

## بازیابی بذور زوال یافته پنبه و بهبود ویژگی‌های کیفی با استفاده از اسید جیبرلیک

حسن ابراهیمی<sup>۱</sup>، سهیل پارسا<sup>۲</sup>، مجید جامی الاحمدی<sup>۳</sup>، علی راحمی کاریزکی<sup>۴\*</sup> و سید حسین حسینی<sup>۵</sup>

(۱) دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و تکنولوژی بذر، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

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

(۳) دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

(۴) استادیار گروه امور زراعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران.

(۵) دانشجوی دکتری زراعت گروه امور زراعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران.

\*نویسنده مسئول: alirahemi@yahoo.com

این مقاله بر گرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد می‌باشد.

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۱/۲۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۰۲

### چکیده

زوال بذر یکی از عوامل مهم کاهش دهنده بنیه و محدودکننده جوانه‌زنی در بذر می‌باشد. جهت بررسی اثر هورمون جیبرلیک اسید بر پیشگیری از زوال و بهبود ویژگی‌های کیفی در بذور پنبه رقم ورامین آزمایشی به صورت کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل: دو سطح زوال (۴۸ و ۹۶ ساعت) به همراه شاهد، محلول اسید جیبرلیک با دو غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام به همراه شاهد و زمان اعمال تیمار هورمون به سه صورت (قبل از زوال، بعد از زوال و قبل و بعد از زوال) بودند. نتایج نشان داد که در ترکیب‌های تیماری بدون زوال، صفات میزان پراکسیداز، کارتنوئید در غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام، بالاترین مقدار را داشته و صفات کاتالاز و کلروفیل a و b در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام، بیش‌ترین مقدار را داشتند. در اعمال پرایم قبل از زوال، صفت هدایت الکتریکی در غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام، کم‌ترین مقدار را داشت و میزان کاتالاز، پراکسیداز، کلروفیل a و b و کارتنوئیدها در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام در بالاترین مقدار بودند. در اعمال پرایم بعد از زوال، هدایت الکتریکی در غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام، کم‌ترین مقدار را دارا بود و کاتالاز، پراکسیداز، کلروفیل a و b و کارتنوئیدها در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام بیش‌ترین میزان را داشتند. در آزمایش اعمال پرایم در قبل و بعد از زوال، هدایت الکتریکی در غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام پایین‌ترین مقدار را داشته و میزان کاتالاز، پراکسیداز، کلروفیل a و b و کارتنوئیدها در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام، بالاترین مقدار را داشتند. به‌طور کلی در آزمایش‌های انجام شده مصرف اسید جیبرلیک باعث بازیابی و بهبود بذور زوال یافته شد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، پیری تسریع شده و کلروفیل.

## مقدمه

جیبرلین‌ها عضو از خانواده بزرگ و متنوع ترکیبات گیاهی به نام ترپنوئیدها هستند. تاکنون بیش از ۱۲۵ نوع جیبرلین شناسایی شده است که اثر مختلفی روی گیاهان دارند و بارزترین اثر آن‌ها بر گیاهان، طول کردن خیلی زیاد ساقه‌های سالم به‌ویژه در گیاهان پاکوتاه می‌باشد. اسید جیبرلیک در القای جوانه‌زنی و خواب فیزیولوژیک بذر نقش بارزی ایفا می‌کند. اسید جیبرلیک باعث فعال‌سازی متابولیسم، هضم مواد ذخیره‌ای و انتقال به جنین، تقسیم و رشد سلولی شده، همچنین در تنظیم فرآیندهایی مانند رشد ساقه‌چه، گل‌دهی گیاهان دو ساله در سال اول، جوانه‌زنی، بروز جنسیت و پیری نقش به‌سزایی دارد (Najafi et al., 2006). زوال یا پیری بذر یکی از مشکلات عمده در تولید محصولات زراعی است. آمار نشان می‌دهد که سالیانه حدود ۲۵ درصد بذرها، به علت داشتن کیفیت پایین از بین می‌روند (McDonald and Nelson, 1986). این تلفات به ویژه در کشورهای توسعه نیافته و یا کم‌تر توسعه یافته که تجهیزات مناسبی برای خشک کردن و انبارداری بذور ندارند، به مراتب بیشتر است. در اثر زوال بذر، قدرت بذر اولین جزء از کیفیت بذر است که کاهش می‌یابد و به دنبال آن ظرفیت جوانه‌زنی و قوه‌ی نامیه نیز کاهش می‌یابد (McDonald, 1999; Basra et al., 2003; De Figueiredo et al., 2003). در تحقیقی پژوهشگران بیان نمودند که محتوای رطوبتی بذر و همچنین طول مدت انبارداری بذور به مدت شش و ۱۲ ماه بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت اثر دارد (Kong et al., 2015). آگاهی از وقوع بهبود زوال در طی آبنوشی بذر، سبب شده است تا در صنعت بذر، پرایم کردن برای بسیاری از محصولات مورد استفاده قرار گیرد. پرایم کردن بذر شامل هیدراتاسیون بذور با استفاده از دستورالعمل‌های مختلف و سپس خشک کردن بذر به منظور مدیریت معمول آن می‌باشد. افزایش سرعت جوانه‌زنی، یکنواختی بیشتر در سبز شدن، جوانه‌زنی تحت دامنه وسیع‌تری از شرایط محیطی و بهبود بنیه و رشد گیاهچه از مزایای پرایمینگ می‌باشد (Basra et al., 2005; Ajouri et al., 2004; Hardegree and Emmerich, 1994). از جمله موادی که در آزمایش‌های پرایمینگ کاربرد زیادی دارد می‌توان به استفاده از هورمون اسید جیبرلیک اشاره کرد که پاسخ‌های متفاوتی را در گیاهان ایجاد می‌کند. در مطالعه‌ای که توسط Siadat و همکاران (۲۰۱۱) بر بذور زوال یافته ذرت صورت گرفت، پرایمینگ هورمونی بذور با اسید جیبرلیک ۴۰۰ پی‌پی‌ام اثر مثبتی بر جوانه‌زنی بذور زوال یافته داشته و موجب بهبود ویژگی‌های جوانه‌زنی شد. Kapilan (۲۰۱۵)، بذره‌های ذرت را تحت شرایط پیری تسریع شده دردمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۰ درصد به مدت صفر، دو، چهار، شش و هشت ساعت قرار داد و کاهش درصد جوانه‌زنی نهایی و درصد گیاهچه‌های عادی و افزایش متوسط زمان جوانه‌زنی را مشاهده کرد که توأم با کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربیک اکسیداز بود. مهم‌ترین تغییراتی که ضمن زوال در بذر ایجاد می‌شود، شامل واکنش‌های اکسیداسیونی مانند تولید رادیکال‌های آزاد، دهیدروژناسیون آنزیمی و

اکسیداسیون آلدئیدی پروتئین‌ها، همچنین کاهش یکپارچگی و نفوذپذیری غشاء و افزایش نشت الکترولیت‌ها از غشاء تحت تأثیر رادیکال‌های آزاد، تغییر ساختمان مولکولی اسیدهای نوکلئیک و کاهش فعالیت آنزیم‌ها می‌باشد (Janmohammadi *et al.*, 2008). هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر هورمون جیبرلیک اسید بر فرآیندهای پیشگیری و بهبود زوال بذر و شاخص‌های کیفی در بذر پنبه رقم ورامین تحت آزمون پیری تسریع شده می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

این آزمایش در طی سال زراعی ۹۴-۱۳۹۳ در آزمایشگاه گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه تربت حیدریه انجام شد. در این مطالعه از بذر پنبه رقم ورامین، تولید شده در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، بخش کنترل و گواهی بذر و نهال استفاده شد. جهت ایجاد بنیه‌های متفاوت از روش آزمون تسریع پیری به صورت طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار استفاده شد. تیمارهای آزمایشی در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱: تیمارهای آزمایش

علائم اختصاری	تیمارهای آزمایش
d <sub>0</sub> p <sub>0</sub>	بدون زوال و پرایم فقط ضد عفونی و سپس کشت (شاهد)
d <sub>0</sub> p <sub>1</sub>	بدون زوال، پرایم با آب مقطر (شاهد)
d <sub>0</sub> g <sub>1</sub>	بدون زوال، پرایم با ۵۰۰ پی‌پی‌ام جیبرلیک
d <sub>0</sub> g <sub>2</sub>	بدون زوال، پرایم با ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام جیبرلیک
d <sub>1</sub> t <sub>1</sub> p <sub>1</sub>	پرایم با آب مقطر و سپس ۴۸ ساعت زوال
d <sub>1</sub> t <sub>1</sub> g <sub>1</sub>	پرایم با ۵۰۰ پی‌پی‌ام جیبرلیک و سپس ۴۸ ساعت زوال
d <sub>1</sub> t <sub>1</sub> g <sub>2</sub>	پرایم با ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام جیبرلیک و سپس ۴۸ ساعت زوال
d <sub>1</sub> t <sub>2</sub> p <sub>0</sub>	۴۸ ساعت زوال و بدون پرایم و سپس کشت
d <sub>1</sub> t <sub>2</sub> p <sub>1</sub>	۴۸ ساعت زوال و سپس پرایم با آب مقطر و سپس کشت
d <sub>1</sub> t <sub>2</sub> g <sub>1</sub>	۴۸ ساعت زوال و سپس پرایم با ۵۰۰ پی‌پی‌ام جیبرلیک
d <sub>1</sub> t <sub>2</sub> g <sub>2</sub>	۴۸ ساعت زوال و سپس پرایم با ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام جیبرلیک
d <sub>1</sub> t <sub>3</sub> p <sub>1</sub>	پرایم با آب مقطر و ۴۸ ساعت زوال و پرایم مجدد با آب مقطر و سپس کشت
d <sub>1</sub> t <sub>3</sub> g <sub>1</sub>	پرایم با ۲۵۰ پی‌پی‌ام جیبرلیک و ۴۸ ساعت زوال و مجدداً پرایم با ۲۵۰ پی‌پی‌ام جیبرلیک
d <sub>1</sub> t <sub>3</sub> g <sub>2</sub>	پرایم با ۵۰۰ پی‌پی‌ام جیبرلیک و ۴۸ ساعت زوال و سپس پرایم مجدد با ۵۰۰ پی‌پی‌ام جیبرلیک

### آزمون تسریع پیری

در آزمون تسریع پیری بذرها در معرض دما و رطوبت نسبی بالا قرار گرفتند (ISTA, 1999). در طول آزمایش، بذرها از محیط مرطوب، آب جذب کرده و پیری آن تسریع می‌شود. برای انجام این آزمایش بذرها برای دوره‌های ۴۸ و ۹۶ ساعت

در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۱۰۰ درصد قرار گرفتند. بعد از گذشت مدت زمان ۴۸ و ۹۶ ساعت (زمان‌های زوال)، بذور از ظرف‌ها خارج و پس از خشک شدن در دمای محیط به مدت ۲۴ ساعت تیمارهای آزمایشی اعمال گردید. در مرحله پرایم توأم اسید جیبرلیک مجموع هورمون به کار رفته مانند مراحل تک مرحله‌ای بوده و برای غلظت ۵۰۰ هر مرحله ۲۵۰ پی‌پی‌ام و برای غلظت ۱۰۰۰ هر مرحله ۵۰۰ پی‌پی‌ام به کار برده شد.

### آزمون پیری تسریع شده بذره‌های تیمار شده با جیبرلیک اسید (GA)

در این مرحله از آزمایش، بذور طی سه زمان مختلف (قبل، بعد و توأم) به مدت هشت ساعت در دو محلول با غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک قرار گرفتند. برای این کار تعداد ۱۰۵ عدد بذر در بشرهای کوچک ریخته و جیبرلیک اسید با غلظت‌های مختلف به آن اضافه شد تا سطح بذور را بپوشاند. بعد از زمان‌های ذکر شده آزمون تسریع پیری، بذرها از ظروف خارج و پس از خشک شدن، به منظور رشد گیاهچه و کشت در گلدان مورد استفاده قرار گرفتند.

### مطالعه گلخانه‌ای

برای انجام این بخش تعداد ۳۰ عدد بذر برای سه تکرار هر تیمار انتخاب و به گلدان‌ها منتقل شدند. تعداد ۱۰ عدد بذر در گلدان‌های چهار کیلویی با قطر دهانه ۲۰ و ارتفاع ۲۲ سانتی‌متر در عمق ۳ سانتی‌متری و بر اساس آزمون خاک کشت شدند. بافت خاک مورد استفاده بر اساس روش هیدرومتری (Gee and Bauder, 1986) تعیین شد و آبیاری نیز بر اساس ظرفیت زراعی خاک مربوطه و به روش وزنی انجام شد (معصومی و همکاران، ۱۳۸۴). دمای گلخانه در طول مدت آزمایش بین ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد بود. پس از رسیدن به مرحله فنولوژیکی ۸-۶ برگی، اقدام به نمونه‌گیری از برگ‌ها شد و بلافاصله نمونه‌ها به وسیله نیتروژن مایع فریز و سپس به فریزر (دمای ۲۲- درجه سانتی‌گراد) منتقل شدند. سپس برای تعیین برخی از صفات کیفی مورد استفاده قرار گرفتند.

### سنجش فعالیت آنزیم‌ها به روش اسپکتروفتومتری

برای این منظور از دستگاه پیشرفته DESAGA مدل DENSITOMETER CD60 ساخت کشور آلمان برای سنجش فعالیت آنزیم‌ها استفاده شد.

### تهیه عصاره‌ی آنزیمی

یک گرم از بافت تازه گیاهی را در هاون چینی با نیتروژن مایع ساییده و در ۱/۵ میلی‌لیتر از محلولی شامل ۵۰ میلی‌مول تریس اسید کلریدریک با pH= ۷/۲ و پلی‌ونیل فسفات ۰/۲ و یک میلی‌مول Na<sub>2</sub>EDTA و دو میلی‌مول اسکوربات حل شد. سپس محلول با صافی‌های دو لایه صاف شد و محلول حاصله را با دور ۱۲۱۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه و در

دمای چهار درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شد. از محلول تازه رویی برای سنجش کمی و کیفی آنزیم استفاده شد (Chance and Maehly, 1995).

### اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز

فعالیت آنزیم کاتالاز (Chance and Maehly, 1995) بر اساس کاهش مقدار جذب نوری پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) در ۲۴۰ نانومتر و با استفاده از یک منحنی استاندارد انجام پذیرفت. محلول آزمایش شامل بافر فسفات پتاسیم (۲۵ میلی مول با  $pH = 6/8$ ) و پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) به غلظت ۲۰ میلی مول و با افزودن ۵۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی در حجم نهایی یک میلی لیتر مخلوط، واکنش شروع شده و تغییر جذب در ۲۴۰ نانومتر پس از یک دقیقه محاسبه و با منحنی استاندارد، فعالیت ارزیابی و بر حسب واحد میلی گرم پروتئین بیان می شود.

### اندازه گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز

برای اندازه گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز (Koroi, 1989) محلول شامل فسفات پتاسیم (یک میلی مول با  $pH = 7/5$ ) و  $0/36$  میلی مول EDTA به همراه  $9/9$  میلی مول ایزواسکوربات بوده است. فعالیت آنزیم در محلول واکنش شامل بافر فسفات سدیم (۲۰۰ میلی مول،  $pH = 7/5$ )،  $0/1$  میلی مول از NADPH،  $0/25$  میلی مول گلوکاتایون،  $1/5$  میلی مول  $MgCl_2$ ،  $0/2$  میلی مول EDTA، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی اضافه و به مدت یک دقیقه در ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. میزان جذب در ۳۴۰ نانومتر ارزیابی و بر اساس منحنی استاندارد، فعالیت آنزیم ارزیابی و بر حسب واحد میلی گرم پروتئین بیان شد.

### اندازه گیری غلظت کلروفیلها (a و b) و کارتنوئیدها

برای انجام این آزمون مقدار نیم گرم از ماده‌ی تر گیاهی را در هاون چینی ریخته و با استفاده از نیتروژن مایع آن را خرد و له کرده و سپس به مقدار ۲۰ میلی لیتر استن ۸۰ درصد به نمونه اضافه شد. در ادامه در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. عصاره جدا شده رویی به بالن شیشه‌ای منتقل شد. طول موج‌های ۶۶۳ نانومتری برای کلروفیل a و ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b و ۴۷۰ نانومتر برای کارتنوئیدها استفاده شد (Arnon, 1967). از رابطه‌های ۱ تا ۳ نیز برای تعیین میزان کلروفیل a و b و کارتنوئیدها بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر نمونه استفاده شد:

رابطه ۱: Chlorophyll a =  $(19/3 \times A_{663} - 0/86 \times A_{645}) \times V/100w$

رابطه ۲: Chlorophyll b =  $(19/3 \times A_{645} - 3/6 \times A_{663}) \times V/100W$

رابطه ۳:  $\text{Carotenoides} = 100 (A470) - 3/27 (\text{mg chl.a}) - 104(\text{mychl.b}) / 227$

$V =$  حجم محلول صاف شده (محلول فوقانی حاصل از سانتریفیوژ)،  $A =$  جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰

نانومتر،  $W =$  وزن تر نمونه بر حسب گرم

### اندازه‌گیری هدایت الکتریکی

برای اندازه‌گیری هدایت الکتریکی (Matthews and Bradnock, 1967) سه تکرار ۲۵ بذری از بذوری که قبلاً تیمارهای مختلف بر روی آن‌ها اعمال شده انتخاب گردید. میزان ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر را در درون ارلن ۵۰۰ میلی‌لیتری ریخته و به مدت ۲۴ ساعت به جهت تبادل رسیدن در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (ISTA, 2009). بذور انتخاب شده از هر تیمار را قبل از ریختن داخل ظرف ارلن با دقت ۰/۰۰۱ گرم، توزین و به آرامی درون ظرف‌ها قرار داده شد. درب کلیه ظروف با درپوش آلومینیومی پوشانده شد و در دمای  $20 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. میزان هدایت الکتریکی به ازای هر گرم وزن بذر مربوط به هر تیمار از رابطه ۴ محاسبه گردید:

رابطه ۴:  $\text{وزن نمونه بذر (گرم)} \div \text{هدایت الکتریکی (میکروزیمنس بر سانتیمتر)} = \text{هدایت الکتریکی}$

چنانچه حداقل و حداکثر میزان هدایت الکتریکی برای هر نمونه بیش از پنج میکروزیمنس بر سانتی‌متر به ازای هر گرم بذر با هم اختلاف داشته باشد، آزمون باید دوباره اجرا شود که در این آزمایش حداقل و حداکثر هدایت الکتریکی برای هر نمونه بیش از پنج میکروزیمنس بر سانتی‌متر به ازای هر گرم بذر نشد، بنابراین آزمون دوباره تکرار نشد (ISTA, 2009). تجزیه آماری داده‌ها و آنالیز واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SASver9.1 و برنامه DSAASTAT1.022 انجام شد و مقایسه میانگین با آزمون حداقل اختلاف معنی دار در سطح پنج درصد انجام شد. برای رسم نمودار از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

### نتایج و بحث

به منظور بررسی صفات کیفی مورد نظر از ترکیب‌های تیماری شامل زوال (۴۸ و ۹۶ ساعت)، پرایم (هیدروپرایم، جیبرلیک اسید) و زمان اعمال پرایم (قبل از زوال، بعد از زوال و توأم) به همراه شاهد استفاده شد. با توجه به آزمایش‌های صورت گرفته و نتایج به دست آمده، در زوال ۹۶ ساعت، بذور جوانه نزدند و این امر موجب شد تا به ناچار ترکیب‌های تیماری این سطح از زوال را حذف و آزمایش‌ها با ترکیب‌های تیماری بدون زوال و زوال ۴۸ ساعت ادامه یابد. لذا با توجه به باقی‌ماندن یک سطح زوال آزمایش‌ها را بیشتر معطوف به اثر پرایم هورمون، بر زمان اعمال آن (قبل از زوال، بعد از زوال و

توأم) و نتایج به دست آمده را در چهار سطح بدون زوال، قبل از زوال، بعد از زوال و توأم مورد بررسی قرار گرفت و سپس بالاترین و پایین ترین ترکیب تیماری از لحاظ اثر بخشی سطوح پرایم مشخص گردید. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که روی ترکیب های تیماری مورد مطالعه بر تمامی صفات مورد بررسی در سطح یک درصد معنی دار بود (جدول ۲).

### هدایت الکتریکی

نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس هدایت الکتریکی نشان داد که تمامی تیمارهای مورد آزمایش در سطح یک درصد معنی دار شد (جدول ۲). مقایسه میانگین نتایج هدایت الکتریکی نشان داد که زوال بذور باعث افزایش هدایت الکتریکی و نشت مواد شده و به کارگیری و اعمال پرایم باعث کاهش آن در بذور پرایم شده گردید (جدول ۳). در آزمایش اعمال پرایم و بدون پرایم در تیمارهای بدون زوال، بیش ترین میزان نشت الکترولیت مربوط به ترکیب تیماری بدون پرایم و زوال به میزان  $54/863$  میکروزیمنس بر سانتی متر گرم بود که اختلاف معنی داری با تیمار هیدروپرایم نداشت اما با تیمارهای اعمال غلظت هورمون  $500$  و  $1000$  پی پی ام اختلاف معنی دار داشت. در این گروه تیمارهای اعمال هورمون با یکدیگر اختلاف معنی دار نداشتند اما غلظت هورمون  $500$  پی پی ام با تیمار هیدروپرایم و بدون پرایم اختلاف معنی داری داشت. در این گروه کمترین میزان نشت الکترولیت مربوط به تیمار غلظت  $500$  پی پی ام هورمون به میزان  $46/517$  بود. در آزمایش قبل از زوال، بیش ترین میزان نشت الکترولیت مربوط به تیمار هیدروپرایم به میزان  $72/310$  مشاهده گردید که اختلاف معنی داری با دو تیمار دیگر این گروه یعنی غلظت  $500$  و  $1000$  پی پی ام داشت اما این دو تیمار با یکدیگر اختلاف معنی داری نداشتند و در این گروه کمترین میزان نشت مواد مربوط به تیمار غلظت  $500$  پی پی ام هورمون به میزان  $63/787$  میکروزیمنس بر سانتی متر گرم بود. همچنین در اعمال پرایم و بدون پرایم، بعد از زوال، بیش ترین میزان نشت الکترولیت مربوط به تیمار زوال و بدون پرایم به میزان  $78/270$  بود که اختلاف معنی داری با تیمار هیدروپرایم نداشت اما با تیمارهای غلظت  $500$  و  $1000$  پی پی ام هورمون اختلاف معنی داری داشت. در این گروه بین ترکیب های تیماری غلظت  $500$  و  $1000$  پی پی ام هورمون اختلاف معنی داری وجود نداشت و کمترین میزان نشت الکترولیت در این گروه مربوط به ترکیب تیماری غلظت  $500$  پی پی ام هورمون به میزان  $67/393$  بود. در آزمایش توأم، بیش ترین میزان نشت الکترولیت مربوط به ترکیب تیماری هیدروپرایم به میزان  $72/607$  بود که با تیمار غلظت  $1000$  پی پی ام هورمون اختلاف معنی داری نداشت ولی با تیمار غلظت  $500$  پی پی ام تفاوت معنی دار داشت. در این گروه نیز کمترین میزان نشت مواد مربوط به ترکیب تیماری  $500$  پی پی ام به میزان  $65/237$ ، که با تیمار غلظت هورمون  $1000$  پی پی ام اختلاف معنی داری نداشت. در مجموع آزمایش های صورت گرفته روی صفت هدایت الکتریکی، کمترین میزان نشت الکترولیت مربوط به تیمار غلظت  $500$  پی پی ام هورمون بدون زوال، به میزان  $46/517$  میکروزیمنس بر سانتی متر گرم مشاهده گردید و در بین ترکیب های

تیمارهای زوال، کم‌ترین نشت مواد مربوط به تیمار غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام هورمون قبل از زوال به میزان ۶۳/۷۸۷ بود، که با تیمارهای پرایم هورمون و هیدروپرایم بعد از زوال به غیر از غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام و هیدروپرایم به صورت توأم دارای اختلاف معنی‌دار بودند (جدول ۳). افزایش نشت الکترولیت‌ها ناشی از برخی تغییرات ساختمانی غشاء سلول است که باعث از بین رفتن یکپارچگی غشاء می‌شود در نتیجه قابلیت نفوذپذیری غشاء افزایش یافته و میزان خروج الکترولیت‌ها و دیگر مواد از بذر افزایش می‌یابد (Goel and Sheoran, 2003). پراکسیداسیون چربی‌های غشاء از جمله عوامل اصلی است که باعث می‌شود ساختارهای غشاء سلول بهم خورده و نشت الکترولیت‌ها افزایش یابد. در این تحقیق نیز نتایج به دست آمده نشانه‌ی این است که زوال موجب کاهش در فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز شده و از تخریب و پراکسیداسیون چربی‌ها جلوگیری می‌کند (جدول ۳). پراکسیداسیون چربی‌ها می‌تواند بخش قابل توجهی از افزایش نشت الکترولیت‌ها و همچنین کاهش فعالیت جوانه‌زنی را توضیح دهد (Chiu et al., 1995). در مورد نقش هورمون‌ها در پایداری غشاء، مطالعات مشابه نشان داد که در شرایط تنش، هورمون‌ها پایداری غشاء را افزایش داده و از نشت الکترولیت‌ها ممانعت کردند. برای مثال Hayat و Ahmad (۲۰۰۷) نشان دادند که پیش تیمار بذر گیاهان با بعضی اسیدها، گیاه را در برابر آسیب‌های ناشی از تنش محافظت و نشت الکترولیت‌ها را به صورت معنی‌داری کاهش داد.

### بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که ترکیب‌های تیماری روی تمامی صفات مورد بررسی، اثر معنی‌داری در سطح یک درصد داشتند (جدول ۲).

### بررسی فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تأثیر تیمارهای مورد نظر قرار گرفت، به طوری که زوال بذر سبب کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم گردید و از طرفی هورمون اسید جیبرلیک در مقادیر ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به سایر تیمارها شد (جدول ۳). در ترکیب‌های تیماری بدون زوال، اعمال هورمون باعث افزایش فعالیت کاتالاز شد به طوری که اعمال غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام هورمون اسید جیبرلیک باعث بیش‌ترین فعالیت آنزیم به میزان ۳/۸۶۳ واحد بر میلی‌گرم بر پروتئین شد که با تیمار ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک و هیدروپرایم اختلاف معنی‌داری نداشت ولی با تیمار بدون پرایم اختلاف معنی‌داری داشت (جدول ۳). اعمال هورمون روی ترکیب‌های تیماری قبل از زوال، باعث افزایش فعالیت کاتالاز گردید به طوری که اعمال غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام هورمون اسید جیبرلیک باعث بیش‌ترین میزان آنزیم به مقدار ۳/۴۴۷ واحد بر میلی‌گرم پروتئین شد که با ترکیب تیماری ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک اختلاف معنی‌داری نداشت ولی با تیمار هیدرو پرایم اختلاف معنی‌داری را نشان داد (جدول ۳). در آزمایش‌های بعد از زوال



نیز اعمال هورمون باعث افزایش فعالیت کاتالاز گردید، به طوری که غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام هورمون اسید جیبرلیک باعث بیش‌ترین فعالیت آنزیم به میزان ۲/۶۲۰ واحد بر میلی‌گرم پروتئین شد که اختلاف معنی‌داری با سایر ترکیب‌های تیماری در این گروه داشت. کم‌ترین میزان فعالیت مربوط به تیمار بدون پرایم به میزان ۱/۵۳۰ واحد بر میلی‌گرم پروتئین بود (جدول ۳). در آزمایش اعمال هورمون به صورت توأم (قبل و بعد از زوال)، باعث افزایش فعالیت کاتالاز شد، به طوری که غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام هورمون اسید جیبرلیک، باعث بیش‌ترین فعالیت آنزیم به میزان ۳/۰۲۶ واحد بر میلی‌گرم پروتئین و دارای اختلاف معنی‌داری با هیدروپرایم به صورت توأم، که دارای فعالیت آنزیم به میزان ۲/۴۰۰ واحد بر میلی‌گرم پروتئین بود. در نهایت طی سه مرحله آزمایش زوال و اعمال هورمون در زمان‌های مختلف، اعمال غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام هورمون اسید جیبرلیک در قبل از زوال باعث بیش‌ترین فعالیت آنزیم کاتالاز گردید که اختلاف معنی‌داری با سایر ترکیب‌های تیماری و به‌ویژه در اعمال هورمون با همین غلظت در بعد از زوال داشت (جدول ۳).

مقایسه میانگین ترکیب‌های تیماری نشان داد که زوال بذر سبب کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم پراکسیداز شد و هورمون اسید جیبرلیک به میزان ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام سبب افزایش فعالیت این آنزیم گردید (جدول ۲). در آزمایش ترکیب‌های تیماری بدون زوال، غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک، باعث بیش‌ترین فعالیت آنزیم به میزان ۴/۱۸۳ واحد بر میلی‌گرم پروتئین شد که با ترکیب‌های تیماری این گروه فقط با تیمار بدون پرایم (خشک) دارای اختلاف معنی‌دار بود (جدول ۳). در آزمایش‌های قبل از زوال نیز اعمال هورمون باعث افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز شد، به طوری که در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام هورمون اسید جیبرلیک باعث بیش‌ترین فعالیت آنزیم به میزان ۳/۷۹۷ واحد بر میلی‌گرم پروتئین گردید، که با غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام هورمون و هیدروپرایم دارای اختلاف معنی‌داری داشت (جدول ۳). در ترکیب‌های تیماری بعد از زوال نیز اعمال هورمون باعث افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز شد به طوری که غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام باعث افزایش بیش‌ترین فعالیت پراکسیداز به میزان ۳/۰۲۷ واحد بر میلی‌گرم پروتئین شد که این میزان با سایر ترکیب‌های تیماری این گروه دارای اختلاف معنی‌دار بود (جدول ۳). در آزمایش توأم (قبل و بعد) زوال، هورمون باعث افزایش فعالیت آنزیم شد به طوری که در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام باعث بیش‌ترین فعالیت پراکسیداز به میزان ۳/۱۴۰ واحد بر میلی‌گرم پروتئین شد که با ترکیب تیماری هیدروپرایم این گروه دارای اختلاف معنی‌دار بود (جدول ۳). در طی سه مرحله آزمایش زوال و به‌کارگیری هورمون در مراحل قبل، بعد و توأم روی ترکیب‌های تیماری مختلف، اعمال غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک قبل از زوال، باعث بیش‌ترین فعالیت آنزیم پراکسیداز شد که دارای اختلاف معنی‌داری با همین غلظت در گروه‌های دیگر بود (جدول ۳). در این تحقیق نیز نتایج به دست آمده نشان داد که زوال موجب کاهش در فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز شده که از تخریب و پراکسیداسیون چربی‌ها جلوگیری می‌کنند. تجمع گونه‌های فعال

اکسیژن در بذره‌های فرسوده شده به علت اختلافات ایجاد شده در اندامک‌های سلولی باعث پراکسیداسیون چربی‌ها، غیر فعال شدن آنزیم‌ها، خسارت به اسیدهای نوکلئیک و تخریب غشاء سلولی می‌شود (Bailly, 2004). با توجه به نتایج چنین استنباط می‌شود که اعمال پیش تیمار با هورمون در بذره‌های زوال یافته باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کاتالاز و پراکسیداز شده است، همچنین زوال سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی شد و از طرفی جیبرلیک اسید به خصوص در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام، سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز گردید. در آزمایشی که توکل افشاری و همکاران (۱۳۸۸) در رابطه با تأثیر بنیه بذر بر جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در دو رقم کلزا (Licord و Optipn500) انجام داده بودند، نشان دادند که با افزایش زمان زوال، فعالیت کاتالاز و پراکسیداز در هر دو رقم کاهش و با افزایش زمان آبیگری میزان فعالیت آنزیم در هر دو رقم افزایش یافت، اما در رقم Licord این افزایش بیشتر بود. همچنین Sveinsdottir و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که با افزایش سطوح فرسودگی، فعالیت‌های آنزیمی در بذر مانند کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز، اسکوربات پراکسیداز و ATP از کاهش می‌یابد. آنزیم کاتالاز یکی از مهمترین آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدانی می‌باشد که با افزایش تنش افزایش می‌یابد، اما با استفاده از تکنیک پرایمینگ بذرها می‌توان میزان این آنزیم را در گیاهان تحت تنش بیشتر افزایش داد (Moosavi et al., 2009). El-Tayeb (۲۰۰۵) افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را تحت تنش روی گیاه جو در اثر تیمار با اسید سالیسیلیک گزارش نمود. Varier و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که پرایمینگ باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در پنبه شده است. همچنین گزارش شده است که پرایمینگ می‌تواند با تغییر در بیان ژن باعث افزایش فعالیت‌های بیوشیمیایی در گیاهچه نخود گردد (Espin et al., 2011). در مطالعه Farhodi و همکاران (۲۰۱۱) بر گیاه خربزه نیز مشخص شد که گیاهچه‌های حاصل از بذره‌های پیش تیمار شده در مقایسه با گیاهچه‌های رشد یافته از بذره‌های پیش تیمار نشده، فعالیت کاتالاز بیشتری را نشان دادند.

### بررسی رنگدانه‌های فتوسنتزی

مقایسه میانگین تیمارهای آزمایش نشان داد که اعمال هورمون اسید جیبرلیک باعث اختلاف معنی‌دار در مقدار کلروفیل a شده است (جدول ۲). در آزمایش‌های انجام گرفته بر ترکیب‌های تیماری فاقد زوال، بیش‌ترین میزان مربوط به تیمار ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام هورمون اسید جیبرلیک بود (جدول ۳). در آزمایش‌های قبل از زوال نیز بیش‌ترین میزان مربوط به غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام بوده که در ترکیب‌های تیماری اعمال غلظت هورمون بعد از زوال و توأم نیز به همین صورت مشاهده گردید (جدول ۳). در مجموع در طی سه مرحله اعمال هورمون و زوال روی ترکیب‌های تیماری، بیش‌ترین میزان کلروفیل a مربوط به ترکیب تیماری غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام، قبل از زوال به میزان ۴/۳۵۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر و کم‌ترین میزان

نیز مربوط به تیمار بدون پرایم بعد از زوال بود (جدول ۳). مقایسه میانگین نتایج به دست آمده برای کلروفیل b نشان داد که اعمال هورمون اسید جیبرلیک بر ترکیب‌های تیماری مورد آزمایش، باعث اختلاف معنی‌دار در مقدار کلروفیل b شد (جدول ۲).

## جدول ۲: نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای زوال، هیدرو پرایمینگ و اسید جیبرلیک بر برخی صفات فیزیولوژیکی و

### بیوشیمیایی پنبه

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		Ec	CAR	Chl.b	Chl.a	PX	CAT
تیمار	۱۳	۲۹۲/۰۸۱**	۱۹۳/۳۷۰**	۰/۴۳۶**	۱/۶۹۰**	۱/۳۹۳**	۱/۶۴۰**
خطا	۲۸	۹/۹۱۵	۴/۵۷۶	۰/۰۲۴	۰/۰۹۰	۰/۰۷۱	۰/۰۸۳
ضریب تغییرات (/)	-	۸۷۹/۴	۱۲/۲۰۰	۸/۷۷۱	۸/۶۳۵	۸/۵۹۷	۱۰/۳۳۴

\*\* بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد.

CAT = کاتالاز (واحد بر میلی گرم پروتئین) = PX = پروکسیداز (واحد بر میلی گرم پروتئین) = CL.a = کلروفیل a (میلی گرم بر گرم وزن تر) = CL.b = کلروفیل b (میلی گرم بر گرم وزن تر) = CAR = کارتنوئید (میلی گرم بر گرم وزن تر) = EC = هدایت الکتریکی (میکروزیمنس بر سانتی متر گرم).

در آزمایش‌های صورت گرفته روی ترکیب‌های تیمارهای بدون زوال، بیش‌ترین فعالیت مربوط به ترکیب تیماری غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام هورمون اسید جیبرلیک بود (جدول ۳). در آزمایش‌های صورت گرفته قبل از زوال بیش‌ترین میزان فعالیت مربوط به ترکیب تیماری ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک به میزان ۲/۱۵۷ میلی گرم بر گرم وزن تر و کم‌ترین میزان نیز مربوط به تیمار هیدروپرایم به میزان ۱/۲۳۳ میلی گرم بر گرم وزن تر بود که کاهش معنی‌داری با غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام داشت (جدول ۳). در آزمایش‌های بعد از زوال نیز بیش‌ترین فعالیت مربوط به ترکیب تیماری ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک به میزان ۱/۹۰۳ میلی گرم بر گرم وزن تر بود. در این گروه نیز کم‌ترین میزان مربوط به تیمار بدون پرایم (۱/۱۵۰) که کاهش معنی‌داری با غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام داشت، بود (جدول ۳). همچنین در ترکیب‌های تیماری توام بیش‌ترین میزان فعالیت به میزان ۲/۰۶۳ میلی گرم بر گرم وزن تر مربوط به تیمار غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام هورمون اسید جیبرلیک بود. کم‌ترین فعالیت نیز به میزان ۱/۶۷۰ از آن تیمار هیدروپرایم بود که کاهش معنی‌داری با غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام داشت. در بررسی این صفت و در مجموع ترکیب‌های تیماری زوال، بیش‌ترین میزان فعالیت کلروفیل b مربوط به ترکیب تیماری اعمال هورمون با غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام قبل از زوال به میزان ۲/۱۵۷ میلی گرم بر گرم وزن تر بود که این میزان با ترکیب‌های تیماری فاقد اعمال هورمون دارای اختلاف معنی‌دار بود. کمترین فعالیت نیز مربوط به ترکیب تیماری زوال و بدون پرایم به میزان ۱/۱۵۰ میلی گرم بر گرم وزن تر بود (جدول ۳).

جدول ۳: مقایسه میانگین اثر تیمارهای زوال، هیدرو پرایمینگ و اسید جیبرلیک بر برخی صفات فیزیولوژیکی و

بیوشیمیایی پنبه

Ec	میانگین					صفات
	CAR	CL.b	CL.a	PX	CAT	تیمار
۵۴/۸۶۳f	۲۱/۴۰۰c	۱/۸۴۷def	۳/۸۶۶bcd	۳/۵۷۰bc	۳/۱۹۷bcd	d <sub>0</sub> p <sub>0</sub>
۵۲/۸۸۷fg	۲۵/۴۳۳b	۱/۸۸۳def	۳/۷۷۳cde	۳/۸۶۳ab	۳/۵۱۰ab	d <sub>0</sub> p <sub>1</sub>
۴۶/۵۱۷h	۲۹/۴۳۳a	۲/۱۹۳ab	۴/۴۰۰a	۴/۱۸۳a	۳/۷۰۷ <sup>a</sup>	d <sub>0</sub> g <sub>1</sub>
۴۹/۵۶۷gh	۲۸/۳۳۳ab	۲/۲۶۰a	۴/۵۶۰a	۳/۹۵۷ab	۳/۸۶۳ <sup>a</sup>	d <sub>0</sub> g <sub>2</sub>
۷۲/۳۱۰bc	۹/۷۳۳fg	۱/۲۳۳g	۲/۴۸۶gh	۲/۴۵۰fh	۲/۱۰۷gh	d <sub>1</sub> t <sub>1</sub> p <sub>1</sub>
۶۳/۷۸۷e	۱۹/۳۰۰cde	۱/۷۷۰ef	۳/۵۲۰de	۳/۱۹۷cd	۲/۹۷۰cde	d <sub>1</sub> t <sub>1</sub> g <sub>1</sub>
۶۶/۶۴۳de	۲۶/۳۰۰ab	۲/۱۵۷abc	۴/۳۵۳ab	۳/۷۹۷ab	۳/۴۴۷abc	d <sub>1</sub> t <sub>1</sub> g <sub>2</sub>
۷۸/۲۷۰a	۶/۶۲۰g	۱/۱۵۰g	۲/۲۴۰h	۲/۲۱۰gh	۱/۵۲۰I	d <sub>1</sub> t <sub>2</sub> p <sub>0</sub>
۷۵/۵۲۳ab	۶/۲۶۰g	۱/۲۵۰g	۲/۸۶۳fg	۲/۱۲۷h	۱/۷۶۰hi	d <sub>1</sub> t <sub>2</sub> p <sub>1</sub>
۶۷/۳۹۳cde	۹/۴۵۳fg	۱/۳۳۰g	۲/۶۸۷gh	۲/۵۳۰fgh	۲/۰۲۳gh	d <sub>1</sub> t <sub>2</sub> g <sub>1</sub>
۶۹/۴۰۷cd	۱۶/۰۳۳e	۱/۹۰۳cdef	۲/۹۴۳fg	۳/۰۲۷de	۲/۶۲۰ef	d <sub>1</sub> t <sub>2</sub> g <sub>2</sub>
۷۲/۶۰۷bc	۱۱/۱۳۳f	۱/۶۷۰f	۳/۳۰۰ef	۲/۶۱۰efg	۲/۴۰۰fg	d <sub>1</sub> t <sub>3</sub> p <sub>1</sub>
۶۵/۲۳۷de	۱۶/۲۳۳de	۱/۹۳۳cde	۳/۷۰۰cde	۲/۸۷۸def	۲/۹۵۷de	d <sub>1</sub> t <sub>3</sub> g <sub>1</sub>
۶۸/۴۵۳cde	۱۹/۸۰۰cd	۲/۰۶۳abcd	۴/۱۲۰abc	۳/۱۴۰cd	۳/۰۲۶cde	d <sub>1</sub> t <sub>3</sub> g <sub>2</sub>
۵/۲۶۶	۳/۵۷۷	۰/۳۵۹	۰/۵۰۴	۰/۴۴۶	۰/۴۸۳	LSD 0.05

در هر ستون میانگین‌های که دارای حروف مشترک می‌باشند در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

CAT = کاتالاز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین) = PX = پروکسیداز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین) = CL.a = کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)

CL.b = کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) = CAR = کارتنوئید (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) = EC = هدایت الکتریکی (میکروزیمنس بر سانتی‌متر

نتایج مقایسه میانگین ترکیب‌های تیماری مورد آزمایش نشان داد که اعمال غلظت هورمون اسید جیبرلیک روی کارتنوئیدها باعث اختلاف معنی‌دار شد (جدول ۲). در ترکیب‌های تیماری فاقد زوال، بیش‌ترین فعالیت مربوط به ترکیب تیماری غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام هورمون اسید جیبرلیک به میزان ۲۹/۴۳۳ بود. در این گروه کم‌ترین فعالیت به میزان ۲۱/۴۰۰ مربوط به تیمار بدون پرایم بود که کاهش معنی‌داری با غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام داشت (جدول ۳). در آزمایش‌های قبل از زوال بیش‌ترین میزان فعالیت مربوط به تیمار غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام به میزان ۲۶/۳۰۰ بود که با تیمار هیدروپرایم (۹/۷۳۳) دارای اختلاف معنی‌داری بود (جدول ۳). هم‌چنین در آزمایش‌های بعد از زوال بالاترین فعالیت کارتنوئید به میزان ۱۶/۰۳۳ مربوط به تیمار غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک بود که با سایر ترکیب‌های این گروه

اختلاف معنی دار داشت (جدول ۳). در آزمایش توأم (قبل و بعد) زوال، بیشترین میزان فعالیت مربوط به ترکیب تیماری اعمال غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام به میزان ۱۹/۸۰۰ میلی گرم بر گرم وزن تر بود. در این گروه نیز کمترین فعالیت مربوط به تیمار هیدروپرایم بود که کاهش معنی داری با غلظت های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام داشت. در مجموع و طی سه مرحله اعمال هورمون بر روی ترکیب های تیماری زوال، بیشترین میزان فعالیت مربوط به اعمال غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام قبل از زوال بود که دارای اختلاف معنی دار با اعمال غلظت ۵۰۰ پی پی ام و هیدروپرایم و بدون پرایم، تیمارهای زوال بود. کمترین میزان فعالیت نیز مربوط به ترکیب تیماری اعمال هیدروپرایم بعد از زوال به میزان ۶/۲۶۰ میلی گرم بر گرم وزن تر بود (جدول ۳). همچنین با توجه به نتایج، چنین استنباط می شود که زوال باعث کاهش در فعالیت های رنگدانه های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئیدها) شده است و با توجه به نقش آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز در جلوگیری از تخریب سلول که این امر توسط هورمون جیبرلین تشدید می شود باعث شده که در تیمارهای پرایم هورمون افزایش فعالیت این رنگدانه ها را داشته باشد. تنش باعث ایجاد اختلال در سیستم های آنزیمی فرونشاندن گونه های فعال اکسیژن می گردد که این امر منجر به افزایش پراکسیداسیون چربی های غشایی و در نتیجه خسارت به غشاء سلولی و همچنین تخریب رنگدانه ها می گردد (Masoumi *et al.*, 2010). کاهش کلروفیل به عنوان عامل محدود کننده غیر روزانه ای فتوسنتز محسوب می شود که با یافته هایی در گوجه فرنگی (Najafi *et al.*, 2009)، ذرت و توتون (Kaya *et al.*, 2010) مطابقت دارد. همچنین در شرایط تنش، کاهش رنگدانه های فتوسنتزی و کاهش سرعت واکنش هیل، به علت تجزیه کلروپلاست، کاهش سنتز کلروفیل و کاهش تعداد پلاستیدها مشاهده می گردد (Heba and Samia, 2014). تیمار با جیبرلین توانسته است میزان کلروفیل a و b و کارتنوئیدها را افزایش دهد که نتایج حاصل از این تحقیق با تحقیقاتی در بادمجان (Sardoei *et al.*, 2014) و گندم (Shaddad *et al.*, 2013)، مطابقت دارد. کارتنوئیدها می توانند انرژی زیاد طول موج های کوتاه را گرفته و اکسیژن یک تایی را به سه تایی تبدیل کنند و با گرفتن رادیکال های اکسیژن تولید شده نقش آنتی اکسیدانی خود را ایفاء نماید (Amanullah *et al.*, 2010). در این آزمایش میزان کارتنوئیدها در شرایط زوال با اعمال هورمون اسید جیبرلیک افزایش یافت. جیبرلین می تواند با تأثیر بر ژن های کد کننده مسیر بیوسنتز ژرانیل پیروفسفات سنتز کارتنوئیدها را تحت تأثیر قرار دهد (Shaddad *et al.*, 2013). جیبرلین ها علاوه بر تحریک رشد در گندم، موجب افزایش توان فتوسنتز (Ashraf and Harris, 2013) و افزایش رشد طولی برگ می شود (Leite *et al.*, 2003).

### نتیجه گیری

در بررسی فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان مشخص شد که زوال باعث کاهش فعالیت آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز و با اعمال پرایم هورمون باعث افزایش در سطح فعالیت این آنزیم ها گردید که در غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام در قبل از زوال شاهد

بالاترین میزان فعالیت آنزیم‌ها مشاهده گردید. غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام در فعالیت آنزیم‌ها بهترین غلظت بود و زمان اعمال نیز در قبل از زوال بهترین نتیجه را به دنبال داشت. زوال باعث کاهش فعالیت کلروفیل a و b و کارتنوئیدها شد به طوری کم‌ترین میزان فعالیت مربوط به تیمار زوال و بدون پرایم بود. اعمال پرایم هورمون باعث افزایش فعالیت رنگدانه‌های فوق گردید که با توجه به نتایج، اعمال غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام در تمامی زمان‌های اعمال پرایم (قبل، بعد و توأم) بهترین غلظت مورد استفاده بود. زمان اعمال پرایم نیز در هر صفت فوق، پرایم قبل از زوال و در مرحله بعد پرایم به صورت توأم از شرایط بهتری برخوردار بودند. در بررسی هدایت الکتریکی بذور، زوال باعث افزایش در میزان نشت الکترولیت شد به طوری که بیش‌ترین میزان نشت الکترولیت مربوط به تیمار زوال و بدون پرایم بود و پرایم هورمون باعث جلوگیری و بهبود و کاهش در میزان نشت مواد شد و با توجه به نتایج، کم‌ترین میزان نشت مواد در تیمار اعمال غلظت هورمون ۵۰۰ پی‌پی‌ام در قبل از زوال بود که در این صفت نیز بهترین زمان اعمال قبل از زوال و بهترین غلظت نیز ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک بود.

#### منابع

توکل افشاری، ر.، رشیدی، س.، علیزاده، ه. ۱۳۸۸. تاثیر بنیه بذر بر جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در مراحل اولیه جوانه‌زنی در دو رقم کلزا (*Brassica napus* L.). نشریه علوم گیاهان زراعی ایران. ۴۰ (۲): ۱۳۳-۱۲۵.

معصومی، ع.، کافی، م.، نظامی، ا. و حسینی، ح. ۱۳۸۴. اثرات تنش خشکی روی برخی خصوصیات مورفولوژیکی تعدادی از ژنوتیپ‌های نخود (*Cicer arietinum* L) در شرایط گلخانه. مجله پژوهش‌های زراعی ایران. ۳ (۲): ۲۷۷-۲۸۹.

**Ajouri, A., Asgedum, H., and Becker, M. 2004.** Seed priming enhances germination and seedling growth of barley under conditions of P and Zn deficiency. *Journal plant nutrition soil science*, 167: 630-636.

**Amanullah, M.M., Sekar, S. and Vincent, S. 2010.** Plant growth substances in crop production. *Asian Journal of Plant Sciences*, 9: 215-222.

**Arnon, A.N., 1967.** Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, 23: 112-121.

**Ashraf, M. and Harris, P.J.C. 2013.** Photosynthesis under stressful environments: An overview *Photosynthetic*, 51(2): 163-190.

**Bailly, 2004.** Active oxygen species and antioxidants in seed biolocience Research, 14: 93-107.

**Basra, S.M.A., Ahmad, N., Khan, M.M., Iqbal, N. and Cheema, M.A. 2003.** Assessment of cotton seed deterioration during accelerated aging. *Seed science technology*, 31: 531-540.

**Basra, S.M.A., Farooq, M. and Tabassum, R. 2005.** Physiological and biochemical aspects of seed vigor enhancement treatments in fine rice (*Oryza sativa* L.). Seed Science Technology, 33: 623-628.

**Chance, B. and Maehly, A. C. 1995.** Assay of catalase and peroxidase. In: Colowick, S. P., and Kaplan, N. D., (eds). Methods in Enzymology. Academic Press. New York 2: 764-791.

**Chiu, K.Y., Wang, C.S. and Sung, J.M. 1995.** Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes associated with accelerated aging and hydration of watermelon seeds differing in ploidy. Physiologia Plantarum, 94: 441-446.

**De Figueiredo, E., Albuquerque, M.C. and De Carvalho, N.M. 2003.** Effect of the type of environmental stress on the emergence of sunflower (*Helianthus annuus* L.), soybean (*Glycine max* L.) and maize (*Zea mays* L.) seeds with different levels of vigor. Seed science and technology, 31: 465-479.

**El-Tayeb, 2005.** Response of barley Gains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. Plant Growth Regulation, 45: 215-225.

**Espin, G.B., Vivancos, P.D., Job, D., Belghazi, M., Job, C. and Hernandez, J.A. 2011.** Understanding the role of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> during pea seed germination: a combined proteomic and hormone profiling approach. Plant Cell and Environment, 34: 107-1919.

**Farhodi, R., Saeedipour, S. and mohammadreza, D. 2011.** The effect of NaCl seed priming on salt tolerance, antioxidant enzyme activity, and proline and carbohydrate accumulation of Muskmelon (*Cucumis melo* L.) under saline condition. African Journal of Agricultural Research, 6: 1363-1370.

**Gee, G.W. and Bauder, J.W. 1986.** Particle size analysis, In Methods of Soil analysis: part 1-Physical and Mineralogical Methods. Soil Science Society of America Book Series, 5, American Society of Agronomy, Inc, Madison, Wisconsin, U.S.A. Pp: 83-411.

**Goel, A. and Sheoran, I. S. 2003.** Lipid peroxidation and peroxide scavenging enzymes in cotton seeds under natural aging. Biologia Plantarum, 46 (3): 429-434.

**Hardegree, S.P. and Emmerich, W.E. 1994.** Seed germination response to polyethylene glycol solution depth. Seed Science and Technology, 22: 1-7.

**Hayat, S. and Ahmad, A. 2007.** *Salicylic Acid: A Plant Hormone*. Springer. Pp. 97-99.

**Heba, and Samia, 2014.** Influence of Garlic Extract on Enzymatic and Non Enzymatic Antioxidants in Soybean Plants (*Glycine Max* L.) Grown under Drought Stress. Life Science Journal, 11(3): 46-58.

**ISTA (International Seed Testing Association). 1999.** International rules for seed testing, The Germination Test. chapter 5: 1-57.

**(ISTA) International Seed Testing Association. 2009.** International rules for seed testing. Zurichstr.50. CH 8303, Bassersdorf, Switzerland, Edition 2009/1.

**Janmohammadi, M., Fallahnezhad, Y., Golshan, M. and Mohammadi, H. 2008.** Controlled ageing for storability assessment and predicting seedling early growth of canola cultivars (*Brassica napus* L.). Journal of Agricultural and Biological Science, 3(5-6): 22-26.

**Kapilan, R. 2015.** Accelerated aging declines the germination characteristics of the maize seeds. Scholars Academic Journal of Biosciences (SAJB), 3(8): 708-711.

**Kaya, I., Kirnak, H., Tas, C. and Higgs, D. 2010.** The influence of water deficit on vegetative growth, physiology fruit yield and quality in eggplants. Bulgarian journal plant physiology, 27(3): 34-46.

**Kong, L., Huo, H. and Moa, P. 2015.** Antioxidant response and related gene expression in aged oat seed. Frontiers in Plant Science, 6: 1-9.

**Koroi, S.A. 1989.** Gel elektrophores tische and spectrophotometris chose unter unchnen zomein fiussder temperature and stractur peroxidase isoenzyme. Physiology, 20: 15-22.

**Leite, V.M., Rosolem, C.A. and Rodrigues, J.D. 2003.** Gibberelline and cytokenin effects on soybean growth. Scientia Agricola, 60(3): 537-541.

**Masoumi, A., Kafi, M., Khazaei, H. R. and Davari, K. 2010.** Effect of drought stress on water status, electrolyte Leakage and enzymatic antioxidants of *Kochia (Kochia scoparia)* under saline conditions. Pakistan Journal of Botany, 42 (5): 3517-3524.

**Matthews, S. and Bradnock, W.T. 1967.** The detection of seed sample of wrinkled seed peas (*pisum sativum* L.) of potentially low planting value. Proceeding of the International Seed Testing Association, 32: 553-563.

**McDonald, M.B. 1999.** Seed deterioration: physiology, repair and assessment. Seed Science Technology, 27: 177-237.

**McDonald, M. B. and Nelson, C.J. 1986.** Physiology of Seed Deterioration. Crop Science Society of America. Inc. Madison, Wisconsin.

**Moosavi, A., Tavakkol-Afshari, R., Sharif-Zadeh, F. and Aynehband, A. 2009.** Effect of seed priming on germination characteristics, polyphenol oxidase, and peroxidase activities of four amaranth cultivars. Journal of Food, Agriculture and Environment, 7: 353-358.

**Najafi, F., Bannayan, M., Tabrizi, L. and Rastgoo, M. 2006.** Seed germination and dormancy breaking techniques for *Ferula gummosa* and *Teucrium polium*. Journal of Arid Environments, 64: 542-547.

**Najafi, M., Ghasemian, E., Fathiazad, F. and Garjani, A.R. 2009.** Effects of total extract of *Dracocephalum moldavica* on ischemia / Reperfusion induced arrhythmias and infarct size in the isolated Rat Heart. Iranian Journal of Basic Medical Sciences, 11(4): 229-235.



**Sardoei, A.S., Shahadadi, F., Shahdadneghad. M. and Imani. A.F. 2014.** The Effect of Benzyladenine and Gibberellic Acid on Reducing Sugars of *Spathiphyllum wallisii* Plant. International Journal of Farming and Allied Sciences, 3(3): 328-332.

**Shaddad, M.A.K., Abd El- Samad, H.M. and Mostafa, D. 2013.** Role of gibberellic acid (GA3) in improving salt stress tolerance of two wheat cultivars. International Journal of Plant Physiology and Biochemistry, 5(4): 50- 57.

**Siadat, A., Moosavi, S. A., Sharafi Zadeh, M., Fotouhi, F. and Zirezadeh, M. 2011.** Effects of halo and phytohormone seed priming on germination and seedling growth of maize under different duration of accelerated ageing treatment. African Journal of Agricultural Research, 6: 6453-6462.

**Sveinsdottir, H., Yan, F., Zhu, Y., Peiter-Volk, T. and Schubert, S. 2009.** Seed ageing-induced inhibition of germination and post-germination root growth is related to lower activity of plasma membrane H (+) ATPase in maize roots. Journal of Plant Physiology, 166: 128-135.

**Varier, A.,Vari, A.K. and Dadlani, M. 2010.** The subcellular basis of seed priming. Current Science, 99(4): 450-456.