



پیش تیمار بذر با متانول، اتانول، بُر و منگنز و اثر آنها بر برخی از صفات مورفوفیزیولوژیک کلزا (*Brassica napus* L.) تحت تنش کمبود آب

ابراهیم خلیلوند بهروزیار^{*۱}

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۳۰

تاریخ بازنگری: ۱۳۹۶/۶/۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۴/۱۲

چکیده

اثرات پیش تیمار بذر با متانول، اتانول و عناصر ریز مغذی بُر و منگنز بر تعدادی از صفات مورفوفیزیولوژیک کلزا تحت تنش کمبود آب طی دو آزمایش مجزا در سال ۱۳۹۱ در ایستگاه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز به صورت آزمایشگاهی در قالب طرح کاملاً تصادفی و در شرایط گلخانه‌ای در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار بررسی گردید. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از ترکیب پیش تیمار بذر در ۵ سطح شامل: بدون پیش تیمار (شاهد)، اتانول با غلظت ۲ درصد حجمی، متانول با غلظت ۲ درصد حجمی، سولفات منگنز و اسید بوریک با غلظت ۵ در هزار و تنش کمبود آب در چهار سطح شامل: ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد رطوبت قابل دسترس. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر پیش تیمار بر صفات متوسط زمان جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. همچنین اثر اصلی پیش تیمار بذر با ترکیبات متفاوت و نیز سطوح مختلف تنش کمبود آب بر صفات محتوای رطوبت نسبی برگ و تعداد خورجین در بوته و اثر متقابل پیش تیمار ترکیبات متفاوت در سطوح مختلف تنش کمبود آب بر صفات عملکرد دانه، مقاومت روزنه‌ای و وزن خشک بوته در سطح احتمال ۱ درصد نیز معنی‌دار شدند. بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها، متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی در اثر پیش تیمار با اتانول به ترتیب ۶۵ و ۷۲ درصد افزایش نشان دادند. همچنین، صفات مقدار نسبی آب برگ و تعداد خورجین در بوته در اثر پیش تیمار بذر با اتانول به ترتیب ۸ و ۹٪ افزایش یافتند. پیش تیمار بذر با اتانول در تیمار ۱۰۰ درصد رطوبت قابل دسترس نسبت به پیش تیمار بذر با سولفات منگنز در تیمار ۲۵٪ رطوبت قابل دسترس موجب افزایش ۸۵ درصدی عملکرد دانه گردید.

واژگان کلیدی: پیش تیمار، تنش کمبود آب، عناصر ریز مغذی، کلزا.

۱- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

مقدمه

امروزه یکی از روش‌های بهبود تحمل به تنش‌های محیطی و یکی از راه‌های افزایش مؤلفه‌های جوانه‌زنی و سبز شدن بذر استفاده از روش پیش تیمار است (Zhang *et al.*, 2012). پیش تیمار بذر تکنیکی است که به واسطه‌ی آن بذر پیش از قرار گرفتن در بستر خود و مواجهه با شرایط اکولوژیکی محیط، به لحاظ ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آمادگی جوانه‌زنی را به دست می‌آورند. در پیش تیمار اجازه داده می‌شود که بذر مقداری آب جذب کند به طوری که مراحل اولیه جوانه‌زنی انجام شده اما ریشه‌چه خارج نگردد (Schwember and Bradford *et al.*, 2010). تکنیک‌های رایج پیش تیمار بذر شامل خیس کردن بذرهای در محلول‌های اسمزی، محلول‌های نمک، آب، تیمار با استفاده از یک ماتریک جامد، دماهای بالا یا پایین و تنظیم کننده‌های رشد گیاهی می‌باشد. همچنین، پیش تیمار بذر با عناصر غذایی به عنوان یک راهکار کم هزینه و در عین حال کارآمد مطرح می‌باشد (Ros *et al.*, 2000). در این روش بذرهای قبل از کشت با استفاده از عناصر غذایی به‌ویژه عناصر ریزمغذی تیمار می‌شوند. این عمل برای تامین بخشی از نیازهای غذایی بذر و گیاه صورت می‌گیرد. مهم‌ترین دستاورد این روش کاهش چشم‌گیر مصرف برخی ریزمغذی‌ها است (Farooq *et al.*, 2005). در پیش تیمار بذر با متانول، اتانول و عناصر غذایی، این ترکیبات معمولاً به عنوان یک ماده‌ی اسمزی به کار برده می‌شوند (Farooq *et al.*, 2009; Sing, 2007). مطالعات نشان داده است که پیش تیمار بذر یک روش کارآمد به منظور افزایش بنیه زیست بذر و جوانه‌زنی تحت شرایط تنش‌زا می‌باشد (Gaun *et al.*, 2009).

پیش تیمار باعث افزایش مقاومت به تنش‌های محیطی و افزایش دامنه‌ی جوانه‌زنی بذرها در شرایط محیطی تنش‌زا می‌شود (Demir Kaya *et al.*, 2006). رحمن و همکاران (Rehman *et al.*, 2012) گزارش نمودند که در برنج در اثر پیش تیمار بذر با محلول ۰/۰۰۱ درصد عنصر بُر، میزان ظهور برگ‌ها، رشد برگ‌ها و ظهور پنجه بهبود پیدا نمود. پیش تیمار بذرهای گندم با محلول سولفات منگنز موجب بهبود رشد، عملکرد دانه و محتوای منگنز دانه گردید (Farooq *et al.*, 2012). اتانول و متانول تاثیر تحریک‌کنندگی بر جوانه‌زنی دانه‌های بسیاری از گونه‌های گیاهی دارند (Farooq *et al.*, 2007). میوشی و سات (Miyoshi and Sato, 1997) در یک مطالعه گزارش نمودند که در اثر تیمار بذرهای برنج ژاپنی با ۰/۵ - ۵٪ اتانول مشکل رکود بذر به طور کامل برطرف می‌شود.

تحقیق حاضر در راستای نیل به اهدافی چون ارزیابی و شناسایی صفات مهم مورفوفیزیولوژیکی مؤثر بر عملکرد و اجزای عملکرد نهایی کلزا در شرایط تنش کمبود آب و کاربرد ترکیبات فوق صورت می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

آزمایش در سال ۱۳۹۱ در ایستگاه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز در ۳ تکرار طی شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای اجرا گردید. آزمون آزمایشگاهی در قالب طرح کاملاً تصادفی و آزمون گلخانه‌ای نیز در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی انجام گردید. عوامل مورد آزمایش عبارت بودند از: A: ترکیب پیش تیمار در پنج سطح شامل A₀: بدون پیش تیمار (شاهد)، A₁: اتانول با غلظت ۲ درصد حجمی، A₂: متانول با غلظت ۲ درصد حجمی،

نمونه‌ها روزانه و به مدت ۷ روز مورد بازدید قرار گرفتند (Rezaei Sokht-Abadani and Ramazani, 2012).

صفات اندازه‌گیری شده عبارت بودند از متوسط زمان جوانه‌زنی: این صفت شاخصی از سرعت و شتاب جوانه‌زنی محسوب می‌گردد از رابطه زیر محاسبه گردید (Ellis and Roberts, 1981):

$$MGT = \frac{\sum(nd)}{\sum n}$$

که در این رابطه: n = تعداد بذور جوانه‌زده در طی d روز، d = تعداد روزها از ابتدای جوانه‌زنی و $\sum n$ = کل تعداد بذور جوانه‌زده می‌باشد.

سرعت جوانه‌زنی: یکی از قدیمی‌ترین مفاهیم بنیه بذر است و روشی جهت تعیین سرعت جوانه‌زنی می‌باشد که با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (Maguire, 1962):

$$SG = \frac{\text{تعداد گیاهچه‌های طبیعی}}{\text{تعداد روز تا شمارش}} + \dots + \frac{\text{تعداد گیاهچه‌های طبیعی}}{\text{تعداد روز تا شمارش}}$$

آزمون گلخانه‌ای

برای آماده سازی گلدان‌ها، مخلوطی از شن به میزان یک سوم و خاک مزرعه به میزان دو سوم را به گلدان‌هایی با حجم ۹ لیتر اضافه کرده و تعداد ۱۰ بذر تیمار شده در هر گلدان در عمق ۲ سانتی‌متری کشت شدند. در آزمون گلخانه‌ای، گلدان شاهد (۱۰۰ درصد رطوبت قابل دسترس) بر اساس ظرفیت مزرعه‌ای و سایر تیمارها بر اساس سطوح تنش‌ها آبیاری گردیدند. برای تعیین رطوبت قابل دسترس از دستگاه صفحات فشار استفاده شد. بدین ترتیب که نمونه‌هایی از خاک گلدان‌ها برداشت و سپس نمونه‌های خاک اشباع شدند. نمونه‌های اشباع شده در دستگاه صفحه فشار روی صفحات سرامیکی قرار داده شدند.

A₃: عنصر منگنز از منبع سولفات منگنز با غلظت ۵ در هزار، A₄: عنصر بُر از منبع اسید بوریک با غلظت ۵ در هزار و B: تنش کمبود آب در چهار سطح شامل: B₁: ۲۵ درصد رطوبت قابل دسترس، B₂: ۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس، B₃: ۷۵ درصد رطوبت قابل دسترس و B₄: ۱۰۰ درصد رطوبت قابل دسترس. در این آزمایش بذور رقم اکایی کلزا به مدت ۱۲ ساعت در محلول ۲ درصد اتانول و متانول در دمای ۲۷ درجه‌ی سلسیوس (Farooq et al., 2007) و به مدت ۱۲ ساعت در داخل محلول‌های غذایی غوطه‌ور شدند. سپس بذور سه بار به منظور حذف نمک‌های اضافی به-وسیله‌ی آب مقطر شستشو داده شدند (Farooq et al., 2007).

آزمون آزمایشگاهی

به منظور تست جوانه‌زنی استاندارد، ۲۵ بذر یکنواخت در ۳ تکرار به ازای هر پتری‌دیش انتخاب و ضد عفونی شدند. برای استریل کردن، بذور انتخابی به مدت ۱ دقیقه در یک بشر در داخل الکل ۷۰٪ قرار گرفتند. سپس بذور با محلول هیپوکلریت سدیم به مدت ۵ دقیقه استریل شده و در نهایت در زیر هود لامینار ایرفلو (اتاقک کشت) ماده‌ی استریل کننده شیمیایی را خالی کرده و ۵ مرتبه با آب مقطر استریل به‌طور کامل شستشو داده شدند. ظروف پتری‌دیش نیز به‌منظور حذف پاتوژن‌های احتمالی به مدت ۱۲ ساعت در هود الکتریکی زیر تشعشع UV قرار داده شدند. سپس بذور در داخل پتری‌دیش‌های ۱۰ سانتی‌متری و در بین دو لایه کاغذ صافی قرار داده شده و ۱۰ میلی لیتر آب مقطر به ازای هر پتری‌دیش اضافه گردید و برای جوانه‌زنی به داخل دستگاه ژرمیناتور با دمای ۲ ± ۲۵ درجه سلسیوس (رطوبت نسبی ۴۲ درصد و تاریک) منتقل شدند.

برداشت شده از هر تیمار اندازه‌گیری و میانگین آنها مد نظر قرار گرفته است. مقاومت روزنه‌ای با استفاده از دستگاه پرومتر مدل (Delta-T AP4 (Devices-U.K) و وزن خشک بوته بر اساس مجموع وزن خشک ساقه، برگ‌ها، خورجین‌ها و وزن دانه‌های برداشت شده بر حسب گرم اندازه‌گیری شدند. همچنین، برای اندازه‌گیری مقدار نسبی آب برگ، برگ مشخص از هر بوته در هر تیمار (برگ سوم از انتهای بوته) برداشت و بلافاصله وزن تر برگ توزین گردید. سپس با استفاده از آب مقطر برگ‌های مورد نظر در داخل لوله‌های آزمایشی به مدت ۵ ساعت به حالت اشباع در آورده شده و مجدداً توزین شدند. در ادامه برگ‌ها را در داخل آون ۷۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت قرار داده و پس از خشک شدن وزن خشک برگ‌ها تعیین و با فرمول زیر RWC محاسبه گردید:

$$\theta_m = \frac{\text{وزن خشک} - \text{وزن تر}}{\text{وزن خشک} - \text{وزن اشباع}} \times 100 = \text{مقدار نسبی آب برگ}$$

تجزیه واریانس و مقایسه‌ی میانگین داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTATC انجام گرفت. میانگین‌ها با کاربرد آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شده و شکل‌ها توسط نرم‌افزار EXCEL ترسیم شدند.

نتایج و بحث

نتایج آزمون آزمایشگاهی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس آزمون آزمایشگاهی نشان داد که اثر پیش تیمار بر صفات متوسط زمان جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

متوسط زمان جوانه‌زنی

سپس به آهستگی هوای داخل محفظه افزایش یافت تا به فشار یک سوم بار (۰/۳ بار) رسید. این فشار در خاک‌های رسی ۰/۳، در خاک‌های شنی ۰/۱ و به‌طور متوسط ۰/۲ اتمسفر می‌باشد. در این آزمایش با توجه به بافت خاک، این میزان فشار ۰/۳ بار در نظر گرفته شد (Luxmore, 1990).

دستگاه به‌منظور ایجاد تعادل در سیستم به مدت ۲۴ ساعت در همان حال رها گردید. پس از این مدت و زمانی که دیگر از لوله‌ها آبی خارج نمی‌شد هوای محفظه خالی و نمونه‌های خاک بلافاصله در آزمایشگاه به‌وسیله ترازوی حساس با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شدند. سپس نمونه‌ها در دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت در آون قرار گرفتند. پس از توزین خاک خشک شده مقدار رطوبت وزنی خاک در حالت ظرفیت مزرعه-ای با استفاده از فرمول زیر محاسبه و به‌دست آمد (Luxmore, 1990):

$$\theta_m = \frac{M_w - M_s}{M_s} \times 100$$

در این رابطه M_w وزن خاک مرطوب (گرم) و M_s وزن خاک خشک (گرم) می‌باشد. بعد از مشخص شدن رطوبت وزنی خاک در حالت ظرفیت مزرعه‌ای، مقدار رطوبت نقطه پژمردگی نیز در فشار ۱۵ بار به همان ترتیب اندازه‌گیری شده و تفاضل رطوبت ظرفیت مزرعه‌ای و رطوبت نقطه پژمردگی، به‌عنوان رطوبت قابل دسترس در نظر گرفته شد (Luxmore, 1990). پس از مشخص شدن میزان رطوبت قابل دسترس، هر روز از خاک نمونه‌برداری شده و میزان رطوبت وزنی خاک تعیین شد و فواصل دور آبیاری در تیمارهای مختلف به‌دست آمد. اعمال تنش‌ها از زمان ساقه‌روی بوته‌ها شروع و تا رسیدگی کامل بوته‌ها ادامه داشت. صفات مورد بررسی از بوته‌های

و سرعت جوانه‌زنی و وزن خشک گیاهچه و کاهش گیاهچه‌های غیرنرمال آفتابگردان در شرایط تنش خشکی گردید. همچنین، گزارش شده است که این روش باعث افزایش دامنه‌ی جوانه‌زنی بذرها در شرایط محیطی تنش‌زا از قبیل تنش شوری، خشکی و دما می‌شود (Demir Kaya *et al.*, 2006).

نتایج آزمون گلخانه‌ای

نتایج حاصل از تجزیه واریانس آزمون گلخانه‌ای نیز نشان داد که اثر اصلی پیش تیمار ترکیبات متفاوت و نیز سطوح مختلف تنش کمبود آب بر صفات عملکرد دانه، مقدار نسبی آب برگ و تعداد خورجین در بوته و همچنین اثر متقابل پیش تیمار ترکیبات متفاوت در سطوح مختلف تنش کمبود آب در صفات مقاومت روزنه‌ای و وزن خشک بوته در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

عملکرد دانه

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که پیش تیمار دانه‌ها با اتانول در تیمار ۱۰۰ درصد رطوبت قابل دسترس با میانگین ۷/۰۹۷ گرم بیشترین و پیش تیمار دانه‌ها با سولفات منگنز در تیمار ۲۵ درصد رطوبت قابل دسترس با میانگین ۳/۸۲ گرم کمترین عملکرد دانه را داشت که افزایشی معادل ۸۵ درصد را نشان داد (جدول ۳). اتانول با تاثیر تحریک‌کنندگی بر جوانه‌زنی بذرهاي کلزا موجب استقرار سریع و بهتر بوته‌ها شده و از این طریق بوته‌های پیش تیمار شده با این ترکیب از رشد بیشتری برخوردار شده و در نتیجه افزایش سطح فتوسنتز کننده و دریافت نور بیشتر در نهایت می‌تواند منجر به افزایش تولید گردد. نتایج حاصل از پیش تیمار بذور با متانول و عناصر روی، بُر و منگنز در تیمارهای ۱۰۰ و ۷۵ درصد رطوبت قابل

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که پیش تیمار دانه‌ها با اتانول با میانگین ۴/۴۴ روز بیشترین و شاهد با ۲/۶۹ روز کمترین زمان برای جوانه‌زنی را داشتند (شکل ۱). سبزشدگی یکنواخت یکی از عوامل مهم دستیابی به عملکرد مطلوب و تولید بالا است (Ghassemi-Golezani *et al.*, 2010). گزارش‌های لاروندل و همکاران (Larondelle *et al.*, 1987) نشان می‌دهد که اتانول در جوانه‌زنی به عنوان یک پیش ماده‌ی تنفسی انجام وظیفه می‌کند. این موضوع موجب افزایش جذب اکسیژن شده و در نتیجه سطح فروکتوز ۲ و ۶ بیس فسفات را افزایش می‌دهد. این محققین نشان دادند که افزایش سطح فروکتوز ۲ و ۶ بیس فسفات در اثر پیش تیمار با اتانول موجب افزایش عمل مرحله‌ی گلیکولیز در بذور دورمانت یولاف می‌شود. عرفان افضل و همکاران (Afzal *et al.*, 2013) گزارش کردند که در مقایسه با شاهد پرایمینگ با ۲ و ۴ درصد اتانول موجب افزایش درصد جوانه‌زنی و پیش تیمار با ۶ درصد اتانول به دلیل تجمع بیش از حد مواد سمی در دانه‌های پیش تیمار شده موجب کاهش متوسط زمان جوانه‌زنی در بذور گوجه-فرنگی گردید.

سرعت جوانه‌زنی

در آزمون جوانه‌زنی استاندارد پیش تیمار اتانول و شاهد به ترتیب با میانگین ۹/۵۱ و ۵/۵۱ بیشترین و کمترین سرعت جوانه‌زنی را داشتند که افزایشی معادل ۷۲ درصد را نشان داد (شکل ۲). افضل و همکاران (Afzal *et al.*, 2006) در مطالعه روی کلزا نشان دادند که سرعت جوانه‌زنی در واکنش به پیش تیمار افزایش می‌یابد. کایا و همکاران (Kaya *et al.*, 2007) گزارش کردند که پیش تیمار باعث افزایش درصد

مراحل اولیه پر شدن دانه از طریق انجام فتوسنتز در رشد و تکامل دانه‌ها مشارکت می‌کنند. نتایج نشان داد که پیش تیمار دانه‌ها با اتانول و متانول با میانگین ۷۰/۵۰ و ۶۴/۴۲ عدد بیشترین و کمترین تعداد خورجین در بوته را داشتند که افزایشی معادل ۹ درصد را نشان داد (شکل ۳). همچنین، مقایسه میانگین تاثیر سطوح مختلف تنش کمبود آب هم نشان داد که بیشترین تعداد خورجین در بوته در تیمار ۱۰۰ درصد رطوبت قابل دسترس با میانگین ۸۰/۴۷ و کمترین در تیمار ۲۵ درصد رطوبت قابل دسترس با میانگین ۵۴/۲۷ عدد بود (شکل ۴). اثرات منفی تنش کمبود آب بر تعداد خورجین در بوته موجب کاهش ۴۸ درصدی آن نسبت به شاهد شد. به نظر می‌رسد کمبود عرضه مواد فتوسنتزی در شرایط تنش، باعث عدم تأمین مواد فتوسنتزی به میزان کافی برای خورجین‌ها و در نتیجه ریزش آنها و در نهایت کاهش تعداد خورجین می‌شود. به طور کلی، وقوع تنش رطوبتی در مراحل انتهایی رشد موجب کاهش تعداد اندام‌های زایشی کلزا از جمله تعداد خورجین‌ها، تعداد دانه و همچنین وزن دانه‌ها می‌گردد (Poma et al., 1999). مندهام و همکاران (Mendhem et al., 1984) گزارش کردند که کاهش مقدار آب در مرحله گلدهی کلزا موجب کاهش تعداد خورجین در بوته می‌شود، اما تأخیر در بروز تنش، سبب کاهش معنی‌دار تعداد دانه در خورجین می‌گردد. قلی‌پور و همکاران (Golipoor et al., 2004) اظهار داشتند هنگامی که در مرحله رشد خورجین‌ها گیاه با کمبود آب مواجه گردد، انتقال مواد غذایی به دانه‌ها تقلیل یافته و عملکرد کاهش می‌یابد که ناشی از کاهش تعداد و اندازه خورجین‌ها می‌باشد.

مقاومت روزنه‌ای

دسترس اختلاف معنی‌داری با این تیمار نداشتند. در مطالعه روی نخود (*Pisum sativum* L.)، میوه‌دهی و عملکرد غلاف زمانی که بذور با محلول ۰/۵ درصد بُر پیش تیمار شدند، افزایش یافت در حالیکه زمان گلدهی ۵۰ درصد کاهش نشان داد (Kumar et al., 2008). کایا و همکاران (Kaya et al., 2007) گزارش کردند که پیش تیمار بذور لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) با عنصر روی موجب بهبود عملکرد و اجزای عملکرد شد. پیش تیمار بذور با عنصر روی موجب بهبود جذب عنصر روی و فسفر، بهبود تجمع ماده‌ی خشک و افزایش کارایی مصرف آب تا ۴۴ درصد در گیاهان تحت تنش خشکی در جو می‌شود (Ajouri et al., 2004). در آزمایش دیگر هاریس و همکاران (Harris et al., 2007) نشان دادند که پیش تیمار بذور با سولفات روی ۰/۴ درصد موجب افزایش عملکرد به میزان ۶۱۵ کیلوگرم در هکتار (۲۱ درصد در مقایسه با بذور غیر تیماری) در گندم گردید. در نخود پیش تیمار بذور با محلول رقیق شده‌ی سولفات روی (۰/۰۵ درصد) موجب افزایش عملکرد از ۱۰ تا ۱۲۲ درصد (به‌طور میانگین ۴۸ درصد) نسبت به بذور شاهد گردید (Harris et al., 2007). در بررسی که توسط ابوالهاشم و همکاران (Abulhashem et al., 2008) صورت گرفت، مشاهده شد که تنش در مرحله رشد رویشی گیاه کلزا باعث کاهش عملکرد نسبت به شرایط شاهد شد ولی این کاهش عملکرد و اجزای عملکرد نسبت به تنش در مرحله گلدهی کمتر بود.

تعداد خورجین در بوته

تعداد خورجین در بوته را می‌توان یکی از مهم‌ترین اجزای تشکیل دهنده عملکرد به حساب آورد، زیرا خورجین‌ها حاوی دانه‌ها بوده و در

درصد و کمترین آن در تیمار ۲۵ درصد رطوبت قابل دسترس با میانگین ۵۴/۶۶ درصد بود که افزایشی معادل ۳۶ درصد را نشان داد (شکل ۶). با توجه به نتایج فوق می‌توان گفت کاهش رطوبت تا ۷۵ درصد رطوبت قابل دسترس، اختلاف معنی‌داری را در مقدار نسبی آب برگ به وجود نمی‌آورد ولی با افزایش شدت تنش اختلاف معنی‌داری در این صفت مشاهده می‌شود. بدیهی است که گیاهان با محتوای نسبی آب برگ بیشتر، از توان حفظ آب بالاتری برخوردار خواهند بود و از این رو به فتوسنتز ادامه خواهند داد. مقدار نسبی آب برگ یکی از صفات درگیر در تحمل به تنش کمبود آب در آفتابگردان می‌باشد (Ghaffari and Haji Hoseinlou, 2013).

در شرایط تنش کمبود آب مقدار نسبی آب برگ با هدایت روزه‌ای همبستگی داشته و کاهش مقدار آن در شرایط کمبود آب، منجر به کاهش هدایت روزه‌ای و جذب دی‌اکسیدکربن شده و در نهایت سبب افت فتوسنتز می‌گردد (Mailer et al., 2002). بالا بودن میزان درصد محتوای آب نسبی در ژنوتیپ‌های متحمل به تنش می‌تواند به دلیل وجود برخی عوامل کم‌کننده تلفات آب از طریق بستن روزه‌ها و یا جذب بیشتر آب از طریق گسترش ریشه باشد (Cornic and Massacci, 1996).

وزن خشک بوته

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که پیش تیمار دانه‌ها با اتانول در تیمار ۱۰۰ درصد رطوبت قابل دسترس با میانگین ۲۱ گرم بیشترین و تیمار شاهد در تیمار ۲۵ درصد رطوبت قابل دسترس با میانگین ۷/۸ گرم کمترین وزن خشک بوته را داشت که افزایشی تقریباً ۳ برابری را نشان داد (جدول ۳).

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که پیش تیمار دانه‌ها با اتانول در تیمار ۲۵ درصد رطوبت قابل دسترس با میانگین ۱۶/۱ بیشترین و پیش تیمار دانه‌ها با اسید بوریک در تیمار ۱۰۰ درصد رطوبت قابل دسترس با میانگین ۶/۴۶۷ کمترین مقاومت روزه‌ای را داشت که افزایشی تقریباً ۱/۵ برابری را نشان داد (جدول ۳). اختلافی بین سطوح تنش کمبود آب ۲۵ و ۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس در مورد صفت مقاومت روزه‌ای وجود نداشت. دلیل این امر را چنین می‌توان بیان کرد که در زمان حادث شدن تنش آبی به دلیل کاهش میزان آب در داخل سلول‌های برگ و کاهش فشار تورگر، تولید ABA افزایش یافته که منجر به بسته شدن روزه‌ها می‌گردد، از این رو مقاومت روزه‌ای افزایش می‌یابد. لاهوتی و رحیم‌زاده (Lahoti and Rahimzadeh, 1991) اظهار داشتند که تنش خشکی موجب بسته شدن نسبی روزه‌ها شده و موجب افزایش مقاومت روزه‌ای می‌گردد، در نتیجه مقاومت کل در برابر حرکت بخار آب را بیشتر از مقاومت کل در برابر حرکت CO₂ افزایش می‌دهد. افزایش مقاومت روزه‌ای در شرایط تنش توسط فلکساس و همکاران (Flexas et al., 2008) نیز گزارش شده است.

مقدار نسبی آب برگ

پیش تیمار بذور با اتانول با میانگین ۶۵/۸۷ درصد بیشترین و پیش تیمار بذور با اسید بوریک با میانگین ۶۰/۹۷ درصد کمترین مقدار نسبی آب برگ را داشت (شکل ۵). مقدار آب نسبی برگ تحت تیمار اتانول اختلاف معنی‌دار با تیمار متانول نداشت. همچنین، مقایسه میانگین تاثیر سطوح مختلف تنش کمبود آب هم نشان داد که بیشترین مقدار نسبی آب برگ در تیمار ۱۰۰ درصد رطوبت قابل دسترس با میانگین ۷۴/۷۷

نتیجه‌گیری کلی

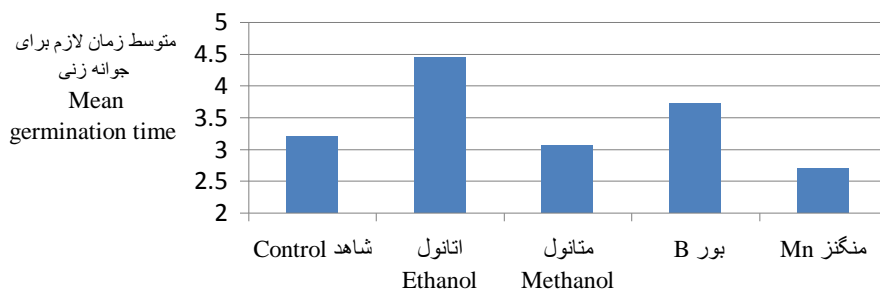
بذور پیش تیمار شده آمادگی جوانه‌زنی و استقرار را پیش از قرار گرفتن در بستر خود کسب می‌کنند به طوری که به لحاظ متابولیکی، بیوشیمیایی و ساختار سلولی در وضعیت زیستی مناسب‌تری در مقایسه با بذور پیش تیمار نشده قرار دارند. این امر می‌تواند دلیلی برای آثار سودمندی ناشی از پیش تیمار بذر از جمله افزایش تحمل نسبی به تنش‌های محیطی باشد. در تحقیق حاضر متوسط زمان جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی در اثر پیش تیمار با اتانول به ترتیب ۶۵ و ۷۲ درصد افزایش نشان دادند. همچنین، مقدار نسبی آب برگ و تعداد خورجین در بوته در اثر پیش تیمار دانه‌ها با اتانول به ترتیب ۳، ۸ و ۹٪ افزایش یافتند. پیش تیمار دانه‌ها با اتانول در تیمار ۱۰۰ درصد رطوبت قابل دسترس موجب افزایش ۱/۵ و ۳ برابری مقاومت روزنه‌ای و وزن خشک بوته گردید.

بذور پیش تیمار شده پس از قرار گرفتن در بستر خود زودتر جوانه‌زده و استقرار گیاهان حاصل شده از این بذور سریع‌تر، بهتر و در عین حال یکنواخت‌تر انجام می‌پذیرد. در واقع چنین گیاهانی در مقایسه با گیاهان به وجود آمده از بذور پیش تیمار نشده در طی زمان کوتاه‌تری سیستم ریشه‌ای خود را گسترش داده و با جذب مطلوب آب و مواد غذایی و تولید بخش‌های سبز فتوسنتز کننده به مرحله اتوتروفی می‌رسند (Duman, 2006). تحقق چنین شرایطی به لحاظ زیستی و اکولوژیکی موقعیت ویژه‌ای به گیاهان حاصل از بذور پیش تیمار شده می‌دهد. برآیند این موارد در نهایت می‌تواند منجر به افزایش سطح فتوسنتز کننده در این گیاهان شود که متعاقب این امر میزان تثبیت دی‌اکسیدکربن و به طبع آن اسیمیلات تولیدی و همین‌طور ذخیره کربوهیدرات‌ها افزایش یافته و در نتیجه وزن خشک تولیدی نیز بیشتر خواهد شد (Duman, 2006).

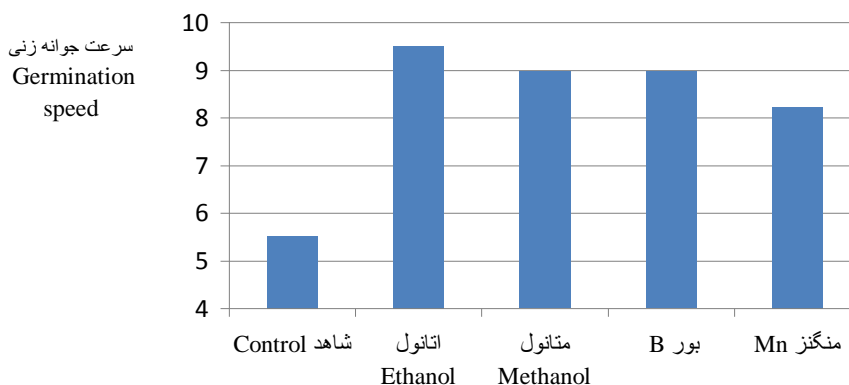
جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه کلزا در شرایط آزمایشگاه

Table 1- Analysis of variance of rapeseed measured traits in laboratory condition

آزمون جوانه‌زنی استاندارد			
منابع تغییر Source of Variation	درجه آزادی df	متوسط زمان لازم جوانه‌زنی Mean germination time	سرعت جوانه‌زنی Germination speed
تیمار Treatment	4	1.143**	6.66**
خطا Error	10	0.182	1.215
ضریب تغییرات CV (%)	-	12.29	14.18



شکل ۱- مقایسه میانگین اثرات پیش تیمار بر متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی کلزا در شرایط آزمایشگاهی
Figure 1- Mean comparison of priming on mean germination time of rapeseed in laboratory condition (FLSD=0.756)



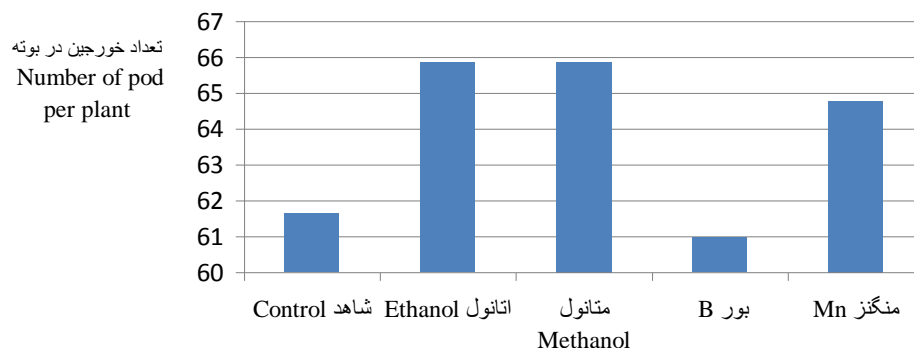
شکل ۲- مقایسه میانگین اثرات پیش تیمار بر سرعت جوانه‌زنی کلزا در شرایط آزمایشگاهی
Figure 2- Mean comparison of priming on germination speed of rapeseed in laboratory condition (FLSD=1.961)

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه بر روی کلزا در شرایط گلخانه‌ای

Table 2- Analysis of variance of rapeseed measured traits in greenhouse condition

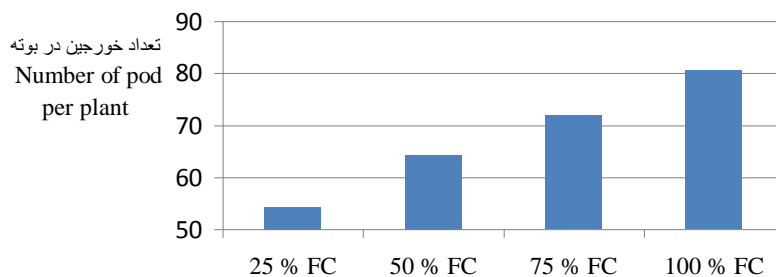
منابع تغییر Source of Variation	درجه آزادی df	عملکرد دانه Seed yield	تعداد خورجین در بوته Number of pod per plant	مقاومت روزنه ای Stomata resistance	مقدار نسبی آب برگ Relative water content	وزن خشک بوته Dry biomass weight
کمبود آب Water deficit stress	3	30.95**	1860**	281.78**	1244**	350.32**
پیش تیمار Priming	4	1.118**	93.89**	2.688**	66.479**	7.767**
کمبود آب × پیش تیمار Water deficit stress × priming	12	0.155**	29.01 ^{ns}	0.341**	15.998 ^{ns}	0.611**
خطا Error	40	0.046	15.85	0.053	16.389	0.151
ضریب تغییرات Cv (%)	-	2.52	5.88	1.97	6.34	2.72

ns, *, ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪
ns, * and **, non-significant, significant at 5% & 1% respectively

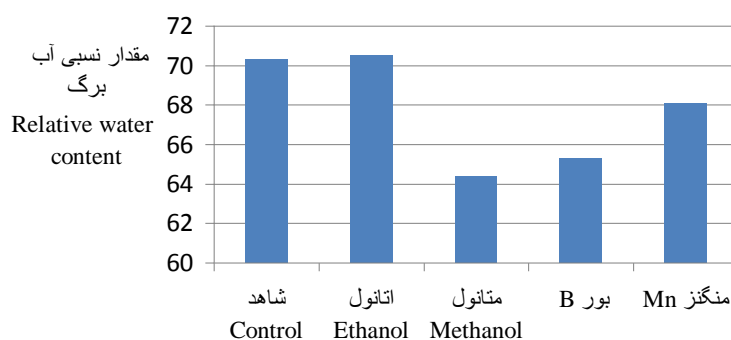


شکل ۳- مقایسه میانگین اثرات پیش تیمار بر تعداد خورجین در بوته کلزا در شرایط گلخانه‌ای

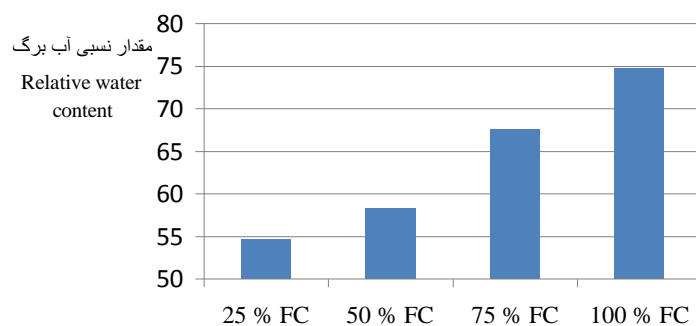
Figure 3- Mean comparison of priming on number of pod per plant of rapeseed in greenhouse condition (FLSD=3.285)



شکل ۴- مقایسه میانگین اثرات تنش کمبود آب بر تعداد خورجین در بوته کلزا در شرایط گلخانه ای
Figure 4- Mean comparison of priming on number of pod per plant of rapeseed in greenhouse condition (FLSD=3.34)



شکل ۵- مقایسه میانگین اثرات پیش تیمار بر مقدار نسبی آب برگ کلزا در شرایط گلخانه ای
Figure 5- Mean comparison of priming on relative water content of rapeseed in greenhouse condition (FLSD=2.938)



شکل ۶- مقایسه میانگین اثرات تنش کمبود آب بر مقدار نسبی آب برگ کلزا در شرایط گلخانه ای
Figure 6- Mean comparison of priming on relative water content of rapeseed in greenhouse condition (FLSD=2.988)

جدول ۳- مقایسات میانگین اثرات تنش کمبود آب و پیش تیمار بر صفات اندازه گیری شده کلزا در شرایط گلخانه‌ای
Table 3- Mean comparison of priming and water deficit stress on rapeseed measured traits in greenhouse condition

تنش کمبود آب Water deficit stress	پیش تیمار Priming	عملکرد دانه (گرم) Seed yield	مقاومت روزنه‌ای Stomata resistance (s.cm ⁻¹)	وزن خشک بوته (گرم) Dry biomass weight
25% FC	شاهد Control	3.820	15.77	7.80
	اتانول Ethanol	4.427	16.10	8.86
	متانول Methanol	4.450	16.03	8.46
	B. بور	3.343	15.97	7.85
50% FC	Mn. منگنز	3.578	15.47	8.04
	شاهد Control	4.803	14.80	11.67
	اتانول Ethanol	5.603	15.00	14.47
	متانول Methanol	5.493	14.87	13.92
75% FC	B. بور	4.560	14.50	11.99
	Mn. منگنز	4.603	14.33	12.69
	شاهد Control	6.643	8.433	16.27
	اتانول Ethanol	6.873	9.867	17.33
100% FC	متانول Methanol	6.797	9.867	16.90
	B. بور	6.527	8.300	16.46
	Mn. منگنز	6.560	8.233	16.76
	شاهد Control	7	6.600	18.19
FLSD	اتانول Ethanol	7.097	7.700	21.00
	متانول Methanol	6.997	7.567	20.00
	B. بور	6.857	6.467	18.51
	Mn. منگنز	6.913	6.500	18.87
FLSD		0.0903	0.3799	0.6412

References

منابع مورد استفاده

- Abulhashem, L.M., N. Amin-Majumdar, A. Hamid, and M.M. Hossain 2008. Drought stress on seed yield attributes growth, cell memberane stability and Exchange of synthesized *Brassica napus* L. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 180: 129-136.
- Afzal, I., F. Munir, C.M. Ayub, S.M.A. Basra, A. Hameed, and F. Shah. 2006. Ethanol priming” An effective approach to enhance germination and seedling development by improving antioxidant system in tomato seeds. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*. 12(4): 129-137.
- Afzal, I., S.M.A. Basra, R. Ahmad, and A. Iqbal. 2002. Effect of different seed vigor enhancement techniques on hybrid maize (*Zea mays* L.). *Pakistan Journal of Agriculture Science*. 39: 109-112.
- Ajouri, A., H. Asgedom, and M. Becker. 2004. Seed priming enhances germination and seedling growth of barley under conditions of P and Zn deficiency. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 167: 630-636.
- Cornic, C., and A. Massacci. 1996. Leaf photosynthesis under drought stress. In *Photosynthesis and Environment*. Ed. Baker, N.R. Kluwer Academic Publish. Pp: 347-366.
- Demir Kaya, M., G. Okeu, M. Atak, Y., Cikili, and O. Kolsarici. 2006. Seed treatment to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *European Journal of Agronomy*. 24: 291-295.
- Duman, I. 2006. Effect of seed priming with PEG and K₃PO₄ on germination and seedling growth in lettuce. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 9(5): 923- 928.
- Ellis, R.H., and E.H. Roberts. 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. *Seed Science and Technology*. 9: 377-409.
- Farooq, M., A. Wahid, and H.M. Siddique kadambot. 2012. Micronutrient application through seed treatments. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 12(1): 125-142.
- Farooq, M., S.M.A. Basra, A. Wahid, A. Khaliq, and N. Kobayashi. 2009. Rice seed invigoration. In: E. Lichtfouse (ed.). *Sustainable agriculture reviews*, pp. 137–175. Springer, the Netherlands.
- Farooq, M., S.M.A. Basra, K. Hafeez, S.A. Asad, and N. Ahmad. 2005. Use of commercial fertilizers as osmotic for rice priming. *Journal of Agriculture and Social Sciences*. 12: 172-175.
- Farooq, M., S.M.A. Basra, M. Tauseef, H. Rehman, and H. Munir. 2007. Priming with ethanol, ascorbate and salicylate enhances the germination and early seedling growth of pea (*Pisum sativum* L.). *Pakistan Journal of Agriculture Science*. 44: 30-39.
- Flexas, J., M. Ribas-Carbo, A. Diaz-Espejo, J. Galmes, and H. Medrano. 2008. Mesophyll conductance to CO₂: current knowledge and future prospects. *Plant, Cell and Environment*. 31: 602-621

- Ghaffari, M., and S. Haji Hoseinlou. 2013. Seed yield determinants of sunflower under drought stressed and well watered conditions. *International Journal of Agronomy and Plant Production*. 4 (S): 3816-3823.
- Ghassemi-Golezani, K., S. Khomari, B. Dalili, B. Hosseinzadeh Mahootchy, and A. Chadordooz-Jedi. 2010. Effect of seed aging on field performance of winter oil seed rape. *Journal of Food, Agriculture and Environment*. 8(1):175-178.
- Golipoor, A., N. Latifi, K. Ghasemi Golezani, H. Aliary, and M. Moghaddam. 2004. Comparison of growth and grain yield of rapeseed cultivars under rainfed conditions. *Agricultural Journal of Science, Nature Resource*. 11(1): 5- 13. (In Persian).
- Guan, Y.J., J. Hu, X.J. Wang, and C.X. Shao. 2009. Seed priming with chitosan improves maize germination and seedling growth in relation to physiological changes under low temperature stress. *Journal of Zhejiang University Science*. B. 10: 427-433.
- Harris, D., A. Rashid, G. Miraj, M. Arif, and H. Shah. 2007. On-farm seed priming with zinc sulphate solution – A cost-effective way to increase the maize yields of resource-poor farmers. *Field Crops Research*. 10: 119–127.
- Kaya, M., M. Atak, K.M. Khawar, C.Y. Çiftçi, and S. Özcan. 2007. Effect of pre-sowing seed treatment with zinc and foliar spray of humic acids on yield of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *International Journal of Agriculture and Biology*. 7: 875–878.
- Kumar, R., S.S. Kumar, and A.C. Pandey. 2008. Effect of seed soaking in nitrogen, phosphorus, potassium and boron on growth yield of garden pea (*Pisum sativum* L.). *Ecology, Environment and Conservation*. 14: 383–386.
- Lahoti, M., and F. Rahimzadeh. 1991. Plant physiology principles. Astan Qods Razavi Press. (In Persian).
- Larondelle, Y., F. Corbineau, M. Dethier, D. Come, and H.G. Hers. 1987. Fructose 2, 6-bisphosphate in germinating oat seeds. A biochemical study of seed dormancy. *European Journal of Biotechnology*. 166: 605-610.
- Luxmore, B. 1990. Methods of soil analysis. Part II, 3th Edition, pp. 493-59.
- Maguire, J.D. 1962. Seed of germination – aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*. 2: 176-177.
- Mailer, P., D. Baltensperger, G. Clayton, A. Johnson, G. Lafond, B. Mc Conkey, B. Schatz, and J. Starica. 2002. Pulse crop adaptation and impact across the Northern Great Plains. *Agronomy Journal*. 94: 261-272.
- Mendham, N.G., M.J. Russel, and G.C. Buzza. 1984. The contribution of seed survival to yield in new Australian cultivars of oilseed rape. *Journal of Agricultural Science Cambridge*. 85: 103-110.
- Miyoshi, K., and T. Sato. 1997. Tke effects of ethanol on the germination of seeds of Japonica and Indica rice (*Oryza sativa* L.) under anaerobic and aerobic conditions. *Annals of Botany*. 79: 391-395.

- Poma, I., V. Giacomini, and L. Grieco. 1999. Rapeseed (*Brassica napus* L. Var. Oleifera D.C.) ecophysiological and agronomical aspects as affected by soil water availability. 10th International Rapeseed Congress. Canberra, Australia.
- Rehman, A., M. Farooq, Z.A. Cheema, and A. Wahid. 2012. Role of boron in leaf elongation and tillering dynamics in fine grain aromatic rice. *Journal of Plant Nutrition*. 23: 1507-1515.
- Rezaei Sokht-Abadani, R., and M. Ramazani. 2012. The physiological effects on some traits of osmopriming germination of maize (*Zea mays* L.), rice (*Oryza sativa* L.) and cucumber (*Cucumis sativus* L.). *International Journal of Biology*. 4(2): 132-148.
- Ros, C., R.W. Belland, and P.F. White. 2000. Phosphorus seed coating and soaking for improving seedling growth of rice (*Oryza sativa* cv.IR66). *Seed Science and Technology*. 62: 391-401.
- Schwember, A.R., and K.J. Bradford. 2010. A genetic locus and gene expression patterns associated with the priming effect on lettuce seed germination at elevated temperatures. *Plant Molecular Biology*. 73: 105-118.
- Singh, M.V. 2007. Efficiency of seed treatment for ameliorating zinc deficiency in crops. In: Zinc Crops. Improving Crop Production and Human Health, 24–26 May, 2007, Istanbul, Turkey.
- Zhang, M., Z. Wang, L. Yuan, C. Yin, J. Cheng, L. Wang, J. Huang, and H. Zhang. 2012. Osmopriming improves tomato seed vigor under aging and salinity stress. *African Journal of Biotechnology*. 11(23): 6305-6311.

Effect of Seed Priming with Ethanol, Methanol, Boron and Manganese on some of Morphophysiological Characteristics of Rapeseed (*Brassica napus* L.) under Water Deficit Stress

Ebrahim Khalilvand Behrouzfar^{1*}

Received: July 2016, Revised: 23 August 2017, Accepted: 19 February 2018

Abstract

To effects of seed priming with ethanol, methanol, boron and manganese on some morphophysiological characteristics of rapeseed under water deficit stress was investigated in greenhouse using a factorial experiment based on completely randomized block design with three replications at the Research Station of the Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran, during growing seasons of 2012-2013. Treatments were 5 priming treatments: without seed priming, control, seeds priming with 2% ethanol, 2% methanol and with 0.5% of H_3BO_3 and of $MnSO_4.H_2O$ solutions) and 4 levels of different regimes of irrigation: (irrigation at 100%, 75%, 50%, and 25% of field capacity). The analysis of variance showed significant effects of seed priming on mean germination time (MGT) and germination speed (GS). The analysis of variance also indicated significant effect of seed priming and water deficit stress on relative water content (RWC) and number of pod per plant. Furthermore, the results showed a significant difference of interaction between seed priming and water deficit stress for seed yield per plant, stomata resistance and dry biomass weight per plant. The detailed results of this study showed that ethanol seed priming increased mean germination time (MGT) and germination speed (GS) by 65% and 72% respectively. Seed priming by ethanol increased relative water content (RWC) by 8% and number of pod per plant by 9% as compared with those of untreated seeds. Furthermore, seed priming by ethanol at 100% FC increased seed yield by 85% as compared with seed treatment by $MnSO_4.H_2O$ at 25% FC.

Key words: Macro elements, Rapeseed, Seed priming, Water deficit stress.

1- Assistant Prof. Department of Agronomy, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

* Corresponding Author: e.khalilvand@gmail.com