

ارزیابی تأثیر پیش تیمار بذر با پراکسید هیدروژن بر خصوصیات آناتومیکی و فیزیولوژیکی گندم در شرایط دیم

طیبه جعفریان^{۱*} - محمد جواد زارع^۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۸/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۵/۱۸

چکیده

به منظور بررسی اثر آماده سازی بذر (پرایمینگ) با غلظت‌های مختلفی از پراکسید هیدروژن بر دو رقم گندم (کراس سیلان (گندم نان) و ساجی (گندم دوروم))، تحت شرایط دیم آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام طی سال زراعی ۹۴-۱۳۹۳ با سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که تعداد دانه در سنبله، عملکرد دانه و نیز سطوح آنتی‌اکسیدان‌ها، رنگیزه‌ها و نیز ویژگی‌های آناتومیکی مورد مطالعه در این پژوهش تحت تأثیر آماده سازی بذر با پراکسید هیدروژن قرار گرفت. پیش تیمار بذر با پراکسید هیدروژن از طریق اثرگذاری مثبت بر خصوصیات فیزیولوژیکی و آناتومیکی موجب افزایش عملکرد دانه در هر دو رقم گندم شد. گیاهان حاصل از بذره‌های پیش تیمار شده با پراکسید هیدروژن از محتوای نسبی آب بیشتر، رنگیزه‌های کلروفیلی و کارتنوئیدی و آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز) بالاتری برخوردار بودند. گیاهانی که بذر آنها با پراکسید هیدروژن پیش تیمار شده بودند از مساحت سطح برگ بیشتر، تعداد روزنه کمتر، طول روزنه بیشتر، وزن تر و خشک بیشتر، نشت یونی و میزان لوله شدن برگ کمتری برخوردار بودند. همچنین خصوصیات آناتومیکی شامل اندازه آوندهای چوبی و آبکش، سلول‌های مزوفیل، غلاف آوندی، اپیدرم بالا و پایین در اثر تیمار با پراکسید هیدروژن افزایش یافت. این تغییرات ایجاد شده آناتومیکی مثبت موجب افزایش تعداد دانه در سنبله و در نهایت عملکرد دانه گردید. با توجه به نتایج به دست آمده پیش تیمار بذر با پراکسید هیدروژن غلظت ۸۰ میلی مولار تأثیر افزایش دانه بر عملکرد دانه به خصوص در رقم کراس سیلان داشت.

واژه‌های کلیدی: آوند چوبی، آوند آبکش، تعداد دانه در سنبله، عملکرد دانه، مزوفیل

مقدمه

رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

برگ به عنوان واحد فتوسنتزی در گیاه نقش ویژه‌ای دارد که در زمان وقوع تنش سطح برگ کاهش می‌یابد (Pettigrew, 2004) همچنین در شرایط تنش با بسته شدن روزنه‌ها فراهمی دی اکسید کربن برای سیستم فتوسنتزی با مشکل مواجه می‌شود و از سوی دیگر تنش، باعث تخریب کلروپلاست و افزایش دمای برگ به میزان ۵-۶ درجه و کاهش میزان محتوای آب نسبی برگ می‌شود. خشکی باعث شکسته شدن کلروپلاست‌ها و کاهش میزان کلروفیل می‌گردد و تشکیل پلاستیدهای جدید کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتن کاهش می‌یابد. بنابراین شناخت انواع سازوکارهای تحمل به تنش خشکی و چگونگی اثرشان در حفظ عملکرد گیاهان زراعی در شرایط تنش

ایران یکی از خاستگاه‌های مهم گیاهان زراعی، به ویژه گندم است. زراعت دیم گندم طی قرون و اعصار در بسیاری از نقاط ایران متداول بوده و در بسیاری از نواحی آن صورت می‌گیرد. اما در عین حال، کاهش میزان بارندگی و پراکنش نامناسب باران در طول فصل زراعی سبب کاهش محسوسی در عملکرد دانه گندم دیم می‌شود. مشخص شده است که تنش رطوبتی بسیاری از جنبه‌های متابولیسم و

۱- دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام

۲- دانشیار، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام

*- نویسنده مسئول: (Email: j.taiebeh@yahoo.com)

ایجاد شده توسط پراکسید هیدروژن بر فرآیندهای فیزیولوژی و آناتومیک حاصل و ارتباط آن با عملکرد نهایی مشخص گردد.

مواد و روش‌ها

آزمایش در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام، با طول جغرافیایی ۴۶ درجه و ۲۸ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۳ درجه و ۳۷ دقیقه و ارتفاع از سطح دریا ۱۱۷۴ متر در آبان ماه سال زراعی ۱۳۹۴-۱۳۹۳ انجام گرفت. نتایج آزمون خاک و میزان بارندگی به ترتیب در جدول‌های ۱ و ۲ ارائه گردیده است. بذور گندم دوروم رقم ساجی و گندم نان رقم کراس سبلان که قبلاً بذرهایی آنها با پراکسید هیدروژن آماده‌سازی شده بودند براساس آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار بر روی خطوطی با فاصله ۰/۲، به طول سه متر و به تعداد شش خط در هر کرت و در عمق ۵ سانتی‌متر خاک و تحت شرایط دیم کشت شدند. نمونه‌برداری جهت اندازه‌گیری صفات آناتومیک در مرحله پنجه‌زنی و برآوردهای صفات فیزیولوژیکی در مرحله ظهور سنبله و از برگ پرچم انجام گرفت. در زمان کاشت با توجه به آزمون خاک اقدام به استفاده از کودهای فسفره و نیتروژنه از منبع کودی سوپر فسفات تریپل و اوره خاک (اوره: ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار و فسفر: ۵۰ کیلوگرم در هکتار) گردید. کود اوره به‌صورت سرک در زمان به ساقه رفتن مصرف شد. وجین دستی جهت مبارزه با علف هرز انجام گرفت. برآورد عملکرد دانه در واحد سطح و پس از حذف ردیف‌های حاشیه (یک متر مربع) در زمان رسیدگی دانه‌ها (برداشت با رطوبت ۱۶ درصد) انجام گرفت.

نحوه پیش‌تیمار بذور با پراکسید هیدروژن (H₂O₂)

بذور هر دو رقم آزمایشی به مدت ۸ ساعت در دمای خنک در ظروف کاملاً پوشانده شده (جهت جلوگیری از نفوذ نور) حاوی پراکسید هیدروژن با چهار غلظت صفر، ۲۵، ۵۰ و ۸۰ میلی‌مولار به نحوی که بذور کاملاً غوطه‌ور شوند و ضمن هوادهی آماده‌سازی شدند. سپس جهت خشک نمودن و تسهیل در کشت، هوادهی بذور به مدت چند ساعت تحت سایه انجام گرفت.

اندازه‌گیری صفات آناتومیک در مرحله پنجه‌زنی انجام گرفت. پس از آزاد کردن دقیق پهنک برگ از اطراف ساقه، برشی توسط یک تیغ تیز در قاعده آن انجام شد. پس از آن نمونه‌هایی از برگ در فاصله ۶۵-۶۰ میلی‌متر بالاتر از قاعده برگ (Hu et al., 2000) با استفاده از خط‌کش محل برش مشخص و توسط تیغه برش داده شده است. به‌منظور تهیه مقاطع میکروسکوپی نمونه‌ها بلافاصله در فرمالین ۱۰ درصد به مدت دو روز قرار گرفتند. در مرحله بعد از انجام مراحل آگیری از نمونه‌ها توسط میکروتوم برش‌های عرضی به ضخامت پنج میکرومتر گرفته شد. جهت اندازه‌گیری پارامترهای آناتومیکاز اسلایدها

اهمیت دارد. صفات مورفولوژیکی و آناتومیک که در سازگاری و به حداقل رساندن اثرات کمبود آب در طی دوره زمانی که خشکی بروز یافته است در سازگاری یا مقاومت به گیاه کمک می‌کنند در سطح بافت، اندام و کل گیاه قابل طبقه‌بندی بوده و از لحاظ آناتومی و مورفولوژی برگ عکس‌العمل‌های مختلفی نظیر لوله‌ای شدن برگ (Sarieva et al., 2010)، تغییر اندازه سلول‌های بالیفورم (Blum et al., 1981)، تغییر قطر آوند چوبی و آبکش (Jafarian et al., 2012)؛ تغییر مساحت سلول‌های مزوفیل و اپیدرم (Jafarian et al., 2013)؛ سطح برگ، تعداد سلول‌های اپیدرمی و تغییر مساحت سلول‌های مزوفیل و اپیدرم (Jafarian et al., 2012)؛ (Jafarian et al., 2013) را شامل می‌گردند.

یکی از راه‌حل‌های اساسی برای کاهش اثرات سوء تنش پیش‌تیمار کردن بذور قبل از کشت است که روشی آسان، کم هزینه و با ریسک کم می‌باشد که باعث کاهش مشکلات ناشی از تنش‌های محیطی می‌شود (Wahid and Shabbir, 2005). همچنین پیش‌تیمار کردن بذور فرآیند از دست‌دهی آب را کنترل کرده و باعث می‌شود فعالیت‌های متابولیکی قبل از به‌وجود آمدن رادیکال‌های آزاد انجام شود (Sivritepe et al., 2005). پراکسید هیدروژن (H₂O₂) یکی از مواد شیمیایی مهم است که به‌وسیله تنش‌های زنده و غیر زنده در گیاهان افزایش می‌یابد. سطوح بالای پراکسید هیدروژن باعث خسارت به غشای سلولی و سلول‌های گیاهی می‌شود (Sairam and Sairam et al., 2002; Kathiresan et al., Tyagi, 2004)؛ با این وجود شواهد زیادی در ارتباط با نقش بیولوژیکی و سیگنالی ROS^۱ به‌خصوص پراکسید هیدروژن (H₂O₂) به‌عنوان یک پیام‌رسان مولکولی در گیاهان وجود دارد (Dat et al., 2000; Hung et al., 2005). در تحقیقات پیشین نشان داده شده است که گیاهچه‌های گندم حاصل از بذور پیش‌تیمار شده با پراکسید هیدروژن در شرایط تنش شوری و خشکی از طریق کاهش اثر سوء تنش بر سطح برگ و بهبود هدایت روزنه‌ای و تبادل گازها از ظرفیت فتوسنتزی بهتری برخوردار بودند همچنین پراکسید هیدروژن باعث بهبود محتوای آب نسبی و افزایش پایداری غشا درجهت کاهش نشت یونی گردیده است (Liheng et al., 2009; Wahid et al., 2007). بنابراین عملکرد سیگنالی پراکسید هیدروژن در رشد، توسعه و دفاع گیاهان در برابر تنش‌های محیطی بسیار مهم است (Liheng et al., 2009).

هدف از انجام پژوهش حاضر، مطالعه تأثیر آماده‌سازی بذور با پراکسید هیدروژن در بهبود عملکرد دو رقم مختلف از گندم (نان و دوروم) تحت شرایط دیم بود. در این بررسی برخی تغییرات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و آناتومیک ایجاد شده ناشی از کاربرد پراکسید هیدروژن مورد مطالعه قرار گرفت تا درک بهتری از اثرهای

اندازه‌گیری صفات آناتومیکی توسط نرم‌افزار دوربین محاسبه گردید.

توسط میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین Dino-eye مدل AM423 با بزرگنمایی ۴۰× شیئی و ۱۰× چشمی تصویر تهیه شد و

جدول ۱- خصوصیات شیمیایی خاک محل آزمایش
Table 1- Chemical properties of the soil 2014-2015

جنس خاک Soil texture	عمق خاک Soil depth (cm)	Zn (ppm)	Cu (ppm)	Mn (ppm)	Fe (A. P)	K (ppm)	P (ppm)	N%	C%	PH	EC
لومی رسی Loamy clay	0-30	1.08	0.63	7.96	6.16	590	7	0.18	1.83	7	0.3

جدول ۲- میزان بارندگی (mm) ماهانه در سال زراعی ۹۴-۱۳۹۳
Table 2- Amount of rainfall (mm) monthly rainfall during growing season 2014-2015

مهر September	آبان October	آذر November	دی December	بهمن January	اسفند February	فروردین March	اردیبهشت April	خرداد May
50.2	88.8	38	34.7	23.4	78.5	47.1	19	-

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از محاسبه کاهش جذب پراکسید هیدروژن در ۲۴۰ نانومتر (Velikova et al., 2000) انجام شد. در سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (Nakano and Asada, 1981) از تغییرات جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر و پس از ۲ دقیقه انجام واکنش آنزیمی محاسبه شد. فعالیت آنزیم به‌صورت واحد آنزیمی برحسب طول موج گزارش گردید. تجزیه‌های آماری داده‌های آزمایش با استفاده از نرم‌افزارهای SAS و MSTAT-C انجام و روش مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار LSD بود.

نتایج و بحث

بر اساس داده‌های آماری هواشناسی میزان کل بارندگی در فصل زراعی ۹۴-۱۳۹۳، ۳۷۹ میلی‌متر بود. ساقه رفتن در هر دو رقم گندم در اسفند ماه شروع گردید که میزان بارش در این ماه در حدود ۷۸ میلی‌لیتر بود. گلدهی و تشکیل دانه در نهایت دوره پر شدن دانه در هر دو رقم در ماه‌های فروردین، اردیبهشت و خرداد آغاز و ادامه یافت. میزان کل بارندگی در این سه ماه ۶۶ میلی‌متر بود با در نظر داشتن اینکه در دو ماه اردیبهشت و خرداد میزان بارندگی ۱۹ میلی‌لیتر بود. بنابراین مرحله پر شدن دانه مصادف با تنش کمبود آب بود. اثر رقم بر صفات آناتومیکی شامل قطر و مساحت آوند چوبی، مساحت غلاف آوندی و اپیدرم بالا و همچنین بر صفات فیزیولوژیکی شامل مساحت برگ، وزن خشک بوته، کلروفیل b، لوله شدن برگ، طول و تعداد روزنه، میزان آنزیم کاتالاز، تعداد دانه در سنبله و عملکرد دانه از نظر آماری معنی‌دار بود (جدول‌های ۳ و ۴).

اندازه‌گیری مقادیر کلروفیل a، b و کارتنوئید به روش (Lichtenthaler and Wellburn, 1983) و براساس فرمول‌های زیر محاسبه شدند:

$$\text{Chlorophyll a } (\mu\text{g/ml}) = 12.21(A663) - 2.81(A646) \quad (1)$$

$$\text{Chlorophyll b } (\mu\text{g/ml}) = 20.13(A646) - 5.03(A663) \quad (2)$$

$$\text{Car} = [(1000A470 - 1.8 \text{ Chl.a} - 85.02 \text{ Chl.b}) / 198] \quad (3)$$

جهت اندازه‌گیری تعداد و طول روزنه‌های برگ پرچم نمونه‌های برگ از محلی یکسان در هر گیاه انتخاب و نمونه‌گیری از روزنه‌ها در نقاط یکسان از سطح رویی برگ پرچم انجام گردید (Tear et al., 1971). جهت اندازه‌گیری طول روزنه‌ها از یک عدسی چشمی مجهز به یک خط‌کش میکرومتر استفاده شد و طول روزنه‌ها در مساحت ۰/۰۲۳۴ میلی‌متر مربع اندازه‌گیری شد. جهت به‌دست آوردن مساحت برگ (LA) نمونه‌های برگ (برای هر تیمار ۴ عدد برگ در نظر گرفته شد) که بر روی کاغذ A4 چسبانده شده بودند اسکن شده و پس از آنالیز تصاویر مربوط به برگ‌ها توسط نرم‌افزار Scion Image، مساحت برگ‌ها بر حسب سانتی‌متر مربع محاسبه و ثبت شد. برای تعیین محتوای آب نسبی به روش (Diaz-Perez et al., 2006) از هر تیمار سه برگ پرچم نمونه‌برداری و با استفاده از رابطه زیر محتوای آب نسبی برگ محاسبه گردید:

$$\text{RWC} = (\text{FW} - \text{DW}) / (\text{TW} - \text{DW}) \times 100 \quad (4)$$

در معادله بالا RWC، محتوای آب نسبی؛ FW، وزن تر؛ DW، وزن خشک؛ TW، وزن اشباع است.

جهت اندازه‌گیری نشت یونی به روش (Flinet et al., 1966) از برگ پرچم نمونه‌برداری انجام گرفت. میزان نشت یونی با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\frac{\text{EC}_1}{\text{EC}_2} \times 100 \quad (5)$$

جدول ۴- تجزیه واریانس (میانگین مریعات) داده‌های مربوط به صفات گندم
Table 4- The mean square variance analysis of data on wheat triats

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی d.f	Xylem Vessel		Phloem Vessel		مساحت		Area		ایپدرم پایین lower epidermis
		قطر Diameter	مساحت Area	قطر Diameter	مساحت Area	مزوفیل mesophyll	غلاف آوندی Bundle sheet	ایپدرم بالا Upper epidermis	ایپدرم پایین lower epidermis	
تکرار Rep	2	0.1 ^{ns}	2.5 ^{ns}	0.09 ^{ns}	1 ^{ns}	43 ^{ns}	6.1 ^{ns}	107 ^{ns}	138 ^{ns}	
ژنوتیپ Genotype	1	9 ^{**}	5104 ^{**}	0.1 ^{ns}	4.5 ^{ns}	16 ^{ns}	337 ^{**}	4845 [*]	108 ^{ns}	
پراکسید هیدروژن H ₂ O ₂ × Genotype	3	6 ^{**}	1606 ^{**}	1.5 ^{**}	45 ^{**}	1677 ^{**}	169 ^{**}	6009 ^{**}	9559 [*]	
ژنوتیپ × پراکسید هیدروژن H ₂ O ₂ × Genotype	3	0.8 ^{ns}	146 ^{ns}	0.2 ^{**}	9.3 ^{**}	1170 ^{ns}	64 ^{ns}	1663 ^{ns}	1710 ^{**}	
خطا Error	14	0.6	171	0.04	1.3	455	24	601	396	
ضریب تغییرات % C.V	-	7	13	5	9	5	7	7	6	

و * به ترتیب نشان‌دهنده اثر معنی‌دار منبع تغییر مربوطه در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد هستند. ns نشان‌دهنده معنی‌دار نبودن اثر منبع تغییر مربوطه است.

*، ** Significant at 5% and 1% probability level, respectively, ns Nonsignificant

نتایج این آزمایش نشان داد که رقم ساجی نسبت به کراس سلان از اندازه قطر و مساحت آوند چوبی، مساحت سلول‌های غلاف آوندی و اپیدرم بالا، مساحت سطح برگ، وزن خشک، تعداد دانه در سنبله بیشتری برخوردار بود (جدول ۵).

جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مریعات) داده‌های مربوط به صفات گندم
Table 3- The mean square variance analysis of data on wheat traits

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی d.f	محتوای آب نسبی RWC	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کارنوئید Carotenoid	مساحت برگ Flag leaf area	وزن تر پسته Fresh weight	وزن خشک پسته Dry weight	لوله شدن برگ Leaf rolling	دانه در سنبله Number of grains per spike	عملکرد دانه Grain yield	نشت یونی Electrolite leakage	کاتالاز Catalase	اسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase	طول Length	تعداد Number	روزنه Stomata
تکرار Rep	2	1 ^{ns}	2.2 ^{ns}	0.2 ^{ns}	0.02 ^{ns}	0.01 ^{ns}	0.04 ^{**}	0.006 [*]	28 ^{ns}	206 ^{ns}	37 ^{ns}	0.00007 ^{ns}	0.00006 ^{ns}	0.7 ^{ns}	0.2 ^{ns}	0.2	
ژنوتیپ Genotype	1	54 [*]	0.09 ^{ns}	1.2 [*]	0.7 ^{ns}	2.9 [*]	0.6 ^{ns}	0.5 ^{**}	0.08 ^{**}	665 ^{**}	2166 ^{**}	112 ^{ns}	0.00002 [*]	0.002 ^{ns}	45 ^{**}	42 ^{**}	
پراکسید هیدروژن H ₂ O ₂ × Genotype	3	175 [*]	41 ^{**}	8.6 ^{**}	1.9 ^{**}	3.2 ^{**}	4.2 ^{**}	0.3 ^{**}	0.02 ^{**}	185 ^{**}	5448 ^{**}	474 ^{**}	0.0001 ^{**}	0.004 ^{**}	6 ^{**}	2.5 ^{**}	
ژنوتیپ × پراکسید هیدروژن H ₂ O ₂ × Genotype	3	111 ^{**}	0.5 ^{ns}	1.6 ^{**}	0.2 ^{ns}	1 ^{ns}	0.1 ^{ns}	0.01 ^{ns}	0.005 [*]	28 ^{ns}	3241 ^{**}	65 ^{ns}	0.00003 [*]	0.005 ^{**}	5 ^{**}	2.3 ^{**}	
خطا Error	14	0.5	1.1	0.2	0.1	0.4	0.1	0.01	0.001	11	236	39	0.000005	0.0007	0.6	0.1	
ضریب تغییرات % C.V	-	4	5	8	6	10	5	3	7	8	8	11	25	24	3	4	

و * به ترتیب نشان‌دهنده اثر معنی‌دار منبع تغییر مربوطه در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد هستند. ns نشان‌دهنده معنی‌دار نبودن اثر منبع تغییر مربوطه است.

*، ** Significant at 5% and 1% probability level, respectively, ns Nonsignificant

کاربرد پراکسید هیدروژن با غلظت ۸۰ میلی مولار موجب افزایش قطر و مساحت آوند چوبی (به ترتیب ۳۳ و ۴۹ درصد)، قطر و مساحت آوند آبکش (به ترتیب ۴۰ و ۷۹ درصد)، مساحت سلول‌های مزوفیل (۳۶ درصد)، مساحت سطح برگ (۳۴ درصد)، وزن تر بوته (۲۹ درصد)، کلروفیل a (۵۰ درصد)، کلروفیل b (۵۶ درصد)، کارنتوئید (۲۲ درصد)، تعداد دانه در سنبله (۴۰ درصد)، عملکرد دانه (۴۹ درصد) در مقایسه با شاهد گردید (جدول ۶).

استفاده از غلظت ۵۰ میلی مولار پراکسید هیدروژن باعث افزایش مساحت سلول‌های غلاف آوندی (۱۹ درصد)، مساحت سلول‌های اپیدرم بالا (۲۵ درصد) و پایین (۳۴ درصد)، وزن خشک بوته (۲۵ درصد) و همچنین کاهش میزان نشت یونی (۳۲ درصد) نسبت به شاهد شد. هر سه غلظت پراکسید هیدروژن به‌طور یکسان باعث افزایش ۱۲ درصدی میزان محتوای آب نسبی نسبت به شاهد شد (جدول ۶).

پراکسید هیدروژن به‌صورت معنی‌داری ژنوتیپ‌های گندم را تحت تأثیر قرار داد. پراکسید هیدروژن در هر کدام از ژنوتیپ‌های مورد مطالعه تغییرات مختلفی را بر صفات آناتومیکی، فیزیولوژیکی و عملکرد دانه داشت. صفات اندازه‌گیری شده قطر و مساحت آوند آبکش، مساحت اپیدرم پایین، محتوای آب نسبی، کلروفیل b، میزان لوله‌ای شدن برگ، طول و تعداد روزنه، میزان آنزیم کاتالاز و آسکوربات، عملکرد دانه تحت تأثیر معنی‌دار اثر متقابل ژنوتیپ در غلظت پراکسید هیدروژن قرار گرفت (جدول‌های ۳ و ۴). پیش تیمار بذر با پراکسید هیدروژن با غلظت ۸۰ میلی مولار نسبت به سایر غلظت‌ها بیشترین تأثیر را بر افزایش قطر و مساحت آوند آبکش در هر دو ژنوتیپ کراس سیلان و ساجی داشت (جدول ۷). قطر آوند آبکش در کراس سیلان و ساجی تحت تأثیر غلظت ۸۰ میلی مولار نسبت به شاهد به ترتیب ۶۰ و ۲۱/۲۱ درصد افزایش یافت. کاربرد پراکسید هیدروژن با غلظت ۵۰ میلی مولار مساحت سلول‌های اپیدرم پایین گندم ساجی و گندم کراس سیلان را به ترتیب ۳۶ و ۳۲ درصد نسبت به شاهد افزایش داد. بیشترین تأثیر افزایش پراکسید هیدروژن با غلظت ۸۰ میلی مولار بر میزان محتوای آب نسبی رقم ساجی بود که باعث افزایش میزان محتوای آب نسبی در حدود ۲۲/۷ درصد نسبت به شاهد شد و در رقم کراس سیلان پراکسید هیدروژن نسبت به شاهد تأثیر معنی‌داری بر میزان محتوای آب نسبی نداشت. کاربرد غلظت ۸۰ میلی مولار پراکسید هیدروژن باعث افزایش میزان کلروفیل b در کراس سیلان و ساجی به ترتیب در حدود ۱۶/۶ و ۱۰۰ درصد نسبت به شاهد شد (جدول ۷). آماده‌سازی بذر با پراکسید هیدروژن میزان لوله‌ای شدن برگ را کاهش داد. کاربرد پراکسید هیدروژن با غلظت ۵۰ میلی مولار میزان لوله‌ای شدن در رقم ساجی را ۳۲ درصد و در کراس سیلان ۱۵ درصد نسبت به شاهد کاهش داد. میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز گندم ساجی تحت تأثیر کاربرد

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر ژنوتیپ بر صفات آناتومیکی برگ
Table 5- Comparisons means of anatomical leaf Genotype

ژنوتیپ Genotype	تعداد دانه در سنبله Number of grains per spike	وزن خشک بوته Dry weight (g)	مساحت برگ پرچم Flag leaf area (cm ²)	مساحت اپیدرم بالا Upper epidermis area (μm ²)	مساحت غلاف آوندی Bundle sheath area (μm ²)	مساحت آوند چوبی Xylem Vessel area (μm ²)	قطر آوند چوبی Xylem Vessel diameter (μm)
ساجی Saji	43a	2.9a	6a	352a	67a	113a	11 a
کراس سیلان Cross Sabalan	33b	2.6b	5b	324b	59b	84b	10 b

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است (LSD=۰/۰۵).

Means in each column followed by similar letters are not significantly different at 0.05 probability level, using LSD (Least Significant Difference) Range test.

(۰/۹۷)، همبستگی مثبت و معنی‌دار اندازه آوند آبکش رقم ساجی با تعداد دانه در سنبله (۰/۹۹)، وزن تر (۰/۹۹) و خشک (۰/۹۸) بوته، کلروفیل a (۰/۹۷) و کارتنوئید (۰/۹۷)، همبستگی منفی و معنی‌دار آوند آبکش رقم ساجی با تعداد روزنه در واحد سطح (۰/۹۵) و نشت یونی (۰/۹۴)، افزایش در اندازه آوند آبکش توسط پراکسید هیدروژن می‌تواند در افزایش وزن دانه مؤثر باشد.

غلاف آوندی در برگ لایه فشرده اطراف سیستم آوندی و ارتباط‌دهنده بین آوندها و سلول‌های مزوفیل و نقطه کنترل حیاتی برای تأمین آب و املاح سلول‌های برگ است (Fitter and Hay, 1974; Giles et al., 2002). این سلول‌ها به‌عنوان بافر برای کربوهیدرات‌ها و مالات بین مزوفیل و آوند آبکش عمل می‌کند به‌خصوص زمانی که ظرفیت فتوسنتزی منبع بیش از تقاضای مخزن باشد (Koroleva et al., 2000). تحت تأثیر پراکسید هیدروژن اندازه این سلول‌ها افزایش یافت و بین اندازه این سلول‌ها در رقم ساجی با وزن تر (۰/۹۶) و خشک (۰/۹۶) بوته، اندازه سلول‌های اپیدرم بالا (۰/۹۷) و پایین (۰/۹۷)، در رقم کراس سیلان با مساحت برگ (۰/۹۴) همبستگی مثبت و معنی‌دار وجود داشت. سلول‌های مزوفیل در مقایسه با غلاف آوندی بیشتر تحت تأثیر تنش خشکی آسیب می‌بینند (Hsiao et al., 1984) و در اثر تنش خشکی اندازه این سلول‌ها و فضای بین سلولی آنها کاهش می‌یابد (Mediavilla et al., 2001) که در نهایت موجب کاهش سرعت فتوسنتز می‌گردد (Costock and Sperry, 2000) در حالی‌که کاربرد پراکسید هیدروژن باعث بزرگتر شدن این سلول‌ها گردید و بین اندازه سلول‌های مزوفیلی رقم کراس سیلان با طول روزنه (۰/۹۹) و عملکرد دانه (۰/۹۷)، رقم ساجی با سلول‌های اپیدرم بالا (۰/۹۷) و میزان آسکوربات پراکسیداز (۰/۹۴) همبستگی مثبت و معنی‌دار وجود داشت.

تغییر در اندازه و شکل سلول‌های اپیدرمی در برگ می‌تواند نفوذ نور را به داخل سلول‌های مزوفیل تسهیل بخشد. در شرایط تنش خشکی اندازه این سلول‌ها کوچکتر می‌شود اما براساس نتایج این پژوهش پراکسید هیدروژن باعث بزرگتر شدن اندازه این سلول‌ها نسبت به شاهد گردید. فتوسنتز نقش مهمی در تعیین تولید محصول در همه گیاهان دارد و به‌طور مستقیم تحت تأثیر تنش خشکی قرار می‌گیرد. سرعت فتوسنتز برگ‌ها به دلیل کاهش سطح برگ (Pettigrew, 2004) تحت شرایط کمبود آب کاهش می‌یابد (Lawlor and Cornic, 2002). بنابراین می‌توان گفت که احتمالاً سرعت فتوسنتز تحت تأثیر کاربرد پراکسید هیدروژن به دلیل افزایش سطح برگ و میزان وزن خشک بوته (Yuwono et al., 2005) افزایش یافته است و از طرفی در این بررسی بین اندازه مساحت سطح برگ رقم کراس سیلان با سلول‌های وزن خشک بوته (۰/۹۸) و عملکرد دانه (۰/۹۹) همبستگی مثبت و معنی‌دار مشاهده شد.

پراکسید هیدروژن با غلظت ۲۵ میلی‌مولار و در گندم کراس سیلان با غلظت ۸۰ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. کاربرد پراکسید هیدروژن با غلظت ۸۰ میلی‌مولار میزان فعالیت آنزیم کاتالاز را در گندم ساجی و گندم کراس سیلان نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش داد (جدول ۷). عملکرد دانه در گندم کراس سیلان و ساجی تحت تأثیر پراکسید هیدروژن با غلظت ۸۰ میلی‌مولار افزایش بیشتری داشت. در رقم کراس سیلان عملکرد دانه تحت تأثیر غلظت ۸۰ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن در حدود ۹۹ درصد و در رقم ساجی حدود ۹ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت (جدول ۷).

بررسی‌های انجام شده در این تحقیق نشان داد که پیش‌تیمار بذر با پراکسید هیدروژن از طریق تغییرات مثبت در خصوصیات آناتومیکی و فیزیولوژیکی ارقام باعث افزایش میزان عملکرد دانه در واحد سطح شد. سیستم دستجات آوندی شامل آوند چوبی و آبکش در انتقال مواد مختلف نقش دارند. آوند چوبی مهمترین مسیر انتقال آب، مواد غذایی و سیگنال‌های هورمونی از ریشه به دیگر اندام‌هاست و علاوه بر این تغییرات اندازه آوند چوبی نقش مهمی در سازگاری به شرایط نامطلوب محیطی دارد (Dat et al., 2000). در اثر تنش خشکی قطر آوند چوبی کاهش می‌یابد که ممکن است در سازگاری گیاهان به تنش نقش داشته باشد اما باعث کاهش هدایت هیدرولیکی آوند می‌شود (Martre and Durand, 2001). قطر و مساحت آوند چوبی تحت تأثیر پراکسید هیدروژن افزایش یافت که این تغییر می‌تواند نقش کلیدی در تعیین سرعت جریان مواد داشته باشد (Martre and Durand, 2001). با توجه به همبستگی مثبت و معنی‌دار بین آوند چوبی رقم ساجی با اندازه سلول‌های مزوفیلی (۰/۹۵)، قطر (۰/۹۵) و مساحت آوند آبکش (۰/۹۹)، وزن خشک بوته (۰/۹۷)، وزن تر بوته (۰/۹۷)، کلروفیل a (۰/۹۸) و کارتنوئید (۰/۹۶) و تعداد دانه در سنبله (۰/۹۵)، همبستگی مثبت و معنی‌دار آوند چوبی رقم کراس سیلان با کلروفیل a (۰/۹۹)، مقدار آنزیم آسکوربات پراکسیداز (۰/۹۷) و کاتالاز (۰/۹۹) در این پژوهش، بنابراین می‌توان چنین نتیجه گرفت که احتمالاً وجود آوندهای چوبی با قطر و مساحت بزرگتر می‌تواند برای برنامه‌های به‌نژادگران به هدف بهبود تحمل تنش خشکی مفید باشد که نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد. مقدار مواد فتوسنتزی که در واحد زمان از سطح مقطع عرضی آوند آبکش حرکت می‌کند، تحت تأثیر سطح مقطع یا قطر آوند که ممکن است سرعت انتقال مواد را محدود سازد (Chartzoulakis et al., 2002)، قرار گیرد. قطر آوند آبکش وابسته به sinkهای مرتبط با آنها می‌باشد (Flexas and Medrano, 2002) که می‌تواند به‌عنوان یک فاکتور محدودکننده در اندازه دانه‌های این ارقام مؤثر باشد. بنابراین با توجه به همبستگی مثبت بین اندازه آوند آبکش رقم کراس سیلان با تعداد دانه در سنبله (۰/۹۶)، کارتنوئید (۰/۹۵)، وزن تر بوته (۰/۹۴) و اندازه سلول‌های مزوفیلی

جدول ۷- نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ در غلظت پراکسید هیدروژن بر صفات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و عملکرد دانه
Table 7- Compares the average interaction Genotype×hydrogen peroxide on biochemical, physiological and grain yield

عملکرد دانه Grain yield (gr.m ⁻²)	کاتالاز catalase	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase	تعداد روزنه Number stomata	طول روزنه Length stomata (um)	شکل Leaf rolling	لوله ای	کلروفیل Chlorophyll b	محتوای آب نسبی RWC	مساحت اپیدرم پایین (um ²) lower epidermis area	مساحت آوند ایگس (um ²) Phloem Vessel area	قطر آوند ایگس (um) Phloem Vessel diameter
SJ10	0.004bc	0.07c	12a	19c	0.56a	4c	66c	275d	9 e	3.3d	
SJ25	0.01 a	0.16 a	10 c	19 c	0.39 c	6 c	87 a	326 bc	11 d	3.8 C	
SJ50	0.01a	0.14ab	11b	20c	0.38c	5d	78b	376a	12cd	3.8c	
SJ80	0.01 a	0.1bc	10 c	20 c	0.43 c	8 a	83 ab	354 ab	13bc	4bc	
CS	0.002c	0.06c	9d	20c	0.6a	6c	78b	290d	6.6f	2.8e	
CS	0.007 ab	0.08 c	8 e	24 a	0.5 b	6 c	79 b	341 b	14ab	4.2 ab	
CS ²⁵	0.007 ab	0.08 c	7f	23ab	0.5b	6c	85ab	384a	12 cd	4bc	
CS ⁵⁰	0.01 a	0.15a	9 d	22 b	0.6a	7 b	84ab	299 cd	15a	4.5a	

جدول ۶- نتایج مقایسه میانگین اثر غلظت پراکسید هیدروژن بر صفات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و عملکرد دانه
Table 6- Mean values effect of hydrogen peroxide on biochemical, physiological and grain yield

عملکرد دانه (gr.m ⁻²) Grain yield	تعداد دانه در سنبله در spike Number of grains per spike	کاتالاز catalase	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase	تعداد روزنه Number stomata	طول روزنه Length stomata	لوله ای Leaf rolling	کلروفیل Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کارنوئید carotenoid	وزن خشک Dry weight	وزن تازه Fresh weight	مساحت area	مساحت area		مساحت area	قطر diameter	مساحت area	قطر diameter	مساحت area	قطر diameter	
													مساحت area	قطر diameter							
0	141c	3.0b	0.003c	10a	19c	0.58a	14c	5c	5b	2.4c	60bc	4b	65a	72c	282c	299c	56b	314c	7c	3c	79c
25	176b	4.0a	0.009b	9cb	21ab	0.47c	18b	6.4b	7a	2.8b	63ab	6a	49b	81b	333b	338b	67a	395b	13ab	4ab	94bc
50	202a	3.9a	0.01ab	9c	22a	0.4c	18b	5.9c	6a	3a	59c	6a	44b	83a	380a	376a	67a	423a	12b	3.9b	102ab
80	206a	4.2a	0.01a	9.5b	21b	0.5b	7.8a	7a	6a	2.9a	64a	6a	51b	83a	326b	339b	62ab	428a	14a	4.2a	118a

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵٪ است (LSD=۰.۰۵).
Means in each column followed by similar letters are not significantly different at 0.05 probability level, using LSD (Least Significant Difference) Range test.

کلروفیل و کارتنوئیدها نقش مهم و مؤثری در پاسخ گیاه به تنش خشکی و نیز افزایش مقاومت آن به تنش دارند (Jaleel *et al.*, 2009) و افزایش میزان کلروفیل می‌تواند به‌عنوان مکانیسمی جهت مقاومت گیاه در برابر تنش محسوب گردد (Izanloo *et al.*, 2008). در این تحقیق میزان کلروفیل و کارتنوئید در هر دو رقم ساجی و کراس سیلان تحت تأثیر کاربرد پراکسید هیدروژن افزایش یافت. کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز از مهمترین آنزیم‌های از بین‌برنده پراکسید هیدروژن به‌شمار می‌آیند. کاهش فعالیت این آنزیم‌ها در رقم ساجی و کراس سیلان می‌تواند سبب تجمع پراکسید هیدروژن شود که علاوه بر اجرای واکنش هابر-ویز، سبب کاهش فعالیت برخی از آنزیم‌های چرخه کالوین نظیر ریبولوز مونو فسفات کیناز و بی‌فسفاتازها نیز می‌گردد (Asada, 2000). کاهش فعالیت آنزیم‌های مذکور شدت آسیب‌های وارده به بیومولکول‌های حیاتی سلول را افزایش می‌دهد. کاربرد پیش‌تیمار پراکسید هیدروژن باعث افزایش میزان فعالیت این آنزیم‌ها گردید و در نتیجه با جلوگیری از خسارت به غشاءها میزان نشت یونی را کاهش داد.

محتوای نسبی آب برگ اغلب به‌عنوان جایگزینی برای اندازه‌گیری وضعیت آب گیاه در نظر گرفته می‌شود (Seghatoleslami *et al.*, 2008). پراکسید هیدروژن باعث حفظ محتوی آب نسبی برگ شد و بیشترین تأثیر کاربرد پراکسید هیدروژن بر حفظ محتوی نسبی آب برگ در رقم ساجی نسبت به کراس سیلان بود.

لوله شدن برگ، یک سازگاری مورفوفیزیولوژیک در گیاهان زراعی برای اجتناب از تنش‌های خشکی، گرما، بیماری و کمبود مواد غذایی است (Sarieva *et al.*, 2010) که در طی تنش خشکی باعث کاهش سطح برگ مؤثر و همچنین کاهش ترقق از طریق بسته شدن روزنه‌ها می‌شود که در نتیجه با کاهش ورود CO₂ به داخل سلول باعث کاهش فتوسنتز می‌شود (Abd Allah, 2009). اعتقاد بر این است که لوله شدن برگ در اثر کاهش میزان تورژسانس و عدم توانایی گیاه در ایجاد تنظیم اسمزی به‌وجود می‌آید و تأخیر در لوله شدن برگ نشانه توانایی گیاه در حفظ تورژسانس برگ و نشانه اجتناب از بروز پسابیدگی در برگ می‌باشد (Hsiao *et al.*, 1984). کاربرد پراکسید هیدروژن میزان لوله شدن برگ را در ساجی و کراس سیلان به دلیل حفظ محتوای آب نسبی بیشتر کاهش داد. همچنین بین میزان لوله شدن برگ رقم کراس سیلان با تعداد روزنه (۰/۹۹) همبستگی مثبت و معنی‌دار و رقم ساجی با اندازه سلول‌های غلاف آوندی (۰/۹۹)، اپیدرم بالا (۰/۹۸) همبستگی منفی و معنی‌دار و با میزان نشت یونی (۰/۹۷) همبستگی مثبت و معنی‌دار وجود داشت.

اثرهای تنش خشکی بر فتوسنتز پیچیده است که شامل بسته شدن روزنه‌ها و ممانعت از فعالیت‌های متابولیکی مانند سنتز ریبولوز بی‌فسفات و سنتز آدنوزین تری‌فسفات می‌گردد. مقدار آب سلول

میزان باز بودن روزنه و هدایت روزنه‌ای را که به‌طور مستقیم انتشار CO₂ و تثبیت کربن فتوسنتزی به عهده دارد را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در اثر کمبود آب، میزان فتوسنتز به دلیل بسته شده روزنه‌ها می‌یابد. روزنه‌ها در جلوگیری از تلفات آب در گیاه، سهم زیادی دارند و کنترل‌کننده اصلی تبادلات گازی بین سلول‌های برگ و هوا می‌باشند. علی‌رغم این که تعداد روزنه در واحد سطح از ویژگی‌های یک گونه گیاهی می‌باشد، اما این صفت تحت تأثیر شرایط محیطی نیز قرار می‌گیرد (Miller, 1983). کاهش تراکم روزنه می‌تواند به افزایش مقاومت به خشکی منجر شود (Miskin *et al.*, 1972). در شرایطی که میزان آب کافی در دسترس گیاه باشد، در مقایسه با شرایطی که گیاه تحت تنش خشکی قرار می‌گیرد، تراکم روزنه‌ها کمتر است (Van *et al.*, 1935). کاهش سطح برگ دلیل افزایش تعداد روزنه در واحد سطح برگ تحت شرایط خشکی است (Blum *et al.*, 1981). گندم ساجی نسبت به کراس سیلان از مساحت سطح برگ کمتر و در نتیجه تعداد روزنه بیشتری در واحد سطح برگ برخوردار بود. همچنین طول روزنه در رقم ساجی نسبت به کراس سیلان کمتر بود. تعداد روزنه در رقم ساجی با اندازه آوند آبکش (۰/۹۵) و آوند چوبی (۰/۹۴)، کلروفیل a (۰/۹۸)، کلروفیل b (۰/۹۹) و در رقم کراس سیلان با مساحت سلول‌های اپیدرم پایین (۰/۹۹) همبستگی منفی و معنی‌داری در حالی که تعداد روزنه در رقم کراس سیلان با میزان نشت یونی (۰/۹۹) همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت.

تعداد دانه در واحد سطح یکی از مهم‌ترین اجزای مؤثر در تغییرات عملکرد دانه گندم و در واکنش به تغییرات شرایط محیطی به‌ویژه بروز تنش خشکی در مرحله قبل از گرده‌افشانی است (Entz and Flower, 1990). بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه کاربرد پراکسید هیدروژن باعث افزایش تعداد دانه در سنبله نسبت به شاهد شد (جدول ۶). در رقم کراس سیلان تعداد دانه در سنبله با قطر (۰/۹۶) و مساحت (۰/۹۶) آوند آبکش، وزن تر بوته (۰/۹۹) همبستگی مثبت و معنی‌دار و در رقم ساجی تعداد دانه در سنبله با مساحت آوند چوبی (۰/۹۵)، قطر (۰/۹۹) و مساحت (۰/۹۶) آوند آبکش، وزن تر (۰/۹۶) و خشک (۰/۹۶) بوته، کلروفیل a (۰/۹۷)، کلروفیل b (۰/۹۷)، کارتنوئید (۰/۹۶) همبستگی مثبت و معنی‌دار و با تعداد روزنه در واحد سطح (۰/۹۸) همبستگی منفی و معنی‌دار وجود داشت.

در شرایط تنش خشکی عملکرد محصول کاهش می‌یابد در حالی که پیش‌تیمار پراکسید هیدروژن باعث کاهش اثرات تنش و در نهایت افزایش عملکرد گردید (جدول ۷). کاربرد پراکسید هیدروژن بیشترین تأثیر را بر عملکرد دانه رقم کراس سیلان نسبت به ساجی داشت. بنابراین با توجه به وجود همبستگی مثبت و معنی‌دار بین اندازه سلول‌های مزوفیل (۰/۹۷)، مساحت برگ پرچم (۰/۹۹) و وزن خشک

آب قابل دسترس گیاه که در نهایت برای حصول عملکرد بالا ضروری است، اهمیت دارد. نتایج این تحقیق نشان داد که غلظت ۸۰ میلی مولار پراکسید هیدروژن به عنوان یک پیش تیمارکننده بذر از طریق اثرات مثبت بر خصوصیات آناتومیکی و فیزیولوژیکی می تواند موجب افزایش عملکرد دانه گندم دوروم ساجی و گندم نان کراس سیلان تحت شرایط دیم گردد.

بوته (۰/۹۶) در رقم کراس سیلان با عملکرد دانه، کاربرد پراکسید هیدروژن در این رقم از طریق کاهش اثرات سوء تنش کم آبی بر سلول های مزوفیل، برگ پرچم و وزن خشک بوته نسبت به سایر صفات مورد مطالعه توانسته بیشترین تأثیر را در افزایش میزان عملکرد دانه داشته باشد.

نتیجه گیری

بهبود صفات آناتومیکی و فیزیولوژیکی در شرایط دیم و کمبود

References

1. Abd Allah, A. A. 2009. Genetic studies on leaf rolling and some root traits under drought conditions in rice (*Oryza sativa* L.). African Journal of Biotechnology 8: 6241-6248.
2. Asada, K. 2000. The water-water cycle as alternative photon and electron sinks. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences 355: 1419-1431.
3. Bacelar, E. A., Santos, D. L., Moutinho-Pereira, J. M., Goncalves, B. C., Ferreira, H. F., and Correia, C. M. 2006. Immediate responses and adaptative strategies of three olive cultivars under contrasting water availability regimes: Changes on structure and chemical composition of foliage and oxidative damage. Plant Science 170: 596-605.
4. Blum, A., Gozlan, G., and Mayer, J. 1981. The manifestation of dehydration avoidance in wheat breeding germplasm. Crop Science 21: 495-499.
5. Canny, M. J. 1960. The rate of translocation. Biology Review 35: 507.
6. Chartzoulakis, K., Patakas, A., Kofidis, G., Bosabalidis, A., and Nastou, A. 2002. Water stress affects leaf anatomy, gas exchange, water relations and growth of two avocado cultivars. Scientia Horticulture 95: 39-50.
7. Costock, J. P., and Sperry, J. S. 2000. Theoretical consideration of optimal conduit length for water transport in vascular plants. New Phytologist 148: 195-218.
8. Dat, J. F., Vandendede, F., Vranova, E., Montagu, M. V., Inze, D., and Breusegem, F. V. 2000. Dual action of the active oxygen species during plant stress response. Cellular and Molecular Life 57: 779-95.
9. Diaz-Perez, J. C., Shackel, K. A., and Sutter, E. G. 2006. Relative water content. Annals of Botany 97 (1): 85-96.
10. Entz, M. H., and Flower, D. B. 1990. Differential agronomic responses of winter wheat cultivars to post-anthesis environmental stress. Crop Science 30: 1119-1123.
11. Fitter, A., and Hay, R. 2002. Environmental physiology of plants. Academic press. 367p.
12. Flexas, J., and Medrano, H. 2002. Drought-inhibition of photosynthesis in C3 plants: Stomatal and non-stomatal limitations revisited. Annals of Botany 89: 183-189.
13. Flinet, H. I., Boyce, B. R., and Beattie, D. J. 1966. Index of injury drought a useful expression of freezing injury to plant tissues as determined by the electrolytic method. Canadian Journal of Plant Science 47: 229-230.
14. Giles, K. E., Beardsell, M. F., and Cohen, D. 1974. Cellular and ultracellular changes in mesophyll and bundle sheath cell of maize in response to water stress. Plant physiology 54: 208.
15. Hsiao, T. C., O'Toole, J. C., Yambao, E. B., and Turner, N. C. 1984. Influence of osmotic adjustment on leaf rolling and tissue death in rice. Plant Physiology 75: 328.
16. Hu, Y., Schnyder, H., and Schmidhalter, U. 2000. Carbohydrate accumulation and partitioning in elongating leaves of wheat in response to saline soil conditions. Plant Physiology 27: 363-370.
17. Hung, S. H., Yu, C. W., and Lin, C. H. 2005. Hydrogen peroxide functions as a stress signal in plants. Botanical Bulletin of Academia Sinica 46: 1-10.
18. IZANLOO, A., CONDON, A. G., LANGRIDGE, P., TESTER, M., and SCHNUVBUSCH, T. 2008. Different mechanisms of adaptation to cyclic water stress in two south Australian bread wheat cultivars. Journal of Experimental Botany 59: 3327-3346.
19. Jaleel, C. A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Al-Juburi, H. J., Somasundaram, R., and Panneerselvam, R. 2009. Drought stress plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. International Journal of agriculture and biology 11: 100-105.
20. Jafarian, T., MaghsoudiMoud, A., and Saffari, V. 2012. Water stress effects on winter and spring leaves anatomy of different wheat (*Triticumaestivum* L.) Genotypes. Journal of Plant Physiology and Breeding 2 (2): 23-34.
21. Jafarian, T., MaghsoudiMoud, A., and Saffari, V. 2013. Effect of water stress on anatomical and physiological leaf of two wheat. Journal of crop production and processing 4 (13): 75-85. (in Persian with English abstract).

22. Kathiresan, A., Lafitte, H. R., Chen, J., Mansueto, L., Bruskiwich, R., and Bennett, J. 2006. Gene expression microarrays and their application in drought stress research. *Field Crops Research* 97: 101-110.
23. Koroleva, O. A., Tomos, A. D., Farrar, J., Roberts, P., and Pollock, C. J. 2000. Tissue distribution of primary metabolism between epidermal, mesophyll and parenchymatous bundle sheath cells in barley leaves. *Australian Journal of Plant Physiology* 27: 747-755.
24. Lawlor, M. M., and Cornic, G. 2002. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant Cell Environment* 25: 275-294.
25. Liheng, H., Zhiqiang, G., and Runzhi, L. 2009. Pretreatment of seed with H₂O₂ enhances drought tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *African Journal of Biotechnology* 8 (22): 6151-6157.
26. Lichtenthaler, H. K., and Wellburn, A. R. 1983. Determination of total carotenoids and chlorophyll a and b of leaf extract in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 11: 591-592.
27. Martre, P., and Durand, J. L. 2001. Quantitative analysis of vasculature in the leaves of *Festuca arundinacea* (Poaceae): implications for axial water transport. *International Journal of Plant Sciences* 162: 755-766.
28. Mediavilla, S., Escudero, A., and Heilmeyer, H. 2001. Internal leaf anatomy and photosynthetic resource-use efficiency: interspecific and intraspecific comparisons. *Tree Physiology* 21: 251-259.
29. Miller, E. C. 1983. *Plant physiology*. McGraw-Hill Book Company Inc. New York. U. S. A.
30. Miskin, K. E., Rasmusson, D. C., and Moss, D. N. 1972. Inheritance and physiological effects of stomatal frequency in barley. *Crop Science* 12: 780-783.
31. Nakano, Y., and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplast. *Plant Cell Physiology* 22: 867-880.
32. Pettigrew, W. T. 2004. Physiological consequences of moisture deficit stress in cotton. *Crop Science* 44: 1265-1272.
33. Sairam, R. K., Rao, K. V., and Srivastava, G. C. 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science* 163: 1037-1046.
34. Sairam, R. K., and Tyagi, A. 2004. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Current Science* 86: 407-421.
35. Sarieva, G., Kenzhebaeva, S. S., and Lichtenthaler, H. K. 2010. Adaptation potential of photosynthesis in wheat cultivars with a capability of leaf rolling under high temperature conditions. *Russian Journal of Plant Physiology* 57: 28-36.
36. Seghatoleslami, M. J., Kafi, M., and Majidi, E. 2008. Effect of drought stress at different growth stages on yield and water use efficiency of five proso millet (*Panicum Miliaceum* L.) genotypes. *Pak. Journal Botany* 40 (4): 1427-1432.
37. Sivritepe, H. O., Sivritepe, N., Eris, A., and Turhan, E. 2005. The effects of NaCl pre-treatment on salt tolerance of melons grown under long-term salinity. *Scientia Horticulture* 106: 568-581.
38. Tear, I. D., Peterson, C. J., and Law, A. G. 1971. Size and frequency of leaf stomata in cultivars of *Triticum aestivum* and other *Triticum* species. *Crop Science* 11: 496-498.
39. Van, D. E., Roovaort, E., and Fuller, G. D. 1935. Stomatal frequency in cereals. *Journal of Ecology* 16: 278-279.
40. Velikova, V., Yordanov, I., and Edreva, A. 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain treated bean plants. Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science* 151: 59-66.
41. Wahid, A., and Shabbir, A. 2005. Induction of heat stress tolerance in barley seedlings by pre-sowing seed treatment with glycine betaine. *Plant Growth Regulation* 46: 133-41.
42. Wahid, A., Mubarak, P., Sadia, G., Shahzad, M., and Basrab, A. 2007. Pretreatment of seed with H₂O₂ improves salt tolerance of wheat seedlings by alleviation of oxidative damage and expression of stress proteins. *Journal of Plant Physiology* 164: 283-294.
43. Warren, C. R., Livingston, N. J., and Turpin, D. H. 2004. Water stress decreases the transfer conductance of Douglas-fir (*Pseudotsugamenziesii*). *Tree Physiology* 24: 971-979.
44. Yuwono, T., Handayani, D., and Soedarsono, J. 2005. The role of osmotolerant rhizobacteria in rice growth under different drought conditions. *Australian Journal of Agricultural Research* 56: 715-721.



Evaluating the Effect of Seed Treatment with Hydrogen Peroxide on Anatomical and Physiological Characteristics of Wheat under Dry Condition

T. Jafarian^{1*} - M. J. Zarea²

Received: 17-11-2015

Accepted: 08-08-2016

Introduction

Water deficit is the major abiotic factor limiting plant growth and crop productivity around the world. In all agricultural regions, yields of rain-fed crops are periodically reduced by drought. Among various strategies, pre-sowing treatment and priming of seeds are easy, low cost, low risk and effective approaches to overcome the environmental stress problems. Various priming strategies include osmopriming, halopriming, hormonal priming or hydropriming, etc. Hydrogen peroxide, a stress signal molecule, was evaluated as seed treatment to produce the metabolic changes, which could lead to improved drought tolerance in wheat. The interaction of signals conferring stress tolerance in accomplishing better crop growth and yield is a priority area of research. Here we report some anatomical, physiological and biochemical changes induced by Hydrogen peroxide during seed treatment and their involvement in conferring drought tolerance upon wheat.

Materials and Methods

A field study was conducted out at the research farm of agricultural collage of Ilam university during 2014-2015 cropping season. This study was aimed to investigate the priming seed with hydrogen peroxide on two wheat genotypes (Cross Sabalan (bread wheat) and Saji (durum wheat)), under dryland farming system condition. Experimental design was factorial, arranged in randomized complete block, with three replications. Two main factors were wheat genotypes and four soaking treatments of seeds with different concentration (zero, 25, 50 and 80 Mm) of Hydrogen Peroxide. Seeds of each genotype were sown at 6 rows of 3 m length with lines space of 20 cm in depth 5 cm. At heading stage physiological traits were measured on selected leaves and then samples were taken to determine leaf area, Leaf rolling, number and length of Stomata on the epidermis, RWC, electrolyte leakage, photosynthetic pigments concentrations (Chla, b and carotenoid) and antioxidant enzyme contents (catalase, ascorbate peroxidase) and at tillering stage Anatomical traits (mesophyll area, bundle sheet area, upper and lower epidermis cells layer and both length and area of xylem and phloem vessels) were measured using image analysis technique by Dino-eyeanalysis software. Data were analyzed based on experimental design model. Means comparison was performed based on LSD test (P 0.05). All calculations were performed using SAS (version 9.1) software.

Results and Discussion

All studied parameters, anatomical, physiological and grain yield, of genotypes were significantly affected by priming seeds with hydrogen peroxide. Positive changes in anatomical and physiological traits in response to hydrogen peroxide increased grain yield in both experimental genotypes. Priming of seeds with hydrogen peroxide produced plants with higher relative water contents, photosynthetic pigments concentrations (Chla, b and carotenoid) and antioxidant enzyme contents (catalase, ascorbate peroxidase) comparing with non-primed seeds. Plants of hydrogen peroxide primed seeds produced higher leaf area, stomata length, fresh and dry weights, and lower rate of electrolyte leakage and leaf rolling comparing to non-primed seeds. Priming seeds with hydrogen peroxide increased mesophyll area, bundle sheet area, upper and lower epidermis cells layer and both length and area of xylem and phloem vessels. Anatomical changing due to hydrogen peroxide priming in enhanced growth and yield of both genotypes was positive since primed plants with hydrogen peroxide had

1- PhD in Crop Physiology , Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran

2- Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran

(*- Corresponding Author Email: j.taiebeh@yahoo.com)

produced higher grain yield compared to non-primed plants. Overall, priming seeds with hydrogen peroxide improved grain yield of both wheat genotypes, especially grain yield of bread wheat Cross Sabalan cultivar.

Conclusions

The anatomical and physiological characteristics improved in dry conditions and lack of available water to the plant is essential for achieving high yield. The results showed that the concentration of 80 Mm hydrogen peroxide as a pre-treatment seed through positive effects on physiological and anatomical features could increase the yield of Saji and cross Sabalan under rain-fed conditions.

Keywords: Grain yield, Mesophyll, Number of grains per spike, Phloemvessel, Xylem vessel