن‌ها به‌عنوان آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش‌های محیطی بوده است.

در این بین، آنزیم کاتالاز در مقایسه با آنزیم پراکسیداز از حساسیت بیشتری نسبت به تنش‌های محیطی برخوردار بوده و در نتیجه زودتر از پراکسیداز فعال می‌گردد (باکالوا^۴ و همکاران، ۲۰۰۴).

آنچه مسلم است متیل جاسمونات می‌تواند تولید گونه‌های فعال اکسیژن را در گیاهان القاء نماید. پیش‌تیمار متیل جاسمونات از طریق افزایش پروتئین‌های محلول گیاهی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله کاتالاز و پراکسیداز موجب کاهش تنش اکسیداتیو و افزایش مقاومت گیاهچه به تنش شوری می‌گردد (شان و لیانگ^۵، ۲۰۱۰).

این در حالی است که در غلظت‌های بالای محلول متیل جاسمونات سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان آنزیمی به‌دلیل افزایش پراکسیداسیون لیپیدها، افزایش تنش اکسیداتیو و کاهش کلروفیل غیر کارآمده به‌نظر می‌رسد (کرامت و دانشمند، ۲۰۱۲).

تحریک‌کنندگی دارد (انتشاری و جعفری^۱، ۲۰۱۳). در آزمایش حاضر نیز، غلظت‌های بالای متیل جاسمونات موجب تغییر نسبت‌های اسید چرب غشاء شده و در نتیجه سوبسترا برای رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون لیپید افزایش یافته است که با نتایج محققین مطابقت دارد (کرلمن و مولت، ۱۹۹۷).

فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز

جدول ۱ نشان داد که اثر تنش شوری و متیل جاسمونات در سطح احتمال آماری یک درصد بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز معنی‌دار است (جدول ۱). معادله درجه دوم اثر تنش شوری بر فعالیت آنزیم کاتالاز، بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز (۲۵/۷) تغییرات جذب بر میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه) را در ۱۴/۷۲ دسی‌زیمنس بر متر تنش شوری برآورد کرد (شکل ۴-الف). همچنین، معادله درجه دوم اثر متیل جاسمونات بر فعالیت آنزیم کاتالاز، کم‌ترین فعالیت آنزیم کاتالاز (۸/۹) تغییرات جذب بر میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه) را در ۸۸/۵ میلی‌مولار محلول متیل جاسمونات تخمین زد (شکل ۴-ب). پاسخ فعالیت آنزیم پراکسیداز به تنش شوری را می‌توان با استفاده از معادله درجه دوم بیان کرد که بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز (۲۲/۰۶) تغییرات جذب بر میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه) را در غلظت ۲۴/۳۰ دسی‌زیمنس بر متر تنش شوری برآورد کرد (شکل ۴-ج). همچنین، پاسخ فعالیت آنزیم پراکسیداز به محلول متیل جاسمونات را می‌توان با استفاده از معادله درجه دوم بیان کرد که کم‌ترین فعالیت آنزیم پراکسیداز (۲/۵) تغییرات جذب بر میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه) را در غلظت ۲۶۶/۶ میلی‌مولار محلول متیل جاسمونات تخمین زد (شکل ۴-د).

جوکار تنگ کرمی^۲ و همکاران (۲۰۱۶) در بررسی تأثیر تنش شوری بر فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهچه‌های حاصل از بذر پیش‌تیمار شده ماریتیغال، گزارش دادند که در شرایط تنش شوری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز افزایش یافت.

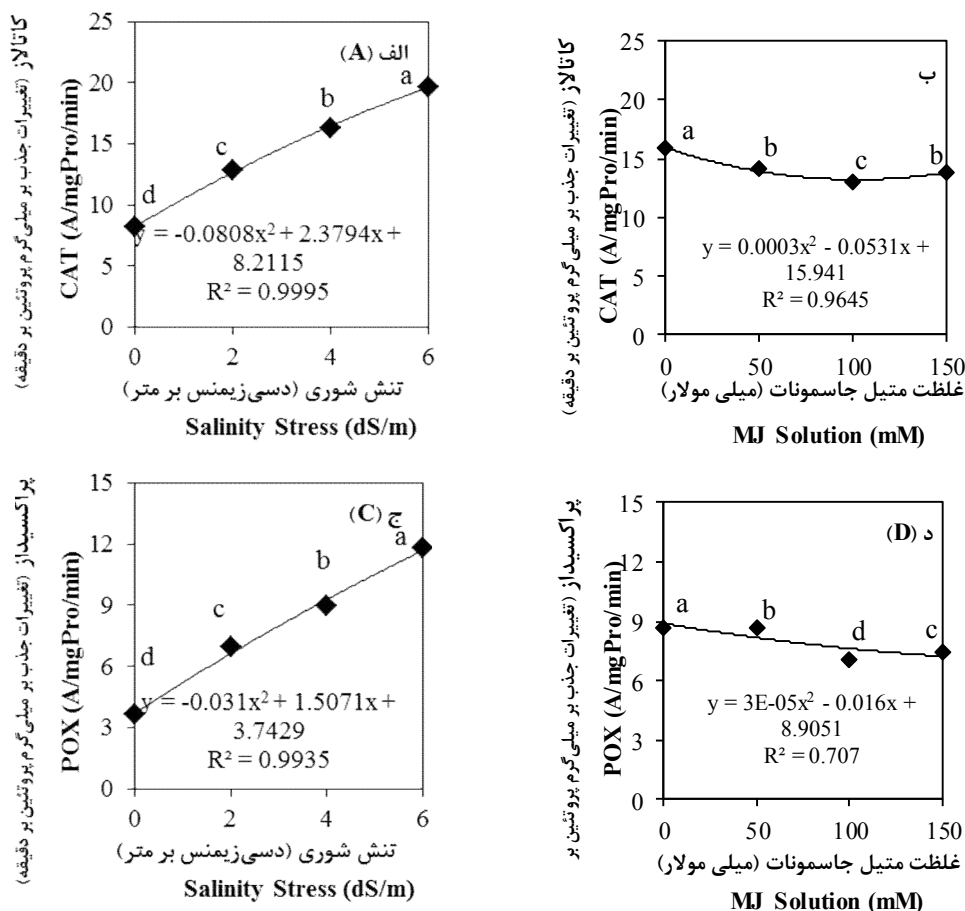
³ Kumari

⁴ Bakalova

⁵ Shan and Liang

¹ Enteshari and Jafari

² Jokar Tang Karami



شکل ۴. اثر تنش شوری (الف) و متیل جاسمونات (ب) بر فعالیت آنزیم کاتالاز. همچنین، اثر تنش شوری (ج) و متیل جاسمونات (د) بر فعالیت آنزیم پراکسیداز. رگرسیون‌های خطی و درجه دوم بر اساس معنی‌داری در سطح ۵ درصد ارائه شده‌اند.

Fig. 4. The effect of salt stress (A) and methyl jasmonate (MJ) (B) on the catalase. Also, the effect of salt stress (C) and methyl jasmonate (MJ) (D) on the peroxidase. Linear and quadratic regressions are presented at a significance level of 5%.

نتیجه‌گیری

کم‌ترین زمان آن در غلظت ۷۸/۶ میلی مولار محلول متیل جاسمونات برآورد شد. کم‌ترین فعالیت آنزیم کاتالاز در ۸۸/۵ میلی‌مولار محلول متیل جاسمونات و کم‌ترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در غلظت ۲۶۶/۶ میلی مولار محلول متیل جاسمونات تخمین زده شد. به‌طور کلی، دامنه بهینه استفاده از غلظت پیش‌تیمار متیل جاسمونات ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار بوده و همچنین کاربرد آن برای بهبود جوانه‌زنی بذور ماش سبز در شرایط تنش شوری نیز توصیه می‌گردد.

دستاوردهای آزمایش اخیر مؤید این مطلب است که بذره‌های ماش سبز به غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار محلول متیل جاسمونات واکنش مثبت نشان داده و این غلظت‌ها، موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی و آنزیم‌های مقاومت به تنش شده است. با نگاهی همه جانبه‌نگر به نتایج می‌توان دریافت که، کم‌ترین شیب سرعت و درصد جوانه‌زنی، در تیمارهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار محلول متیل جاسمونات حاصل شده و از نظر زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی، افزایش ۴/۷ روز به ازای افزایش هر یک دسی‌زیمنس بر متر تنش شوری و

منابع

- Ashraf, M. and McNeilly, T. 2004. Salinity tolerance in Brassica oilseeds. *Critical Review of Plant Science*, 23(2): 157-174. <https://doi.org/10.1080/07352680490433286>
- Bakalova, S., Nikolova, A. and Wedera, D. 2004. Isoenzyme profiles of peroxidase catalase and superoxide dismutase as affected by dehydration stress and ABA during germination of wheat seeds. *Journal of Plant Physiology*, 30(1-2): 64-77.
- Bernfeld, P. 1970. Amylase α and β , in methods in Enzymology, I. In: Colowick, S. and Kaplan, N. (eds.). Academic Press, NY, 149p.
- Cakmak, I. and Horst, W. 1991. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glycine max*). *Plant Physiology*, 83(3): 463-468. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1991.830320.x> ; <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1991.tb00121.x>
- Creelman, R. and Mullet, G.E. 1997. Biosynthesis and action of Jasmonate in plant. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 48: 355-381. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.48.1.355>
- Degefa, I. 2016. General characteristics and genetic improvement status of Mung bean (*Vigna radiata* L.) in Ethiopia: Review article. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*, 5(2): 232-238.
- Enteshari, S. and Jafari, T. 2013. The effects of methyl jasmonate and salinity on germination and seedling growth in *Ocimum basilicum* L. stress. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 3(3): 749-756. [In Persian with English Summary].
- Farmer, E.E., Alm eras, E. and Krishnamurthy, V. 2003. Jasmonates and related oxylipins in plant responses to pathogenesis and herbivory. *Current Opinion in Plant Biology*, 6: 372-378. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(03\)00045-1](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(03)00045-1)
- Farooq, M., Basra, S.M.A., Hafeez, K. and Warriach, E.A. 2004. Influence of high and low temperature treatments on the seed germination and seedling vigor of coarse and fine rice. *International Rice Research Notes*, 29: 69-71.
- Fazeli-Kakhki, S.F., Nezami, A., Parsa, M. and Kafi, M. 2015. Evaluation of germination indices and seedling growth in sesame ecotypes (*Sesamum indicum* L.) under salinity conditions. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 7(2): 217-232. [In Persian with English Summary].
- Ghanati, F., Morita, A. and Yokota, H. 2002. Induction of suberin and increase of lignin content by excess Boron in Tobacco cell. *Soil Science and Plant Nutrition*, 48(3): 357-364. <https://doi.org/10.1080/00380768.2002.10409212>
- Ghanbari, M. and Karamnia, S. 2016. Evaluation of the seed aging effect on some characteristics of bean germination (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces of Guilan province under salinity stress conditions. The 6th Iranian Pulse Crops Symposium, 4 May, Khoram-abad. [In Persian with English Summary].
- Ghanbari, M., Mansour Ghanaei Pashaki, K., Safaei Abdolmanaf, S. and Aziz Ali-abadi, K. 2016. Effect of salt stress and hydropriming on germination characteristics of Mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). *Iranian Journal of Pulses Research*, 7(1): 65-80. [In Persian with English Summary].

- Ghanbari, M., Modares-Sanavy, S.A.M., Mokhtassi-Bidgoli, A. and Talebi-Siah Saran, P. 2018. Effect of hydropriming and seed aging on seed germination and biochemical characteristics of pinto bean (*Phaseolus vulgaris*) seed under salt stress. Iranian Journal of Seed Research, 4(2): 37-55. [In Persian with English Summary]. <https://doi.org/10.29252/yujrs.4.2.37>
- Ghanbari, M., Mokhtassi-Bidgoli, A., Talebi-Siah Saran, P. and Pirani, H. 2019. Effect of deterioration on germination and enzymes activity in dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.), under salinity stress condition. Environmental Stresses in Crop Sciences, 12(2): 585-594. [In Persian with English Summary].
- Hunter, E.A., Glasbey, C.A. and Naylor, R.E.L. 1984. The analysis of data from germination tests. Journal of Agricultural Science, Cambridge, 102: 207-213. <https://doi.org/10.1017/S0021859600041642>
- International Seed Testing Association (ISTA). 2004. International Rules for Seed Testing. Zurich. Switzerland.
- Jokar-Tangkarami, M., Ghanbari, A. and Moradi, F. 2016. The evaluation of salt stress effect on antioxidant enzymes activity in seedling induced of Milk thistle primed seeds. Iranian Journal of Seed Science and Research, 3(3): 11-21. [In Persian with English Summary].
- Keramat, B. and Daneshmand, F. 2012. Dual role of methyl jasmonate in physiological responses of soybean (*Glycine max* L.) plant. Journal of Plant Process and Function, 1(1): 25-37.
- Khan, M.A., Shirazi, M.U., Khan, M.A., Mujtaba, S.M., Islam, E., Mumtaz, S., Shereen, A., Ansari, R.U. and Ashraf, M.Y. 2009. Role of proline, K/Na ratio and chlorophyll content in salt tolerance of wheat. Pakistan Journal of Botany, 41(2): 633-638.
- Koornneef, M., Bentsink, L. and Hilhorst, H. 2002. Seed dormancy and germination. Current Opinion in Plant Biology, 5(1): 33-36. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(01\)00219-9](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(01)00219-9)
- Kumari, G.J., Reddy, A.M., Naik, S.T., Kumar, S.G., Prasanthi, J., Sriranganayakulu, G., Reddy, P.C. and Sudhakar, C. 2006. Jasmonic acid induced changes in protein pattern, antioxidative enzyme activities and peroxidase isozymes in peanut seedlings. Biologia Plantarum, 50(2): 219-226. <https://doi.org/10.1007/s10535-006-0010-8>
- Lee, T.M., Lur, H.S., Lin, V.H. and Chu, C. 1996. Physiological and biochemical changes related to methyl jasmonate induced chilling tolerance of rice *Oryza sativa* L. Plant Cell & Environment, 19(1): 65-74. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1996.tb00227.x>
- Mansour, N., Ziad, M. and Harb, J. 2008. Alleviation of salinity stress imposed on broad bean (*Vicia faba*) plants irrigated with reclaimed wastewater mixed with brackish water through exogenous application of Jasmonic acid. In: Baz, I. Otterpohl, R. Wendland C. (eds.). Efficient Management of Waste Water Chap, 91-102. https://doi.org/10.1007/978-3-540-74492-4_8
- Masumi-Zavvarian, A., Yousefi Rad, M. and Moghaddasi, M.S. 2013. Effects of salinity stress on germination indices and the activity of alpha-amylase and peroxidase Milk Thistle seed (*Silybum marianum* L.). (Abstract). In: Abstract Book of The second National Congress organic and conventional agriculture Symposium, May 14-15, 2013. Mohaghegh Ardebili University. P. 274. [In Persian with English Summary].
- Mohamadian, E., Kianmehr, H., Ataei Somagh, H., Azad Nafas Mahjor, N., Safari, F. and Safarzadeh, A. 2018. Effect of methyl jasmonate pre-treatment on germination indices and biochemical traits of Stevia seedlings (*Stevia rebaudiana*) under salt stress. Iranian Journal of

- Seed Research, 5(1): 101-117. [In Persian with English Summary].
<https://doi.org/10.29252/yujis.5.1.101>
- Mousavi, S.A.R., Chauvin, A., Pascaud, F., Kellenberger, S. and Farmer, E.E. 2013. Glutamate receptor-like genes mediate leaf-to-leaf wound signaling. *Nature*, 500: 422-426.
<https://doi.org/10.1038/nature12478>
- Norastehnia, A. and Nojavan-Asghari, M. 2006. Effect of methyl jasmonate on the enzymatic antioxidant defense system in Maize seedling subjected to paraquat. *Asian Journal of Plant Sciences*, 5(1): 17-23. <https://doi.org/10.3923/ajps.2006.17.23>
- Norastehnia, A., Sajedi, R.H. and Nojavan-Asghari, M. 2007. Inhibitory effects of methyl jasmonate on seed germination in maize (*Zea Mays*): effect on α -amylase activity and ethylene production. *General and Applied Plant Physiology*, 33(1-2): 13-23.
- Pandya, D.H., Mer, R.K., Prajith, P.K. and Pandya, A.N. 2004. Effect of salt stress and manganese supply on growth of barely seedling. *Journal of Plant Nutrition*, 27(8): 1361-1379.
<https://doi.org/10.1081/PLN-200025835>
- Rastgar, M.A. 2005. Forage Crops Cultivation. Brahmnd Press. 520p. [In Persian].
- Salehzade, H., Izadkhan Shishvan, M. and Chiyasi, M. 2009. Effect of seed priming on germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Biological Sciences*, 4(5): 629-631.
- Salimi, F. and Shekari, F. 2012. The effects of methyl jasmonate and salinity on some morphological characters and flower yield of German chamomile (*Matricaria chamomilia* L.). *Iranian Journal of Plant Biology*, 4(11): 27-38. [In Persian with English Summary].
- Sbartai, H., Rouabhi, R., Sbartai, I., Berrebbah, H. and Djebar, R.M. 2008. Induction of anti-oxidative enzymes by cadmium stress in tomato (*Lycopersicon esculentum*). *African Journal of Plant Science*, 2(8): 072-076.
- Shan, C. and Liang, Z. 2010. Jasmonic acid regulates ascorbate and glutathione metabolism in *Agropyron cristatum* leaves under water stress. *Plant Science*, 178(2): 130-139.
<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2009.11.002>
- Walia, H., Wilson, C., Condamine, P., Liu, X., Ismoil, A.M. and Close, T.J. 2007. Large-scale expression profiling and physiological characterization of jasmonic acid-mediated adaptation of barley to salinity stress. *Plant, Cell & Environment*, 30: 410-421. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2006.01628.x>

Research Article

Germination Characteristics and Enzyme Activity of Mung Bean (*Vigna radiata*) in Response to Methyl Jasmonate and Salinity Treatments

Majid Ghanbari¹, Ali Mokhtassi-Bidgoli²*, Kamran Mansour Ghanaei-Pashaki³, Soheil Karamniya³

Extended abstract

Introduction: Legumes are the most important source of plant protein and Mung bean has a high nutritional value for humans, as it produces seeds containing high protein percentage. The major problem of salinity in seed germination of higher plants is due to excessive amounts of sodium chloride, osmotic pressure, disruption of nutrient uptake and transport, and direct effects of ionic toxicity on the membrane and enzymatic systems that in turn reduce germination. External use of methyl jasmonate can modulate the effects of various stresses, such as salinity and drought, by increasing the antioxidant activity of the seed. Therefore, the purpose of this research was to evaluate the effect of methyl jasmonate and salinity stress on germination and enzymatic properties of Mung bean.

Material and Method: This study was conducted as factorial based on a completely randomized design with three replications during 2015-16 at the laboratory of Department of Agronomy, Tarbiat Modares University. The experimental treatments included four methyl jasmonate solution (0, 50, 100 and 150 mM) and four salinity stress levels (0, 2, 4 and 6 dS/m salinity from NaCl). Petri dishes were placed in a germinator at 25 ° C and in full darkness for 14 days. In this experiment, germination rate and percentage, time to reach 50% germination, alpha and beta amylase, catalase and peroxidase were measured.

Results: The results of the experiment showed that the lowest rate of slope and final germination percentage were obtained in 50 and 100 mM solutions of methyl jasmonate. In terms of T50, an increase of 4.7 days was observed per one dS/m increase in salinity stress and the lowest T50 was estimated at a methyl jasmonate solution concentration of 78.68 mM. In terms of the activity of germination enzymes, reduction of 0.031 $\mu\text{mol/ml/min}$ per 1 dS.m increase in salinity stress and the highest amount of α -amylase were estimated 72.6 $\mu\text{mol/ml/min}$ at a methyl jasmonate solution concentration of 73.33 mM. Also, the lowest activity of β -amylase enzyme was 0.79 $\mu\text{mol/ml/min}$ at a concentration of 5.6 dS/m salinity stress and the highest activity of β -amylase enzyme was estimated to be 1.7 $\mu\text{mol/ml/min}$ at a methyl jasmonate solution concentration of 86.67 mM. The highest activity of catalase (25.7 $\Delta\text{A/mg protein/min}$) was observed at 14.72 dS/m salinity stress and the lowest activity of catalase enzyme (8.9 $\Delta\text{A/mg protein/min}$) was estimated at 5.88 mM methyl jasmonate solution. The highest activity of peroxidase enzyme (22.06 $\Delta\text{A/mg protein/min}$) was at 24.3 dS/m salinity stress and the lowest activity of the enzyme peroxidase (2.5 $\Delta\text{A/mg protein/min}$) was determined at a methyl jasmonate solution concentration of 266.66 mM.

Conclusions: In general, pre-treatment of methyl jasmonate can reduce the germination time, increase the rate of germination and reduce the oxidative stress in salt stress conditions by improving the activity of germination enzymes, increasing the activity of enzymes, increasing the activity of hydrolyzing enzymes and increasing the easy availability of seedlings to nutrients during germination.

Keywords: *Amylase, Pulses, Stress, Jasmonic Acid, Sodium chloride*

Highlights:

- 1- Germination rate and percentage and morpho-physiological changes of Mung bean seed as affected by methyl jasmonate were investigated.
- 2- The role of alpha and beta amylase germination enzymes in accelerating the production of Mungbean seedlings under saline conditions were estimated.
- 3- Methyl jasmonate- induced catalase and peroxidase enzymes activity in resistance to salinity stress were estimated.

¹ Ph.D. Crop Physiology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

² Assistant Professor of Agronomy Department, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

³ Ph.D. Candidate of Agronomy, Guilan University, Guilan, Iran

<http://dorl.net/dor/20.1001.1.23831251.1399.7.1.9.6>

<http://dx.doi.org/10.29252/yujs.7.1.83>



CrossMark

* Corresponding author, E-mail:
mokhtassi@modares.ac.ir