



دانشگاه گورگان و منابع طبیعی گورگان

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی

جلد بیست و ششم، شماره سوم، ۱۳۹۸

۲۱-۳۶

<http://jopp.gau.ac.ir>

DOI: 10.22069/jopp.2019.14104.2266

تأثیر امواج فراصوتی بر جوانه‌زنی، فعالیت آنزیم‌های آلفا آمیلاز، آنتی‌اکسیدانی و قندها در سرخارگل

*فاطمه رسولی^۱، منوچهر قلی‌پور^۲، کامبیز جهانبین^۲ و حمیدرضا اصغری^۲

^۱دانش‌آموخته دکتری گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران،

^۲عضو هیأت علمی گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۰/۱۱؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۲/۲۲

چکیده

سابقه و هدف: جوانه‌زنی بذرهای سرخارگل کم و نامنظم می‌باشد. یکی از دلایل جوانه‌زنی کم بذرهای سرخارگل، نفوذپذیری پایین غشاهای داخلی بذر می‌باشد. پرایمینگ بذر شامل روش‌های بسیار ساده‌ای است که می‌تواند در جوانه‌زنی بهتر و استقرار مطلوب‌تر گیاهچه مؤثر باشد. یکی از روش‌های بیوفیزیکی پرایمینگ بذر، پیش‌ تیمار بذر با امواج فراصوتی می‌باشد. ضربه‌های ممتد امواج فراصوتی سبب افزایش نفوذپذیری پوسته بذر، تسریع در جذب آب و بالا رفتن دمای بافت‌ها می‌شود. بالا رفتن سرعت آماس در بذرهای پیش‌ تیمار شده با تسریع تغییرات در متابولیسم بذر همراه می‌باشد. بنابراین هدف از اجرای این پژوهش بررسی تأثیر امواج فراصوتی بر جوانه‌زنی، فعالیت آنزیم‌های آلفا آمیلاز، آنتی‌اکسیدانی و قندها در گیاه سرخارگل بود.

مواد و روش‌ها: این آزمایش در دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود در سال ۱۳۹۶ انجام شد. آزمایش در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۴ تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل ۵ مدت اعمال تیمار امواج فراصوتی ۰، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ دقیقه با دستگاه التراسونیک بود. صفات مورد سنجش شامل درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، کارایی استفاده از ذخایر بذر، وزن خشک گیاهچه، فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز، قند کل، قندهای احیایی و غیراحیایی، نسبت قندهای غیراحیایی به احیایی، هدایت الکتریکی، گایاکول پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، کاتالاز، گلوکاتایون S- ترانسفراز، کلروفیل a و b بود.

یافته‌ها: بیش‌ترین میزان درصد جوانه‌زنی در مدت ۱۵ دقیقه و بیش‌ترین میزان سرعت جوانه‌زنی بذر در مدت‌های ۱۵ و ۲۵ دقیقه به‌دست آمد. بیش‌ترین میزان کارایی استفاده از ذخایر بذر در تیمارهای ۱۵ و ۱۰ دقیقه با میانگین حدود ۰/۸ و کم‌ترین میزان آن در تیمار شاهد با میانگین ۰/۵۹ مشاهده شد. بیش‌ترین میزان وزن خشک گیاهچه در مدت ۱۵ دقیقه با میانگین ۰/۰۶۵ گرم و کم‌ترین آن نیز در تیمار شاهد با میانگین ۰/۰۴۶۷ گرم حاصل گردید. نتایج نشان داد که امواج فراصوتی سبب افزایش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز، قند کل و قندهای غیراحیایی در همه مدت‌های تیمار نسبت به شاهد گردید. میزان قندهای احیایی در تیمار ۲۵ دقیقه با میانگین $405/5 \mu \text{gg}^{-1}\text{FW}$ در رتبه اول قرار داشت و شاهد با میانگین $318 \mu \text{gg}^{-1}\text{FW}$ رتبه دوم را به خود اختصاص داد. پیش‌ تیمار بذر با امواج فراصوتی سبب افزایش هدایت الکتریکی و غلظت پراکسید هیدروژن در مدت‌های ۱۵، ۲۰ و ۲۵ دقیقه نسبت به شاهد شد. بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در مدت‌های ۱۵ و ۲۵ دقیقه به‌دست آمد.

* مسئول مکاتبه: f.rasouli86@gmail.com

بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و پلی‌فنل‌اکسیداز در مدت ۱۵ دقیقه به‌دست آمد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم گلوکاتایون S- ترانسفراز در مدت‌های ۱۵، ۲۰ و ۲۵ دقیقه به‌دست آمد.

نتیجه‌گیری: پیش‌تیمار بذرهای سرخارگل با امواج فراصوتی سبب افزایش فعالیت آنزیم آلفا‌آمیلاز و به‌دنبال آن افزایش میزان قندها در اغلب مدت‌های پیش‌تیمار گردید. ضربه‌های ممتد امواج فراصوتی بر بذر، سبب افزایش نشت الکتریکی غشای بذر و نیز افزایش غلظت پراکسید هیدروژن در مدت‌های ۱۵، ۲۰ و ۲۵ دقیقه گردید، در جهت مقابله با تنش ایجاد شده، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، گایاکول پراکسیداز، گلوکاتایون S- ترانسفراز و پلی‌فنل‌اکسیداز در اغلب مدت‌ها افزایش یافته بود. که در نهایت سبب افزایش درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، وزن خشک گیاهچه و کارایی استفاده از ذخایر بذر در بیش‌تر مدت‌های پیش‌تیمار نسبت به شاهد گردید.

واژه‌های کلیدی: قندها، کارایی استفاده از ذخایر بذر، کلروفیل، وزن خشک گیاهچه

مقدمه

سرخارگل با نام علمی *Echinacea purpurea* L. از خانواده *Astraceae* بومی آمریکای شمالی می‌باشد (۴۰). مواد مؤثره این گیاه سبب افزایش قدرت سیستم ایمنی بدن در مقابل عوامل بیماری‌زا می‌گردد (۲۲ و ۲۴). این گیاه به‌عنوان دارویی مؤثر در پیشگیری و درمان امراضی چون سرماخوردگی، آنفولانزا، التهابات پوستی و عفونت‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۳ و ۳۰).

جوانه‌زنی بذر یکی از حساس‌ترین مراحل زندگی گیاه است که با جذب آب توسط بذر شروع، با طول‌شدن محور جنین از پوشش بذر به اتمام می‌رسد (۹). جوانه‌زنی سریع، یکنواخت و کامل بذر باعث سبز شدن مطلوب و رشد اولیه سریع گیاه می‌شود. رشد اولیه مطلوب سبب دریافت بیشتر تشعشع خورشیدی و افزایش عملکرد می‌گردد. جوانه‌زنی بذر سرخارگل کم و نامنظم است که ناشی از خواب بذر می‌باشد (۷). کشت مستقیم بذر سرخارگل موجب جوانه‌زنی پایین و غیرقابل‌قبولی می‌گردد. در یک آزمایش مزرعه‌ای سرخارگل، جوانه‌زنی کم‌تر از ۱۰ درصد بذر سرخارگل گزارش شده است (۳۴). جوانه‌زنی پایین بذر سرخارگل را می‌توان به

نفوذپذیری پایین غشاهای داخلی بذر سرخارگل که کمون فیزیکی را تحمیل می‌کند مرتبط دانست (۷). کمون بذر سرخارگل ترکیبی از دو نوع کمون فیزیولوژیکی به همراه کمون فیزیکی می‌باشد (۳۳).

پرایمینگ بذر شامل روش‌های بسیار ساده‌ای است که می‌تواند در جوانه‌زنی بهتر و استقرار مطلوب گیاهچه مؤثر باشد. یکی از روش‌های بیوفیزیکی پرایمینگ بذر، پیش‌تیمار بذر با امواج آلتراسونیک یا فراصوتی می‌باشد (۴۰). استفاده از روش‌های فیزیکی به‌عنوان راهی برای افزایش تولیدات کشاورزی و کاهش آلودگی‌های زیست‌محیطی عنوان شده است (۲۳، ۳۵ و ۴۰). استفاده از امواج فراصوت، میدان الکترومغناطیسی، لیزر و اشعه جهت بهبود خصوصیات جوانه‌زنی پیشنهاد شده است (۳۴)؛ تیمار بذر با روش‌های یاد شده به بذر اجازه رشد و توسعه اولیه سریع‌تری را می‌دهد (۳۴). ضربه‌های ممتد امواج فراصوتی سبب نفوذپذیری پوسته بذر، تسریع در جذب آب و بالا رفتن دمای بافت‌ها می‌شوند. افزایش جذب آب در ابتدا باعث شتاب در آماس بذرهای تیمار شده می‌گردد که به‌دنبال آن تغییرات محسوسی در سوخت‌وساز بذر رخ می‌دهد (۳۴). آبنوشی بذر اجازه فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیکی از جمله آمیلاز

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در مرحله جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای سرخارگل بود.

مواد و روش‌ها

معرفی گیاه مورد بررسی: در این مطالعه از رقم *Echinacea purpurea* L. تهیه شده از پاکان بذر اصفهان استفاده شد (بذرهای در آبان ۱۳۹۶ برداشت شده بود). مبدأ این گیاه در شمال آمریکا بوده و بومی ایران نمی‌باشد. کاشت آن برای اولین بار توسط کوره‌پز به‌صورت آزمایشی در سال ۱۳۸۰ انجام شد (۲۰).

اجرای طرح آزمایشی: جهت بررسی اثر امواج فراصوتی بر جوانه‌زنی و برخی خصوصیات رشد هتروتروفیک سرخارگل، آزمایشی در سال ۱۳۹۶ در آزمایشگاه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۴ تکرار اجرا شد و نیز برای بررسی خصوصیات بیوشیمیایی بذر سرخارگل همان آزمایش با ۵ تیمار و ۴ تکرار دوباره تکرار شد و برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها و میزان کلروفیل به گیاهچه‌ها اجازه رشد در محیط پتری‌دیش به مدت هشت روز پس از جوانه‌زنی داده شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۵ مدت پیش تیمار ۰، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ دقیقه با دستگاه التراسونیک (Elmasonic, S30H, Germany) ساخت آلمان با قدرت ثابت ۵۰ وات (این قدرت بر اساس نتایج آزمایش‌هایی بود که نتایج آن ارائه نشد) بود. دستگاه التراسونیک از امواج مکانیکی و صوتی استفاده می‌کند، نحوه کار دستگاه به این شکل است که بذرها در یک مایع واسطه (آب) غوطه‌ور می‌باشند این مایع توسط امواج التراسونیک مرتعش می‌گردد، ارتعاش بی‌درپی جذب آب و نیز دمای آب اطراف بذر را بالا می‌برد؛ بعد از پایان اعمال تیمار با امواج فراصوتی ۳۰ عدد بذر سرخارگل درون هر پتری‌دیش قرار داده شد. ۵ تیمار در انکوباتور در دمای ۲۵ °C (بر اساس نتایج

جهت شکستن نشاسته، پروتئاز برای تجزیه پروتئین و لیپاز جهت شکستن لیپیدها را می‌دهد. ترکیب عمل این آنزیم‌های هیدرولیکی موجب فراهم شدن قندهای اصلی، آمینواسیدها و اسیدهای چرب شده و انتقال آن‌ها به محور جنینی را به دنبال دارد.

نشاسته و قندهای محلول از مهم‌ترین ترکیبات کربوهیدراتی در بذر می‌باشند (۱۴). در طول جوانه‌زنی، ابتدا نشاسته به قندهای آزاد و دکسترین تبدیل می‌شود. این قندها در لپه‌های بذرها، دولپه‌ای به ساکارز (قند غیراحیایی) تبدیل می‌شوند و در محور جنینی، ساکارز به وسیله آنزیم اینورتاز به گلوکز (قند احیایی) و فروکتوز تبدیل می‌شود و آنگاه جهت تأمین انرژی یا پیش‌ماده‌های لازم در ساخت ترکیبات جدید مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱ و ۱۴). در نتیجه با جوانه‌زنی و ظهور گیاهچه از میزان نشاسته (کربوهیدرات متداول ذخیره‌ای در بذر) کاسته و به‌میزان قندهای کل، احیایی و غیراحیایی افزوده می‌شود (۱۴).

افزایش فعالیت آنزیم‌ها تحت تأثیر امواج فراصوت از جمله آنزیم آلفا‌آمیلاز، پروتئاز و لیپاز که دخیل در امر جوانه‌زنی می‌باشند مشاهده شده است. گزارش شده است که فعالیت آنزیم آلفا‌آمیلاز در بذرها، پیش تیمار با امواج فراصوتی نسبت به شاهد بیشتر بود (۱۲). در بررسی تأثیر امواج فراصوتی بر جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم آلفا‌آمیلاز در بذرها، جو گزارش شده است که در بذرها، پیش تیمار شده، فعالیت آنزیم و دنبال آن جوانه‌زنی بذر جو افزایش یافت (۴۰). افزایش فعالیت آنزیم آلفا‌آمیلاز و جوانه‌زنی جو به افزایش نفوذپذیری پوسته جو نسبت به آب، تسهیل در نفوذپذیری و افزایش سرعت نفوذ آب و به دنبال آن آماس بذر نسبت داده شده بود (۴۰). بنابراین هدف از انجام این پژوهش، مطالعه اثر امواج فراصوتی بر جوانه‌زنی، میزان فعالیت آنزیم آلفا‌آمیلاز، قندها، کلروفیل، پراکسید هیدروژن و برخی

درصد جوانه‌زنی ($1/D_{50}$) به‌عنوان سرعت جوانه‌زنی در نظر گرفته شد (۳۷). درصد جوانه‌زنی با تقسیم تعداد بذرهای جوانه‌زده به کل تعداد بذرهای مورد استفاده ضرب در ۱۰۰ به‌دست آمد. محاسبات مورد نیاز با استفاده از برنامه جرمین (Germin) انجام شد (۳۷). کارایی استفاده از ذخایر بذر با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (۳۵):

$$\text{کارایی استفاده از ذخایر بذر} = \frac{\text{وزن خشک گیاهچه}}{\text{مقدار استفاده از ذخایر بذر}} \quad (۱)$$

استخراج قندها: برای استخراج قندهای محلول از بذرهای تازه جوانه‌زده (۰/۰۵ گرم) و اتانول استفاده شد (۳۰).

قند کل: برای اندازه‌گیری قند کل، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره الکلی تغلیظ شده، ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر با سه میلی‌لیتر معرف آنترون مخلوط و به‌مدت ۲۰ دقیقه در بن‌ماری در دمای 95°C قرار گرفت. آن‌گاه در طول موج ۶۲۰ نانومتر قرائت شد (۲۵).

قندهای احیایی: برای سنجش قندهای احیایی، ۱/۵ میلی‌لیتر از عصاره الکلی تغلیظ شده با ۱/۵ میلی‌لیتر از معرف اسید دی‌نیتروسالیسیلیک مخلوط شده و به‌مدت ۲۰ دقیقه در بن‌ماری در دمای 90°C قرار گرفت. پس از آن بلافاصله ۰/۵ میلی‌لیتر پتاسیم سدیم تارتارات 40 درصد به آن افزوده شد و پس از سرد شدن لوله‌ها، جذب نور در طول موج ۵۷۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (Unico, chine) قرائت گردید (۲۶).

قندهای غیراحیایی: بدین‌منظور ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره الکلی تغلیظ شده با ۰/۱ میلی‌لیتر هیدروکسید پتاسیم ۳۰ درصد مخلوط شده و به‌مدت ۱۰ دقیقه در بن‌ماری در دمای 100°C قرار داده شد. پس از سرد شدن لوله‌ها، سه میلی‌لیتر معرف آنترون به آن افزوده و

آزمایش‌هایی بود که داده‌های آن ارائه نشد) قرار گرفت. جوانه‌زنی هر ۱۲ ساعت بررسی گردید. معیار جوانه‌زنی خروج ریشه‌چه به اندازه دو میلی‌متر یا بیش‌تر بود (۲).

در همه تیمارهای دمایی، برای هر تکرار منحنی پیشرفت جوانه‌زنی در مقابل زمان (ساعت) ترسیم و زمان لازم برای ۵۰ درصد (D_{50}) جوانه‌زنی از طریق درون‌یابی برآورد گردید. همچنین معکوس زمان تا ۵۰

استخراج آنزیم آلفا‌آمیلاز: برای استخراج عصاره آنزیم، از بذرهای سرخارگل پس از طی ۲۴ ساعت از جوانه‌زنی استفاده گردید. ۰/۲ گرم از بذر جوانه‌زده با دو میلی‌لیتر بافر استخراج شامل (استات سدیم ۵۰ میلی‌مولار و کلرید کلسیم ۲۰ میلی‌مولار با $\text{pH} = 4/8$) هموژن گردید. سپس عصاره حاصل با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه، به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای 4°C سانتریفیوژ و فاز شفاف رویی به‌مدت ۱۵ دقیقه در بن‌ماری در دمای 75°C به‌منظور غیرفعال کردن آنزیم بتا‌آمیلاز قرار داده شد (۱۵).

فعالیت آنزیم آلفا‌آمیلاز: مخلوط واکنش شامل یک میلی‌لیتر از عصاره استخراجی، ۰/۵ میلی‌لیتر نشاسته یک درصد و یک میلی‌لیتر بافر استخراج بود که با ورتکس با هم مخلوط شدند و سپس در بن‌ماری به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای 35°C انکوبه گردید (۳). واکنش با افزودن ۰/۵ میلی‌لیتر معرف ۵ و ۳ اسید دی‌نیتروسالیسیلیک متوقف شد. سپس مخلوط حاصل به‌مدت پنج دقیقه در آب جوش قرار داده شد. آن‌گاه جذب در طول موج ۵۴۰ نانومتر قرائت گردید و با منحنی استاندارد مالتوز، فعالیت آلفا‌آمیلاز بر اساس قند احیایی تشکیل شده ($\text{min}^{-1}\text{g}^{-1}\text{FW}$) تعیین گردید.

بر اساس میکرومول تتراگایاکول تشکیل شده ضریب خاموشی (ε) برابر با $26/6 \text{ m M}^{-1}\text{Cm}^{-1}$ در دقیقه به ازای یک میلی گرم پروتئین بیان گردید (۱۱).

فعالیت آنزیم کاتالاز: مخلوط واکنش به حجم سه میلی لیتر شامل $2/8$ میلی لیتر بافر فسفات 50 میلی مولار با $\text{pH}=6/8$ ، عصاره آنزیمی (100 میکرولیتر)، آب اکسیژنه $0/45$ مولار اضافه شد. فعالیت آنزیمی با اضافه کردن آب اکسیژنه به مخلوط واکنش شروع شد. کاهش میزان جذب نور در طول موج 240 نانومتر در یک دقیقه اول بعد از افزودن آب اکسیژنه قرائت گردید. فعالیت آنزیم بر اساس ضریب خاموشی (ε) برابر با $40 \text{ m M}^{-1}\text{Cm}^{-1}$ در دقیقه به ازای یک میلی گرم پروتئین بیان گردید (۱۱).

فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز: مخلوط واکنش به حجم سه میلی لیتر شامل $2/8$ میلی لیتر بافر فسفات 25 میلی مولار با $\text{pH}=6/8$ ، عصاره آنزیمی (100 میکرولیتر) و پیروگالل $0/3$ مولار بود. با اضافه کردن پیروگالل به مخلوط واکنش فعالیت آنزیمی آغاز شد. تغییرات جذب نور در طول موج 420 نانومتر در یک دقیقه اول اندازه گیری شد. در نهایت فعالیت ویژه آنزیم پلی فنل اکسیداز بر اساس میکرومول پورپوروگالین تشکیل شده، ضریب خاموشی (ε) برابر با $2/47 \text{ m M}^{-1}\text{Cm}^{-1}$ در دقیقه به ازای 1 میلی گرم پروتئین بیان گردید (۲۱).

استخراج عصاره گلوکاتایون S ترانسفرز: استخراج عصاره از روش 10 انجام شد.

فعالیت آنزیم گلوکاتایون S- ترانسفرز: مخلوط واکنش به حجم یک میلی لیتر شامل 850 میکرولیتر بافر فسفات $0/1$ مولار با pH برابر با $7/5$ ، $3/6$ GSH میلی مولار (50 میکرولیتر)، 1 - کلرو، 2 و 4 - دی نیترو بنزن یک میلی مولار (50 میکرولیتر) و عصاره بود (50 میکرولیتر) بود. افزایش جذب نور در طول موج 340 نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر

به مدت 20 دقیقه در بن ماری در دمای 40°C قرار گرفتند. سپس جذب نور هر یک از نمونه ها در طول موج 620 نانومتر قرائت شد (۱۶).

کلروفیل: برای اندازه گیری کلروفیل از برگ های لپه ای گیاهچه هشت روز پس از جوانه زنی استفاده شد. جهت سنجش این پارامتر استخراج از روش (۶) و اندازه گیری غلظت کلروفیل از روش (۵) استفاده گردید.

پراکسید هیدروژن: استخراج و اندازه گیری پراکسید هیدروژن با استفاده از رنگ سنجی (۱۹) انجام شد.

هدایت الکتریکی: به منظور اندازه گیری هدایت الکتریکی 30 عدد بذر در 4 تکرار وزن شده و در بشرهای حاوی 500 میلی لیتر آب مقطر قرار داده شد. بشرها به مدت 24 ساعت در دمای 20°C قرار گرفتند. بعد از سپری شدن 24 ساعت هدایت الکتریکی قرائت شد. عدد حاصل بر وزن بذرها تقسیم شده و میزان هدایت الکتریکی به صورت میکروزیمنس بر متر بر گرم محاسبه شد (۱۸).

استخراج عصاره برای سنجش فعالیت آنزیم های گایاکول پراکسیداز، کاتالاز و پلی فنل اکسیداز: مقدار $0/05$ گرم بافت تر گیاهچه با دو میلی لیتر بافر فسفات $0/1$ مولار با $\text{pH}=6/8$ در هاون چینی سرد هموزن گردید. آن گاه به مدت 15 دقیقه با سرعت 10000 دور در دقیقه در دمای 4°C سانتریفیوژ گردید. از فاز شفاف رویی برای اندازه گیری فعالیت آنزیمی استفاده شد (۲۱).

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز: مخلوط واکنش به حجم سه میلی لیتر شامل $2/7$ میلی لیتر بافر فسفات 25 میلی مولار با $\text{pH}=6/8$ ، گایاکول $0/6$ مولار (100 میکرولیتر)، عصاره آنزیمی (100 میکرولیتر)، آب اکسیژنه $1/2$ مولار (100 میکرولیتر)، فعالیت آنزیمی با اضافه کردن آب اکسیژنه به مخلوط واکنش شروع شد. افزایش جذب نور در طول موج 470 نانومتر در یک دقیقه اول بعد از افزودن آب اکسیژنه اندازه گیری شد. در نهایت فعالیت آنزیم پراکسیداز

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که پیش‌تیمار با امواج فراصوتی بر صفات درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، کارایی استفاده از ذخایر بذر، وزن خشک گیاهچه، فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز (جدول ۱)، قند کل، قندهای احیایی و غیراحیایی و نسبت قندهای غیراحیایی به احیایی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲).

قرائت گردید. از فعالیت آنزیم در یک دقیقه دوم برای سنجش فعالیت آنزیم استفاده گردید. ضریب خاموشی (ε) برابر $9/6 \text{ m M}^{-1}\text{Cm}^{-1}$ در دقیقه به‌زای یک میلی‌گرم پروتئین بیان گردید (۱۰).
داده‌های به‌دست آمده از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.2 (۳۶) مورد تجزیه آماری قرار گرفتند و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد و رسم نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس صفات درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، کارایی استفاده از ذخایر بذر، وزن خشک گیاهچه و آلفا آمیلاز.

Table 1. Analysis of variance of traits germination percent, Germination Rate, Seed Reserve Use Efficiency, seedling dry weight, and alpha amylase activity.

میانگین مربعات Mean square					درجه آزادی df	منبع تغییرات S.O.V
آلفا آمیلاز α-amylase	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight	کارایی استفاده از ذخایر بذر Seed Reserve Use Efficiency	سرعت جوانه‌زنی Germination Rate	درصد جوانه‌زنی Germination percent		
0.0956**	0.0002**	0.0367**	0.000423**	18.9**	4	تیمارها Treatments
0.00056	0.00009	0.0042	0.0000034	1.305	15	خطا Error
6.1	5.1	7.9	4.6	2.9		ضریب تغییرات (درصد) CV(%)

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪.

** Significant at 1% probability level.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس صفات قند کل، قندهای احیایی و غیراحیایی و نسبت قندهای غیراحیایی به احیایی.

Table 2. Analysis of variance of total sugar, reducing sugars, non-reducing sugars and ratio of non-reducing to reducing sugars.

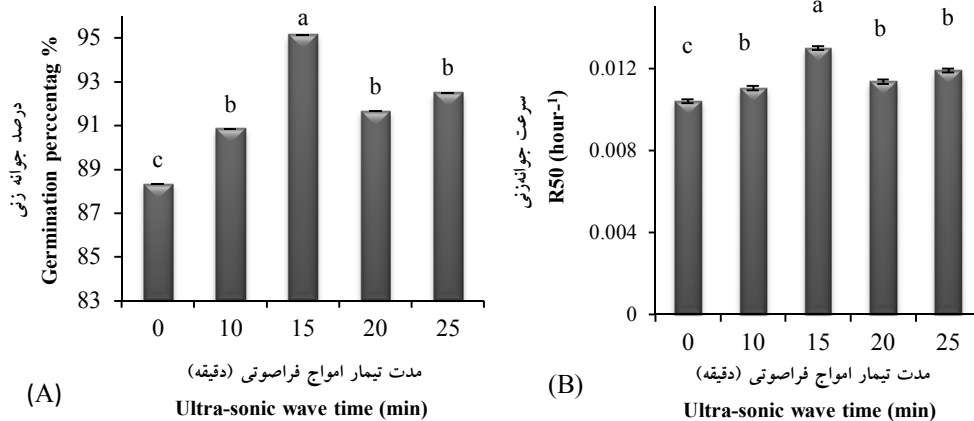
میانگین مربعات Mean square				درجه آزادی df	منبع تغییرات S.O.V
قندهای غیراحیایی / احیایی Non-reducing sugar to reducing sugar ratio	قندهای غیراحیایی Non-reducing sugars	قندهای احیایی Reducing sugars	قند کل Total sugar		
0.011**	427.28**	18770.57**	5820.18**	4	تیمارها Treatments
0.00004	5.335	417.03	216.418	15	خطا Error
5.12	6.68	5.4	11.2		ضریب تغییرات (درصد) CV(%)

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪.

** Significant at 1% probability level.

پیش‌تیمار ۱۵ دقیقه با میانگین ۰/۱۳۰ در ساعت مشاهده گردید. ارتعاشات پی‌درپی امواج فراصوتی سبب نفوذپذیرتر شدن پوسته بذر و تسریع در جذب آب به داخل بذر گردید. افزایش جذب آب باعث شتاب در آماس بذرها تحت‌تأثیر پیش‌تیمار با امواج فراصوتی گردیده و به‌دنبال آن، جوانه‌زنی بهبود یافت.

درصد و سرعت جوانه‌زنی: نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که هر چهار مدت پیش‌تیمار با امواج فراصوتی سبب افزایش درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی نسبت به شاهد گردید (شکل ۱). درصد جوانه‌زنی در تیمارهای ۱۵، ۲۵، ۲۰ و ۱۰ دقیقه به‌ترتیب ۹۵/۱، ۹۲/۵، ۹۱/۶، ۹۰/۸۳ و در تیمار شاهد ۸۸/۳ درصد بود. بیش‌ترین سرعت جوانه‌زنی در



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر مدت تیمار امواج فراصوتی بر درصد جوانه‌زنی (A) و سرعت جوانه‌زنی (B) (hour⁻¹) بذر سرخارگل.

Fig. 1. Mean comparison of ultra-sonic-wave duration effect on germination percentage (A) and germination rate (R50; hour⁻¹) (B) of purple coneflower seeds.

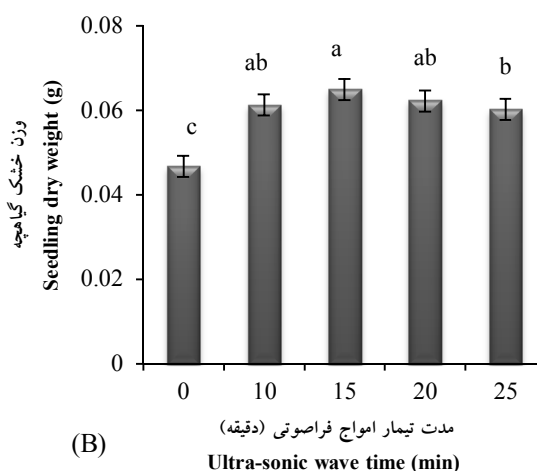
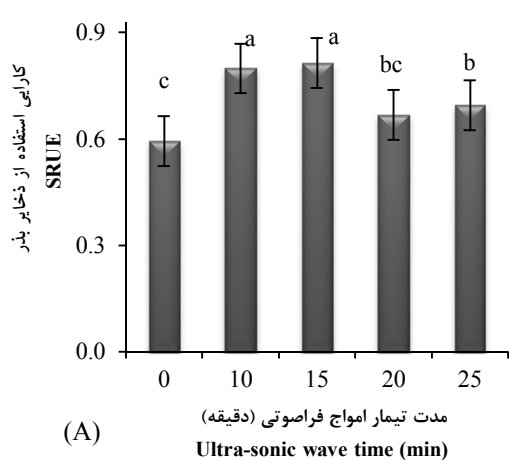
اندامک‌ها و پروتئین‌ها می‌نمایند. افزایش کارایی استفاده از ذخایر بذری در اثر پیش‌تیمار با امواج فراصوتی می‌تواند مربوط به افزایش نفوذپذیری پوسته بذر، تسریع در جذب آب و آماس بافت‌ها باشد. علاوه بر این، بالا رفتن دمای بافت‌ها بر اثر امواج نیز می‌تواند دخیل باشد (۲۳).

وزن خشک گیاهچه: افزایش کارایی استفاده از ذخایر بذر در اثر پیش‌تیمار با امواج فراصوت سبب افزایش وزن خشک گیاهچه در همه تیمارها نسبت به شاهد گردید (شکل ۲). بیش‌ترین میزان وزن خشک گیاهچه در مدت ۱۵ دقیقه با میانگین ۰/۰۶۵ گرم و کم‌ترین نیز در تیمار شاهد با میانگین ۰/۰۴۶۷ گرم حاصل گردید. گزارش شده است که بهبود خصوصیات

کارایی استفاده از ذخایر بذر: شکل ۲ نتایج مربوط به مقایسه میانگین‌های کارایی استفاده از ذخایر بذر را نشان می‌دهد. پیش‌تیمار با امواج فراصوتی سبب افزایش کارایی استفاده از ذخایر بذر در اغلب تیمارها نسبت به شاهد گردید. بیش‌ترین میزان کارایی استفاده از ذخایر بذر در تیمارهای ۱۵ و ۱۰ دقیقه با میانگین حدود ۰/۸ و کم‌ترین میزان آن در تیمار شاهد با میانگین ۰/۵۹ مشاهده گردید. افزایش کارایی ذخایر بذری وابسته به آنزیم‌های هیدرولیتیک می‌باشد که سبب تجزیه مواد ذخیره‌ای بذری و در نهایت مصرف آن توسط گیاهچه می‌گردد. زمان بین آبنوشی و جوانه‌زنی بذرها زمانی است که آنزیم‌های لازم برای جوانه‌زنی فعال شده، و بذر شروع به بازسازی و ترمیم

در گیاهان مرتبط دانستند (۴۰). یکی دیگر از دلایل افزایش وزن خشک گیاهچه در بذرهای پیش‌تیمارشده با امواج فراصوت را می‌توان به افزایش کارایی ذخایر بذر و پویایی ذخایر بذر نسبت داد که به دنبال آن، سرعت متابولیسم بذرهای افزایش یافته و تولید ماده خشک بیش‌تر گردید (۴۰).

جوانه‌زنی در بذرهای جو پیش‌تیمارشده با امواج فراصوتی ناشی از افزایش جذب آب و شتاب در آماس بذرهای تحت‌تأثیر پیش‌تیمار با امواج فراصوتی بود که به دنبال آن وزن تر گیاهچه افزایش یافته بود (۱۲). یلداگارد و همکاران (۲۰۰۸) افزایش وزن گیاهچه در بذرهای پیش‌تیمارشده با امواج فراصوت را به افزایش و تسریع متابولیسم با محتوی آبی بیش‌تر



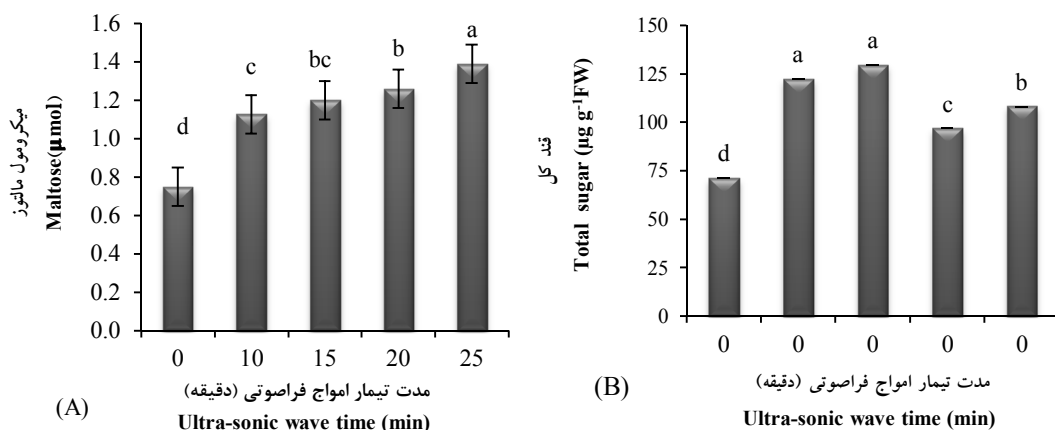
شکل ۲- مقایسه میانگین اثر مدت تیمار امواج فراصوتی بر کارایی استفاده از ذخایر بذر (A) و وزن خشک گیاهچه (گرم) (B).

Fig. 2. Mean comparison of ultra-sonic wave duration effect on Seed Reserve Use Efficiency (SRUE) (A) and seedling dry weight (g) (B).

جذب آب سبب افزایش سطح اسید جیبرلیک شده و به دنبال آن، اسید جیبرلیک موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک از جمله آلفا‌آمیلاز می‌گردد. این افزایش سبب تجزیه نشاسته به قند می‌گردد. تجزیه نشاسته یکی از اساسی‌ترین فعالیت‌ها در طول جوانه‌زنی می‌باشد زیرا تحرک قندهای کل نقش مهمی را در جهت کاهش پتانسیل آبی سلول و در نتیجه ورود آب به سلول و طویل شدن سلول را سبب شده و موجبات رشد گیاهچه را فراهم می‌آورد (۱۴). افزایش قندهای کل حتی بیان ژن‌های دخیل در تنظیم فرآیند اسمزی را در این مرحله تحت‌تأثیر قرار می‌دهد (۴).

فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز: امواج فراصوتی سبب افزایش فعالیت آنزیم آلفا‌آمیلاز در همه مدت‌ها نسبت به شاهد گردید (شکل A ۳). پژوهشگران متعددی (۲۳، ۲۷، ۳۶ و ۴۰) افزایش سیالیت دیواره سلولی در نتیجه حرکت عناصر غذایی موجود در آندوسپرم را یکی از دلایل افزایش فعالیت آنزیم آلفا‌آمیلاز تحت اثر امواج فراصوتی بیان داشتند.

قند کل: پیش‌تیمار بذرهای با امواج فراصوتی تجمع قند کل را در همه تیمارها نسبت به شاهد افزایش داد (شکل B ۳). بیش‌ترین میزان قند کل در تیمارهای ۱۰ و ۱۵ دقیقه حاصل گردید. جوانه‌زنی از بذرهای خشک و در حال سکون با جذب آب شروع می‌شود.

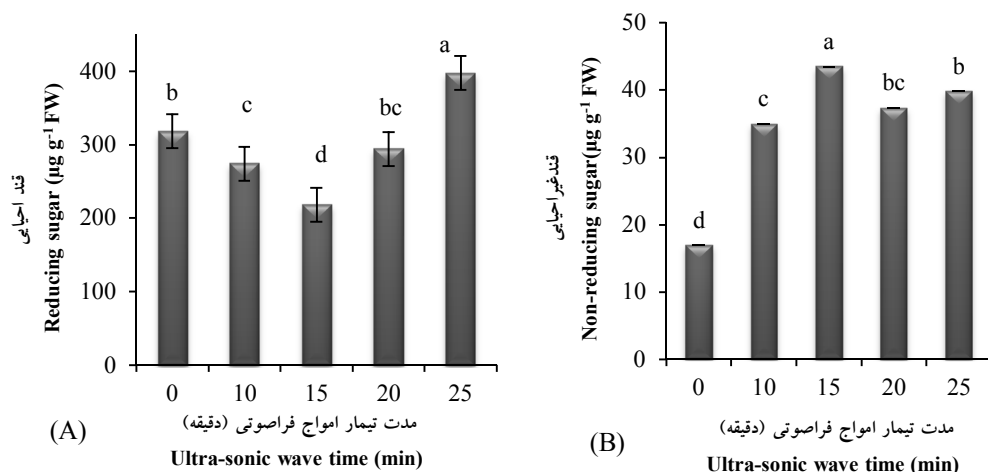


شکل ۳- مقایسه میانگین اثر مدت تیمار امواج فراصوتی بر فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز (میکرومول بر گرم بر دقیقه) (A) و قند کل (میکروگرم بر گرم وزن تر) (B) بذر جوانه زده سرخارگل.

Fig. 3. Mean comparison of ultra-sonic wave duration effect on alpha amylase activity ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{min}^{-1}$) (A) and total sugar ($\mu\text{g g}^{-1} \text{FW}$) (B) in purple coneflower germinated seeds.

بالای ذخایر بذری باشد. با افزایش قند کل، میزان قندهای احیایی و غیراحیایی نیز افزایش یافت اما میزان افزایش در قندهای غیراحیایی مشهودتر بود. کاهش میزان قندهای احیایی در تیمار ۱۵ دقیقه ممکن است مربوط به سرعت بالای هیدرولیز نشاسته باشد که طی آن، قندهای احیایی به قندهای غیراحیایی مثل ساکارز جهت انتقال به محور جنینی تبدیل می شوند. در محور جنینی، ساکارز توسط آنزیم اینورتاز شکسته شده و برای تغذیه جنین مورد استفاده قرار می گیرد (۴).

قندهای احیایی و غیر احیایی: میزان قندهای احیایی در تیمار ۲۵ دقیقه با میانگین $405/5 \mu \text{gg}^{-1} \text{FW}$ در رتبه اول قرار داشت و شاهد با میانگین $\mu \text{gg}^{-1} \text{FW}$ ۳۱۸ رتبه دوم را به خود اختصاص داد (شکل ۴). کمترین میزان قند احیایی در تیمار ۱۵ دقیقه مشاهده شد. بیشترین میزان قندهای غیراحیایی در تیمار ۱۵ دقیقه با میانگین $43/5$ و کمترین مقدار آن در شاهد با میانگین $16/9 \mu \text{gg}^{-1} \text{FW}$ گیاهچه به دست آمد (شکل ۴). افزایش میزان قندهای غیراحیایی تحت اثر پیش تیمار امواج فراصوتی ممکن است ناشی از پویایی

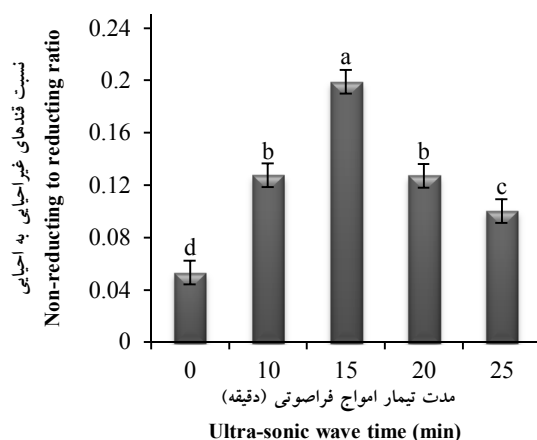


شکل ۴- مقایسه میانگین اثر مدت تیمار امواج فراصوتی بر میزان قندهای احیایی (میکروگرم بر گرم وزن تر) (A) و قندهای غیراحیایی (میکروگرم بر گرم وزن تر) (B) بذر جوانه زده سرخارگل.

Fig. 4. Mean comparison of ultra-sonic wave duration effect on reducing sugars ($\mu\text{g g}^{-1} \text{FW}$) (A) and non-reducing sugars ($\mu\text{g g}^{-1} \text{FW}$) (B) in purple coneflower germinated seeds.

احیایی نسبت به غیراحیایی یعنی این‌که بذر در شرایط تنش بوده و موجب بالا رفتن تنفس در جنین می‌شود. قندهای احیایی نقش مهمی در واکنش‌های آمادری‌مایلارد به عهده دارند (۲۸). تجمع قندهای احیایی منجر به افزایش سرعت تنفس شده و انرژی و مهیا بودن غذا برای بذرهای در حال جوانه‌زنی را کاهش می‌دهد (۸ و ۳۹).

نسبت قندهای غیراحیایی به قندهای احیایی: روند تغییرات نسبت قندهای غیراحیایی به قندهای احیایی تحت اثر امواج فراصوتی در شکل ۵ ارائه شده است؛ این نسبت در تیمارهای شاهد، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ دقیقه به ترتیب ۰/۰۵، ۰/۱۳، ۰/۲، ۰/۱۳ و ۰/۱ بود. بیش‌ترین مقدار این نسبت در تیمار ۱۵ دقیقه به دست آمد (شکل ۵). بالا بودن میزان قندهای غیراحیایی به نفع جنین می‌باشد زیرا بالا بودن میزان قندهای



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر مدت تیمار امواج فراصوتی بر نسبت قندهای غیراحیایی به احیایی.

Fig. 5. Mean comparison of ultra-sonic wave duration effect on non-reduction to reduction sugars ratio.

پراکسیداز، پلی‌فنل‌اکسیداز، کاتالاز، گلوکاتایون S-ترانسفراز، کلروفیل a و b را در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر قرار داد (جدول‌های ۳ و ۴).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که پیش‌تیمار بذرها با امواج فراصوتی بر صفات غلظت پراکسید هیدروژن، هدایت الکتریکی، گایاکول

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس صفات غلظت پراکسید هیدروژن، هدایت الکتریکی، گایاکول پراکسیداز و کاتالاز.

Table 3. Analysis of variance of traits hydrogen peroxide (H₂O₂), electrical conductivity (EC) Guaiacol peroxidase (GPX) and catalase (CAT).

میانگین مربعات Mean square				درجه آزادی df	منبع تغییرات S.O.V
کاتالاز CAT	گایاکول GPX	هدایت الکتریکی EC	پراکسید هیدروژن H ₂ O ₂		
0.0032**	0.002**	603.62**	0.033**	4	تیمارها Treatments
0.00059	0.0001	119.9	0.0003	15	خطا Error
6.8	6.18	5.4	5.9		ضریب تغییرات (درصد) CV(%)

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪.

** Significant at 1% probability level.

جدول ۴- تجزیه واریانس صفات گلو تاتیون s- ترانسفراز، پلی فنل اکسیداز، کلروفیل a و b.

Table 4. Analysis of variance of traits, Glutathione-S transferase (GST), polyphenol oxidase (POX) chlorophyll a (chl a) and b (chl b).

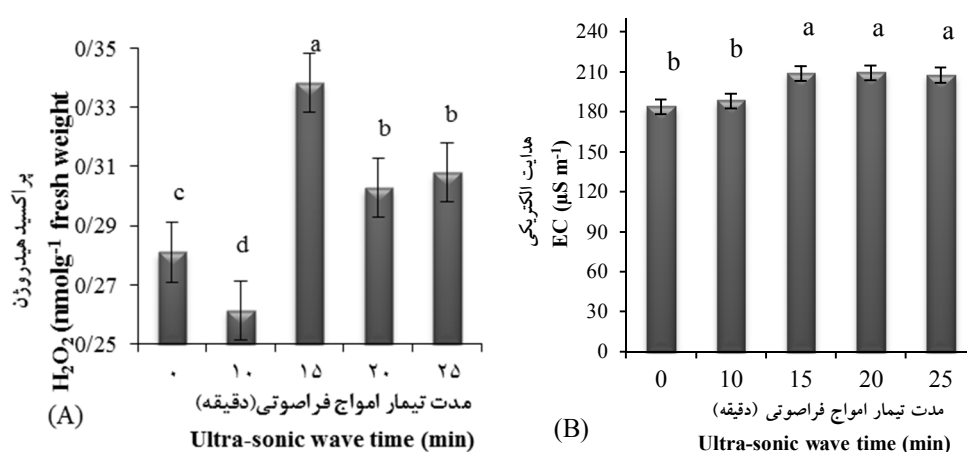
میانگین مربعات Mean square				درجه آزادی df	منبع تغییرات S.O.V
کلروفیل Chlb	کلروفیل Chla	پلی فنل اکسیداز POX	GST		
6.695**	9.325**	0.006**	0.035**	4	تیمارها Treatments
0.86	1.305	0.0012	0.0014	15	اشتباه Error
13.2	12.4	4.8	5.89		ضریب تغییرات (درصد) CV(%)

** معنی دار در سطح احتمال ۱٪.

** Significant at 1% probability level.

هدایت الکتریکی: پیش تیمار بذرها با امواج فراصوتی در مدت های ۱۵، ۲۰ و ۲۵ دقیقه سبب افزایش هدایت الکتریکی بذرها نسبت به شاهد گردید (شکل ۶). ضربه های ممتد امواج فراصوت سبب نفوذ پذیری پوسته، غشاهای بذر و افزایش جذب آب گردیده و به دنبال آن، نشت مواد به محیط آبی زیاد گردید و به دنبال آن هدایت الکتریکی بذرها افزایش پیدا کرد.

پراکسید هیدروژن: در اغلب تیمارها میزان پراکسید هیدروژن بیشتر از شاهد بود (شکل ۶)، بیشترین غلظت آن در تیمار ۱۵ دقیقه مشاهده گردید. امواج فراصوت، امواج مکانیکی هستند که فرکانس آنها بیش از ۲۰ KHZ بوده و دارای انرژی بالایی می باشند و می توانند سبب بالا رفتن دمای بافت ها شوند (۲۳). بالا رفتن دما به همراه ضربه های ممتد امواج فراصوت ممکن است سبب تولید گونه های فعال اکسیژن از جمله پراکسید هیدروژن گردند.



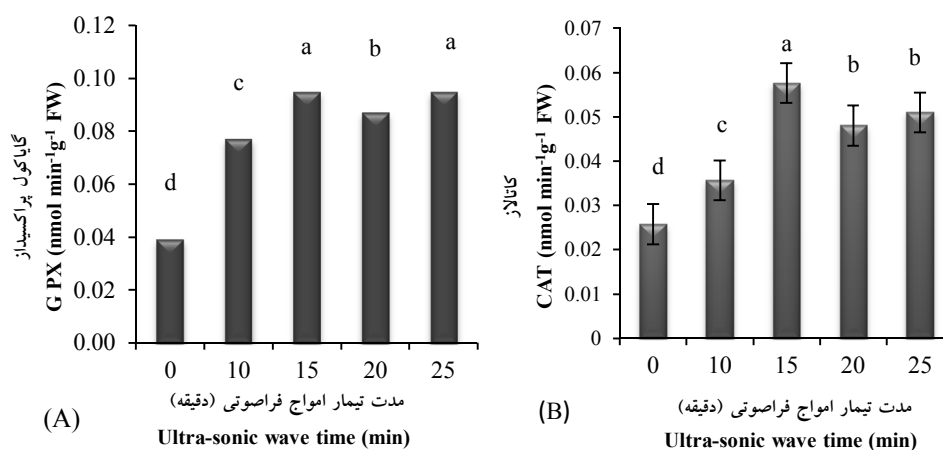
شکل ۶- مقایسه میانگین اثر مدت تیمار امواج فراصوتی بر غلظت پراکسید هیدروژن (نانومول بر گرم بافت تر) گیاهچه (A) و هدایت الکتریکی (میکروزیمنس بر متر) بذر (B).

Fig. 6. Mean comparison of ultra-sonic wave on duration effect hydrogen peroxide concentration (nmol⁻¹ fresh weight) in seedling (A) and electrical conductivity of seed (µS m⁻¹) (B).

مدت‌های ۱۵ و ۲۵ دقیقه‌ای امواج فراصوتی حاصل شد و کم‌ترین میزان آن در تیمار شاهد مشاهده گردید. کاتالاز از پراکسید هیدروژن به‌عنوان سوپسترا استفاده می‌کند و با تجزیه سریع این ماده، اثرات مخرب آن را مهار می‌کند. پراکسید هیدروژن برای سلول‌های گیاهی به‌خصوص کلروپلاست بسیار مضر می‌باشد چرا که در غلظت‌های پایین باعث مهار فعالیت آنزیم‌های چرخه کلون به‌ویژه آنزیم‌های دارای گروه سولفیدریل از جمله گلیسرآلدید، ۳- فسفات دهیدروژناز و فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات می‌شود. کاتالاز فقط در پراکسی‌زوم وجود دارد بنابراین دامنه فعالیت آن محدود است (۱۷ و ۲۹).

گایاکول پراکسیداز: نتایج مقایسه میانگین فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در شکل A ۷ نشان داده شده است، بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در تیمارهای ۱۵ و ۲۵ دقیقه به‌دست آمد و کم‌ترین میزان آن نیز در تیمار شاهد مشاهده شد. گایاکول پراکسیداز از اکسیداسیون ترکیبات فنلی گایاکول برای سم‌زدایی و تجزیه آب اکسیژنه استفاده می‌کند. گایاکول به‌عنوان دهنده الکترون عمل می‌نماید (۱۷ و ۲۹).

کاتالاز: شکل B ۷ نتایج مقایسه میانگین اثر امواج فراصوتی بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز را نشان می‌دهد، بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در



شکل ۷- مقایسه میانگین اثر مدت تیمار امواج فراصوتی بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (نانومول بر دقیقه بر گرم بافت تر) (A) و کاتالاز (نانومول بر دقیقه بر گرم بافت تر) (B) گیاهچه سرخارگل.

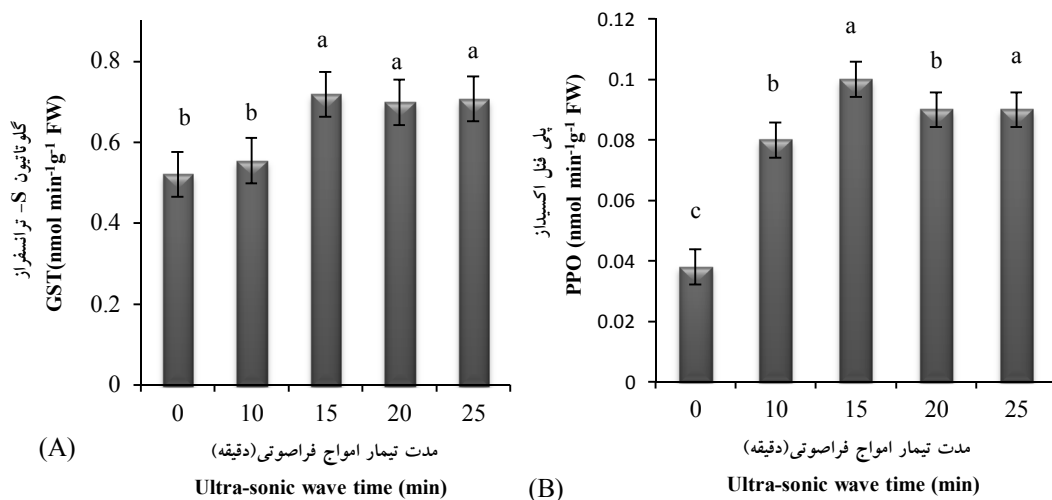
Fig. 7. Mean comparison of ultra-sonic wave duration effect on activity of guaiacol peroxidase (nmol min⁻¹g⁻¹ FW) (A) and catalase (nmol min⁻¹g⁻¹ FW) (B) in purple coneflower seedlings.

نموده و سبب متوقف شدن زنجیره‌های فعال حین پراکسیداسیون لیپید می‌گردد (۲۸). بنابراین همان‌طور که نتایج مقایسه میانگین‌های خصوصیات جوانه‌زنی نشان می‌دهد تیمار بذر با امواج فراصوتی اثر زیان‌باری نداشته سبب افزایش بیشتر صفات نسبت به شاهد گردید.

گلوکاتایون S- ترانسفراز: بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم گلوکاتایون S- ترانسفراز در تیمارهای ۱۵، ۲۰ و ۲۵ دقیقه مشاهده شد (شکل ۸) و بین تیمار شاهد و ۱۰ دقیقه اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. تیمار بذر با امواج فراصوتی در محیطی سیال (آب) صورت گرفت، آب به‌عنوان بافر بین گونه‌های فعال اکسیژن تولید شده و اهداف مولکولی عمل

اسیدآسکوربیک، پراکسید هیدروژن را حذف کنند (۱۷). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، گلیاکول پراکسیداز، پلی‌فنل‌اکسیداز، گلوکاتایون S- ترانسفراز سبب پالایش رادیکال‌های آزاد از جمله پراکسید هیدروژن در گیاهچه‌ها گردیدند و در نهایت مانع از اثر منفی بر گیاهچه‌ها ناشی از استفاده پیش‌تیمار بذرها با امواج فراصوتی گردیدند.

پلی‌فنل‌اکسیداز: پیش‌تیمار بذرها با امواج فراصوتی در مدت‌های ۱۵، ۲۰ و ۲۵ دقیقه سبب افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز گردید (شکل B ۸). پلی‌فنل‌اکسیدازها در تمام بخش‌های گیاه یافت می‌شوند و از فنل‌ها به عنوان دهنده الکترون استفاده می‌کنند (۱۷ و ۲۹). پراکسیدازهای محلول و آپوپلاستی می‌توانند با مشارکت فنل‌ها و

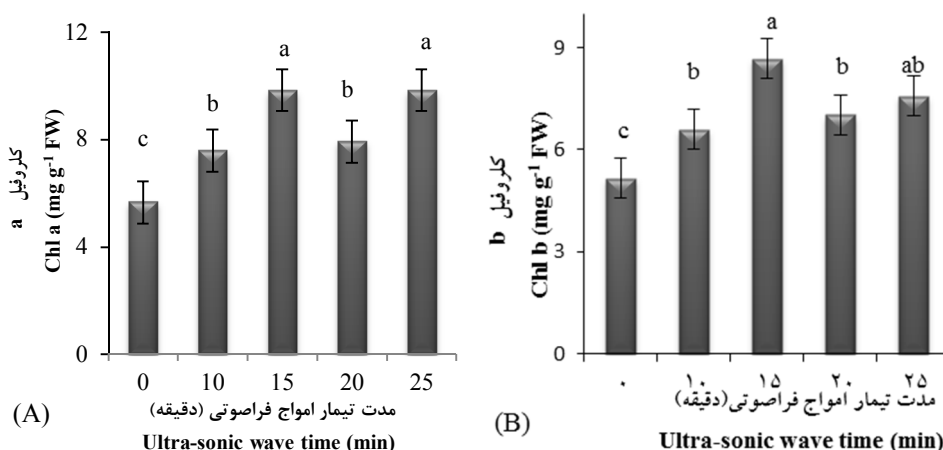


شکل ۸- مقایسه میانگین اثر مدت تیمار امواج فراصوتی بر فعالیت آنزیم گلوکاتایون S- ترانسفراز (نانومول بر دقیقه بر گرم بافت تر) (A) و پلی‌فنل‌اکسیداز (نانومول بر دقیقه بر گرم بافت تر) (B) گیاهچه سرخارگل.

Fig. 8. Mean comparison of ultra-sonic wave duration effect on activity of G-S T activity (nmol min⁻¹g⁻¹ FW) (A) and polyphenol oxidase (nmol min⁻¹g⁻¹ FW) (B) of purple coneflower seedlings.

فراصوتی مشاهده شد. تیمار با امواج فراصوتی سبب افزایش سرعت جوانه‌زنی و در نتیجه تسریع ورود گیاه به مرحله اتوتروفیک گردید. افزایش میزان کلروفیل‌ها، افزایش جذب نور و تولید ماده خشک در مرحله گیاهچه‌ای می‌تواند بر رشد و نمو گیاه در مراحل بعدی مؤثر باشد.

کلروفیل a و b: شکل ۹ روند تغییرات کلروفیل a و b گیاهچه را تحت اثر تیمار بذرها با امواج فراصوتی نشان می‌دهد. امواج فراصوتی سبب افزایش میزان کلروفیل a و b در همه مدت‌های تیمار نسبت به شاهد گردید. بیش‌ترین میزان کلروفیل a مربوط به ۱۵ و ۲۵ دقیقه امواج فراصوتی بود. بیش‌ترین میزان کلروفیل b، در مدت ۱۵ دقیقه تیمار با امواج



شکل ۹- مقایسه میانگین اثر مدت تیمار امواج فراصوتی بر کلروفیل a (A) و b (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) (B) در گیاهچه سرخارگل.

Fig. 9. Mean comparison of ultra-sonic wave duration effect on Chl a (A) and b (mg g⁻¹ FW) (B) in purple coneflower seedlings.

گردید. اما فعالیت آنزیم‌هایی آنتی‌اکسیدانی از جمله کاتالاز، گایاکول‌پراکسیداز، گلوکاتایون S- ترانسفراز و پلی‌فنل‌اکسیداز سبب پالایش تنش ایجاد شده گردید و در نهایت همان‌طور که نتایج نشان می‌دهد سبب بهبود خصوصیات جوانه‌زنی و نیز افزایش میزان کلروفیل در گیاهچه گردید.

نتیجه‌گیری کلی

بهترین زمان پیش‌تیمار با امواج فراصوتی که سبب افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی، وزن خشک گیاهچه و کارایی استفاده از ذخایر بذر گردید مدت ۱۵ دقیقه بود. ضربه‌های ممتد امواج فراصوتی بر بذر سبب افزایش هدایت الکتریکی و غلظت پراکسید هیدروژن در مدت‌های ۱۵، ۲۰ و ۲۵ دقیقه

منابع

- Adda, A., Regagba, Z., Latigui, A. and Merah, O. 2014. Effect of salt stress on α -amilase activity, sugars mobilization and osmotic potential of *Phaseolus vulgaris* L. Seed var. Cocorose during germination. Bio. – Sci. J. 14: 370-375.
- Agrawal, R. 2003. Seed technology. Publication. Co. PVT. LTD. New Delhi India, 64: 229-236.
- Almansouri, M., Kinet, J.M. and Lutts, S. 2001. Effect of salt and osmotic stresses on germination in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). Plant. Soil. J. 231: 243-254.
- Akram-Ghaderi, F., Kamkar, B. and Soltani, A. 2000. Principles of Seed Science and Technology. Mashhad University press, 180p. (Translated in Persian)
- Ardakani, M. and Nadvar, A. 2008. Practical Principles and Techniques for Plant Science Proficient. Tehran University Press, 145p. (In Persian)
- Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol. Rockville 24: 1-24.
- Atwater, B.R. 1980. Germination, dormancy, and morphology of the seeds of herbaceous ornamental plants. Seed Sci. Tech. 8: 523-73.
- Baker, E.H. and Bradford, K.J. 1994. The fluorescence assay for Maillard product accumulation does not correlate with seed viability. Seed Sci. Res. 4: 103-106.
- Bewley, J.D. 1997. Seed germination and dormancy. Plant Cell. 9: 1055-1066.

10. Carmagol, F., Sinet, P.M., Rapin, J. and Jerome, H. 1981. Glutathione s-transferase of human red blood cells assay, values in normal subjects and in two pathological circumstances. Hiperbilirubinemia and impaired renal function. Clin Chim Acta. 117: 209-217.
11. Chance, B. and Maehly, A.C. 1955. Assay of catalases and peroxidases. Meth. Enzyme. 5: 764-755.
12. Chen, G., Wang, Q., Liu, Y., Li, Y., Cui, J., Liu, Y., Liu, H. and Zhang, Y. 2012. Modelling analysis for enhancing seed vigour of switchgrass (*Panicum virgatum* L.) using an ultrasonic technique. Plos One, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>, 47: 426-435.
13. Cheryl-Kaiser, C., Geneve, R. and Ernst, M. 2015. Echinacea. University of Kentucky Press, 120p.
14. Ghaderi-Far, F. and Soltani, A. 2002. Seed Testing and Control. Mashhad University Press, 135p. (In Persian)
15. Guglieminetti, L., Yamaguchi, J., Perata, P. and Alpi, A. 1995. Amylolytic activities in cereal seeds under aerobic and anaerobic conditions. Plant Physiol. 109: 1669-1676.
16. Handel, E.V. 1968. Direct micro determination of sucrose. Ann. Biochem. 22: 280-283.
17. Hare, P.D. 2007. Metabolic implications of stress-induced accumulation in plant. Plant Growth Reg. 21: 79-103.
18. Hampton, J.C. and Tekrony, D.M. 1995. Hand Book of Vigor Test and Method. International Seed Testing Association (ISTA) Press, 117p.
19. Jana, S. and Choudhuri, M.A. 1981. Glycolate metabolism of three submergedaquatic angiosperms during aging. Aqu. Bot. J. 12: 342-354.
20. Koreapaz, S. 2001. Investigation the Possibility and Domestication of Herb Medicine Echinacea in Mashhad Climate Conditions. M.Sc. Thesis. Ferdowsi University of Mashhad, 135p. (In Persian)
21. Kar, M. and Mishra, D. 1976. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. Plant Physiol. 57: 315-319.
22. King, C. 2005. Commercial Echinacea production. Alberta Agric. Food Rural Dev. 13: 27-40.
23. Lipiec, J., Janas, P. and Barabasz, W. 2004. Effect of oscillating magnetic field pulses on the survival of selected microorganisms. Int. Agrophys. 18: 325-328.
24. Li, T.S.C. 1998. Echinacea: cultivation and medicinal value. Hort. Tech. 8: 22-129.
25. McCready, R.M., Guggolz, J., Silveira, V. and Owens, H.S. 1950. Determination of starch and amylase in vegetables. Analyt. Chem. 22: 1156-1158.
26. Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. Analyt. Chem. 31: 426-428.
27. Machikowa, T., Kulrattanarak, T., and Wonprasaid, S. 2013. Effects of ultrasonic treatment on germination of synthetic sunflower seeds. Int. J. Biol. Vet. Agric. Food Eng. 7: 11-18.
28. McDonald, M.B. 1999. Seed deterioration: Physiology, repair and assessment. SST. 27: 177-237.
29. Mittler, R. 2004. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Sci. 7: 405-410.
30. Omokolo, D., Ndoumou, G., Ndzomo, T. and Djougou, P.F. 1996. Changes in carbohydrate, amino acid and phenol contents in cocoa pods from three clones after infection with *Phytophthoramegakarya* Bra. And Grif. Ann. Bot. J. 77: 153-158.
31. Omidbaigi, R. 2001. Study of cultivation and adaptability of *Echinacea purpurea* (L.) Moench in the north of Tehran. Sci. Tech. Agric. Natur. Res. 6: 240-230 (In Persian with English Abstract)
32. Rasouli, F. 2018. The effect of ultrasonic-wave, jasmonic acid and salicylic acid on growth and some quality traits of *Stevia rebaudiana* Bertoni L. and *Echinacea purpurea* L. Ph.D. Dissertation, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Iran.

33. Sleper, D., Pathan, M.S., Camps-Raga, B., Boriraksantikul, N., Tantong, S., Gyawali, S.R., Kirawanich, P. and Islam, N.E. 2008. Experimental analysis of corn seed germination enhancement under the application of electromagnetic and magnetic fields. Proceeding of the European Electromagnetics (EUROEM 2008), Lausanne, Switzerland.
34. Smith-Jochum, C.C. and Albrecht, M.L. 1987. Field establishment of three Echinacea species for commercial production. *Acta Hort.* 208: 115-18.
35. Soltani, A., Gholipoor, M. and Zeinali, E. 2006. Seed reserve utilization and seedling growth of wheat as affected by drought and salinity. *Environ. Exp. Bot.* 55: 1. 195-200.
36. Soltani, A. 2007. Application of SAS in Statistical Analysis., Mashhad University press. 182p.
37. Soltani, A. and Maddah, V. 2010. Simple Applied Programs for Education and Research in Agronomy. Issa Press, 80p.
38. Soltani, A., Ghaderi-Far, F. and Soltani, E. 2008. Application of germination in response to temperature and water potential in seed science research. Proceedings of The First National Conference on Sciences and Technology of seeds. Gorgan, Iran.
39. Wettlaufer, S.H. and Leopold, A.C. 1991. Relevance of Amadori and Maillard products to seed deterioration. *Plant Physiol.* 97: 165-169.
40. Yaldagard, M., Mortazavi, S.A. and Tabatabaie, F. 2008. Application of ultrasonic waves as a priming technique for accelerating and enhancing the germination of barley seed: optimization of method by the taguchi approach. *J. Inst. Brewing.* 114: 14-21.