

اثر پرایمینگ و فرسودگی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و تحرک ذخایر بذر لوبیا چیتی (*Phaseolus vulgaris* L.) رقم صدری

طیبه سعادت^۱، محمد صدقی^{۲*}، عبدالقیوم قلی پوری^۳، رئوف سید شریفی^۴ و رقیه شیخ بگلو^۴

۱. دانشجوی دکتری زراعت، دانشگاه محقق اردبیلی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه زراعت و اصلاح نباتات

۲. استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه محقق اردبیلی

۳. دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه محقق اردبیلی

۴. دانشجوی دکتر، دانشگاه محقق اردبیلی

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۰/۰۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۰۷)

چکیده

به منظور بررسی اثر پرایمینگ و فرسودگی بر روی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و تحرک ذخایر لوبیا، آزمایشی بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار اجرا گردید. تیمارها شامل فرسودگی (شاهد بدون فرسودگی، ۸۸ و ۷۸ درصد جوانه‌زنی) و پرایمینگ (شاهد، هیدرو پرایمینگ، پرایمینگ با جیبرلین و اسید سالیسیلیک) بود. نتایج نشان داد که فرسودگی درصد جوانه‌زنی را کاهش داد. پرایمینگ سبب کاهش تاثیر فرسودگی و بهبود درصد جوانه‌زنی گردید. با افزایش فرسودگی کارایی استفاده از ذخایر، کارایی تحرک ذخایر و کسر ذخایر مصرف شده کاهش یافت، ولی شاخص تنفس و وزن خشک باقی‌مانده بذر افزایش یافتند. میزان کاهش SRUE نسبت به تیمار شاهد فرسودگی در حدود ۳۰٪ بود و شاخص تنفس بذر نیز در پیش تیمار جیبرلین در حدود ۲۴٪ نسبت به شاهد بدون پرایمینگ بیشتر بود. محتوای کل پروتئین بذر در پیش تیمار جیبرلین و بدون فرسودگی در حدود ۳۲٪ افزایش داشت. میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار جیبرلین و فرسودگی ۸۸٪ نسبت به شاهد در حدود ۵۷٪ افزایش نشان داد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسمیوتاز (۱۷۵/۲ واحد بر میلی گرم) در پرایمینگ با اسید سالیسیلیک و فرسودگی ۸۸٪ دیده شد. حداکثر مقدار مالون دی‌آلدنید (۱/۴۶ میلی مول بر گرم) به تیمار بدون پرایمینگ و فرسودگی ۷۸٪ ارتباط داشت. در کل، استفاده از پیش تیمار جیبرلین موجب تقویت فیزیولوژیکی بذرهای ضعیف لوبیا شد و از این تیمار می‌توان جهت افزایش بنیه بذرهای ضعیف استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: اسید سالیسیلیک، آنتی‌اکسیدانت، پرایمینگ، جیبرلین، ذخایر بذر، فرسودگی، لوبیا.

The effect of priming deterioration on the activity of antioxidant enzymes and the mobility of seed reserves in French bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Sadri

T. Saadat¹, M. Sedghi^{2*}, A. Gholipouri³, R. Seyed Sharifi², R. Sheykhabglou⁴

1. Ph.D student in Agronomy, University of Mohaghegh Ardabili, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Department of Agronomy and Plant Breeding

2. Prof. Department of Agronomy and Plant Breeding, University of Mohaghegh Ardabili

3. Assoc. Prof. Department of Agronomy and Plant Breeding, University of Mohaghegh Ardabili

4. Ph.D. student, University of Mohaghegh Ardabili

(Received: Dec. 25, 2017 – Accepted: Oct. 29, 2018)

Abstract

To examine the effect of priming and deterioration on the activity of antioxidant enzymes, mobility of seed reserves in French bean, a factorial experiment was performed in a completely randomized design with three replications. Treatments included deterioration (control without deterioration, 88% and 78% of germination of control) and priming (control, hydro-priming, priming by gibberellin and salicylic acid). The results showed that deterioration reduced germination percentage. Priming reduced the effect of deterioration and improved germination percentage. By increasing deterioration, seed reserves use efficiency (SRUE), seed reserves remobilization efficiency (SRRE) and fraction of used seed reserves (FUSR) were reduced, but respiration index (SR) and residual seed dry weight (RSDW) were increased. SRUE reduction was about 30% compared to the control treatment of deterioration and seed respiration index in gibberellin pre-treatment was higher about 24% compared to the control treatment without priming. The total seed protein content in gibberellin pretreatment and without deterioration was increased about 32 percent. The peroxidase activity in gibberellin treatment and deterioration 88% compared to the control showed an increase about 57%. The most superoxide dismutase activity (SOD, 175.2 unit mg⁻¹ protein) was observed in priming with salicylic acid and deterioration 88%. The maximum amount of malondialdehyde (MDA, 1.46 mmol g⁻¹ FW) was related to the treatment with no priming and deterioration 78%. In general, using gibberellin pretreatment strengthened weak bean seeds physiologically and the treatment can be used to increase weak seed vigor.

Keywords: Salicylic acid, antioxidant, priming, gibberellin, seed reserves, deterioration, French bean.

* Email: m_sedghi@uma.ac.ir

درصد جوانه‌زنی می‌گردند (Mittler *et al.*, 2004; Mohanty, 2003). نتایج تحقیق صدقی و همکاران (Sedghi *et al.*, 2010) نشان داد که پرایمینگ بذور با کلرید سدیم و جیبرلین شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه را بهبود بخشید و موجب افزایش درصد جوانه‌زنی شد که این افزایش در غلظت‌های کم نمک، بیشتر بود و جوانه‌زنی بذرهای پرایمینگ شده سریع‌تر از تیمار شاهد بود. پرایمینگ بذر سبب بهبود جوانه‌زنی و استقرار اولیه نبات (Lee and Kim, 2000; Farooq *et al.*, 2007)، بهره برداری از نهاده‌های محیطی، زودرسی، افزایش کمی و کیفی محصول (Harris *et al.*, 2001; Duman, 2006; Savaj *et al.*, 2004) و هم‌چنین بهبود کیفیت غذایی دانه (Bailey *et al.*, 2000) گردد. پرایمینگ بذر با ویتامین C و هیدرو پرایمینگ نیز باعث افزایش فعالیت کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز گردید (Burguieres *et al.*, 2007). ترمیم پروتئین‌های غشای سلولی، آنزیم‌ها، DNA و سنتز mRNA طی دوره جذب آب و پرایمینگ رخ می‌دهد (Chen and Arora, 2013). در مجموع پرایمینگ باعث یکنواختی جوانه‌زنی و استقرار بهتر گیاهچه می‌شود هر چند به عنوان یک تاثیر جانبی منفی باعث کاهش طول عمر دانه‌ها می‌گردد (Bruggink *et al.*, 1999). آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و سایر آنزیم‌ها باعث حذف و غیر فعال شدن انواع فعال اکسیژن می‌شوند (Bailey, 2004; MacDonal, 1999). هدف از انجام این تحقیق، بررسی تغییرات بیوشیمیایی بذر لوبیا در واکنش به فرسودگی و نقش پرایمینگ بذر در بهبود بنیه بذرهای ضعیف لوبیا بود.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر پرایمینگ و فرسودگی بذر بر روی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و تحرک ذخایر بذر لوبیا چیتی رقم صدری (تهیه شده از مرکز تحقیقات بین‌المللی لوبیا در خمین و تولید سال ۱۳۹۵)، آزمایشی به

مقدمه

لوبیا گیاهی یکساله با نام علمی (*Phaseolus vulgaris*) و متعلق به تیره Fabaceae است (Anonymous, 1991; Van Schoonhoven and Voysest, 2008) که با توجه به پروتئین بالا و مناسب، مصرف غذایی فراوان دارد. بعد از ساختار ژنتیکی، فرسودگی بذر بیشترین تاثیر را بر قدرت بذر دارد (Ellis *et al.*, 1980). فرسودگی به طور معنی داری جوانه‌زنی، سبز شدن و رشد گیاهچه‌ها را کاهش می‌دهد (Soltani *et al.*, 2008). هر چه شرایط بذر از نظر رطوبت و دما نامناسب‌تر باشد، شدت فرسودگی بیشتر خواهد بود (Elias *et al.*, 2006). فرسودگی بذر پدیده فیزیولوژیک است که پس از رسیدگی فیزیولوژیکی بذر و در دوره پس از برداشت در شرایط نامطلوب محیط نگهداری بذر به تدریج آغاز می‌شود و موجب تخریب ساختار DNA و RNA ریبوزومی (McDonald *et al.*, 1999)، کاهش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیکی، کاهش یکپارچگی غشای پلاسمایی و افزایش تنفس می‌گردد که برآیند این عوامل منجر به کاهش قوه نامیه، بنیه بذر، گیاهچه و در نهایت عملکرد محصول می‌گردد (Soltani *et al.*, 2003; Hampton, 2003). یکی از روش‌هایی که مشکل جوانه‌زنی ضعیف بذر را حل می‌کند، پیش تیمار بذر قبل از کاشت است که پرایمینگ نامیده می‌شود. هدف از پرایمینگ افزایش درصد جوانه‌زنی، کاهش میانگین زمان جوانه‌زنی، بهبود رشد و افزایش ویگور گیاهچه در شرایط مطلوب و نامطلوب است (McDonald, 2000; Sedghi *et al.*, 2010). پرایمینگ سنتز و فعال شدن اولیه آنزیم‌های هیدرولیتیک چون آلفا و بتا آمیلاز را تحریک می‌کند (Mittler *et al.*, 2010; Farooq *et al.*, 2007). پرایمینگ باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت از قبیل کاتالاز و پراکسیداز در بذر می‌گردد که این آنزیم‌ها فعالیت پراکسیداسیون لیپید را طی جوانه‌زنی کاهش می‌دهند و در نتیجه باعث افزایش

سانتی متر تا گردید و از لبه کناری به شکل لوله پیچانده شد و به صورت عمودی به داخل ژرمیناتور منتقل شد. در روز هفتم، تعداد کل بذره‌های جوانه زده شمارش و یادداشت گردید.

به منظور تعیین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در لوبیا، در داخل ژرمیناتور در دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد گیاهچه‌ها به روش حوله کاغذی رشد داده شدند و پس از باز شدن برگ‌های اولیه از هر تیمار چند گیاهچه به تصادف انتخاب و پس از قرار در فویل آلومینیومی، تا زمان استخراج عصاره آنزیمی به یخچال با دمای 2 ± 7 - درجه منتقل گردیدند. جهت استخراج عصاره آنزیمی، 0.5 گرم نمونه از هر تیمار توزین و در داخلی هاون چینی (که از قبل در یخچال نگهداری شده بود) با استفاده از نیتروژن مایع هموژن گردید و پس از آن 5 میلی‌لیتر از بافر فسفات سرد ($pH=7.5$) حاوی 0.5 میلی‌مولار EDTA به هاون اضافه شد. سپس، هموژن‌ها به اپندورف‌های 2 میلی‌متری منتقل شدند و در 15000 rpm با دمای 4 درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت 15 دقیقه سانتریفوژ شدند. سوپرناتانت حاصل به سه قسمت تقسیم شد تا از اثر مضر انجماد و ذوب متوالی نمونه‌ها پیشگیری شود و سپس، تا زمان اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در دمای منفی 20 درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد (Sairam et al., 2002).

درصد جوانه‌زنی: جهت تعیین درصد جوانه‌زنی در پایان دوره جوانه‌زنی (7 روز) تعداد کل بذره‌های جوانه‌زنی شمارش شده و یادداشت برداری گردید.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAD): فعالیت آنزیم کاتالاز براساس روش اِبی (Aebi, 1984) اندازه‌گیری گردید. کمپلکس واکنش، شامل 0.5 میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن 7.5 میلی‌مولار، 1.5 میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم 100 میلی‌مولار ($pH=7$) و 50 میکرولیتر عصاره آنزیمی بود که حجم نمونه‌ها با اضافه کردن آب مقطر به 3 میلی‌لیتر رسانده شد. با افزودن پراکسید هیدروژن واکنش آغاز گردید و کاهش در جذب نمونه‌ها در طول موج 240 نانومتر در مدت یک دقیقه ثبت گردید. محلول

صورت طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در سال 1395 در دانشگاه محقق اردبیلی انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل بدون پرایمینگ، هیدرو پرایمینگ، پرایمینگ با جیبرلین (ساخت شرکت سیگما آلد ریچ آلمان با خلوص 90 درصد) و اسید سالیسیلیک (ساخت شرکت مرک با خلوص 99 درصد) با غلظت‌های به ترتیب 20 و 100 میلی‌گرم در لیتر بودند. برای اعمال فرسودگی، بذره‌های لوبیا به مدت 11 و $12/5$ روز در دمای 40 درجه و رطوبت نسبی $95 \pm 2\%$ قرار گرفتند. به منظور تعیین سطوح فرسودگی مورد نظر، آزمایشی به صورت مقدماتی انجام شد. در این آزمون سه توده بذر درون پاکت آلومینیومی آماده شد. یک پاکت به عنوان تیمار شاهد به یخچال منتقل گردید و باقی پاکت‌ها به آن با دمای ثابت 40 درجه منتقل شدند. هر روز، تعداد 50 عدد بذر از آن خارج و آزمون جوانه‌زنی استاندارد انجام شد. این روند تا 24 روز که درصد جوانه‌زنی به صفر رسید، ادامه داشت. پس از تجزیه و تحلیل داده‌ها و به دست آوردن نمودار رگرسیونی پرویت، مدت زمان لازم برای رسیدن به 88 و 78 درصد جوانه‌زنی در بذره‌های لوبیا تعیین شد. بر این اساس، زمان لازم برای فرسودگی بذرها در آزمایش اصلی به ترتیب 264 و 300 ساعت برای رسیدن به سطح جوانه‌زنی 88 و 78 درصد بود. سپس، بذره‌های فرسوده به همراه شاهد درون محلول‌های پرایمینگ به مدت 24 ساعت قرار داده شدند بعد از پرایمینگ، بذرها به وسیله آب مقطر چندین بار شستشو شدند و در دمای آزمایشگاه خشک گردیدند. سپس، آزمون جوانه‌زنی استاندارد روی بذرها انجام شد. آزمون جوانه‌زنی به روش حوله کاغذی در سه تکرار 50 بذری در دمای 25 درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت هفت روز انجام گرفت (ISTA, 2012). در این روش، از کاغذهای صافی (Boeco-Germany) اندازه 58×58 استفاده شد. 50 عدد بذر به صورت ردیفی روی یک لایه از کاغذ صافی که با آب مقطر خیسانده شده بود، قرار گرفت و سپس، کاغذ صافی مرطوب دیگری روی بذور گذاشته شد. لبه پایینی کاغذها به عرض $3-4$

$$\frac{100 - [\text{OD control} - \text{OD}]}{\text{OD control} \times 100/50} = (\text{Unit. mg}^{-1})$$

سنجش میزان مالون دی آلدئید (MDA): میزان

مالون دی آلدئید با استفاده از روش مک کوئی و شتی (McCue and Shetty, 2002) اندازه گیری شد. در لوله های آزمایش، ۲۰۰ میلی لیتر از بافت هموزن با ۸۰۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شد. ۵۰۰ میلی لیتر از تری کلرواستیک اسید ۰/۲٪ با ۱ میلی لیتر از تیوباریتوریک اسید ۱۰ میلی مولار مخلوط شد. لوله های آزمایش به انکوباتور ۱۰۰°C به مدت ۳۰ دقیقه منتقل شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰ گرم سانتیفریوز شد و مقدار جذب روشنر در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد.

اندازه گیری میزان پروتئین به روش کج‌دال:

اندازه گیری میزان پروتئین در نمونه گیاهی پودر شده به روش کج‌دال انجام گرفت. با استفاده از رابطه زیر درصد نیتروژن کل محاسبه گردید.

$$\% \text{TN} = \text{T} - \text{B} / \text{S} \times \text{N} \times 14 / 1000 \times 100$$

در این رابطه TN درصد نیتروژن کل - T میلی لیتر اسید مصرفی نمونه برای تیتراسیون نمونه - B اسید مصرفی شاهد - S وزن نمونه (گرم) و N نرمالیت اسید سولفوریک (۰/۵٪) است.

برای برآورد میزان پروتئین موجود در نمونه، عدد حاصل از اندازه گیری نیتروژن به روش کج‌دال به ضریب ۶/۲۵ ضرب شد تا پروتئین کل نمونه به دست آید. سپس، عدد حاصل بر حسب میلی گرم بر گرم وزن نمونه بذری محاسبه و گزارش گردید.

$$\% \text{Protein} = \% \text{TN} \times 6.25$$

محاسبه میزان ذخایر تحرک یافته، کارایی استفاده از ذخایر، کارایی تحرک ذخایر بذری، کسر ذخایر مصرف شده و شاخص تنفس بذری: مقدار استفاده از ذخایر (SRUR, mg seed⁻¹)، کارایی استفاده از ذخایر (SRUE, mg mg⁻¹)، کارایی تحرک ذخایر بذری (SRRE)، کسر ذخایر مصرف شده بذری (FUSR) و تنفس

جذب زمینه (blank) شامل تمام موارد استفاده شده به جز عصاره آنزیمی استخراج شده بود. فعالیت ویژه آنزیم بر اساس میکرومول پراکسید هیدروژن تجزیه شده در دقیقه بر میلی گرم پروتئین بیان گردید.

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز (POX): سنجش

فعالیت آنزیم POX طبق روش مک‌آدام و همکاران (Macadam et al., 1992) انجام شد. در این روش ۴۵۰ میکرولیتر محلول پراکسید هیدروژن و ۴۵۰ میکرولیتر محلول گایاکول در دمای پایین (ظرف حاوی یخ) با هم مخلوط گردید و به آن ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه شد و تغییرات جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر دنبال شد. در محلول بلانک به جای عصاره آنزیمی، ۱۰۰ میکرولیتر از بافر فسفات (pH=۷) استفاده شد. فعالیت آنزیمی با استفاده از قانون لامبرت-بیر و ضریب خاموشی محصول واکنش گایاکول پراکسیداز (۱۳/۳ μM⁻¹c⁻¹m) محاسبه شد. فعالیت آنزیم در نهایت بر حسب Unit mg protein⁻¹ min بیان گردید.

$$\frac{\text{POD}/\text{min}}{13.3} = (\text{Unit mg}^{-1})$$

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسیداز دیسمیوتاز

(SOD): سنجش آنزیم ذکر شده به روش جیانوپولیتیس و ریز (Giannopolitis and Ries, 1977) انجام گردید. اساس سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسمیوتاز مهار واکنش رادیکال سوپراکسید با نیتروبلوتترازولیوم و ممانعت از تشکیل سوپراکسید-نیتروبلوتترازولیوم توسط آنزیم مذکور است.

نمونه بلانک به مدت ۱۵ دقیقه در تاریکی قرار گرفت و نمونه های شاهد و عصاره آنزیمی در محفظه نوری با دو لامپ فلورسنت W ۲۰ به مدت ۱۵ دقیقه و ۱۰۰ دور در دقیقه بر روی شیکر گذاشته شد. سپس، جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر ثبت شد. تفاوت بین جذب هر عصاره در مدت زمان روشنایی ۱۵ دقیقه و جذب عصاره آنزیمی در همان مدت زمان روشنایی در واقع نشان دهنده باز داشتن واکنش خود به خودی و تشکیل فورمازان توسط SOD است.

میزان پروتئین، سوپراکسید دیسمیوتاز، پراکسیداز و پراکسیداسیون لیپیدها (میزان مالون دی آلدئید) و اثر ساده بر روی تیمارهای درصد جوانه‌زنی، مقدار استفاده از ذخایر، کارایی استفاده از ذخایر، کارایی تحرک ذخایر بذر، کسر ذخیر مصرف شده، تنفس بذر، وزن خشک باقی‌مانده بذر، کاتالاز معنی‌دار بود.

درصد جوانه‌زنی: بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی در پیش تیمار جیبرلین (۹۱/۳۳٪) و کم‌ترین آن مربوط به شاهد (۸۴/۵۵٪) بود. و این صفت با تشدید فرسودگی کاهش یافت. به طوری که بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی در شاهد (بدون فرسودگی) (۹۶/۱۶٪) و کم‌ترین آن (۷۸/۲۵٪) در فرسودگی ۷۸٪ بود. بر طبق نتایج به دست آمده می‌توان گفت که با افزایش سطوح فرسودگی از درصد جوانه‌زنی کاسته می‌شود (جدول ۳ و ۴).

مقدار استفاده از ذخایر بذر SRUR: بیش‌ترین مقدار استفاده از ذخایر بذر (۱۴/۲۳ میلی‌گرم بر بذر) در پیش تیمار جیبرلین و کم‌ترین مقدار استفاده از ذخایر بذر (۱۰/۹۲ میلی‌گرم بر بذر) شاهد (بدون پرایمینگ) بود. (جدول ۳).

بذر SR از فرمول‌های زیر محاسبه گردید (سلطانی و همکاران، ۱۳۸۷؛ صدقی و همکاران، ۲۰۱۰a).

$$\begin{aligned} SRUE &= SFDW / SRURSRUR = SDW-RSDW \\ FUSR &= SRUR / SDW \\ SRRE &= (PDW + RDW) / SR \\ SR &= SDW-(PDW + RDW + RSDW) \end{aligned}$$

که در این فرمول‌ها: SDW وزن خشک بذر (گرم)، RSDW وزن خشک باقی‌مانده بذر بر حسب گرم (بدون ریشه‌چه و ساقه‌چه)، SFDW مجموع وزن خشک و تر گیاهچه بر حسب گرم (ریشه‌چه + ساقه‌چه)، PDW وزن خشک ساقه‌چه و RDW وزن خشک ریشه‌چه است.

تجزیه‌های آماری

داده‌های به دست آمده از نظر نرمال بودن بررسی شد و سپس، تجزیه واریانس با استفاده از نرم افزار SAS9.1 انجام گردید. میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه گردید.

نتایج و بحث

طبق جدول تجزیه واریانس (جدول ۱ و ۲) نتایج پژوهش نشان داد که اثر متقابل فرسودگی و پرایمینگ بر

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر پرایمینگ و فرسودگی بر روی صفات مطالعه شده در لوبیا

Table 1- Analysis of variance for the effect of deterioration and priming on studied traits in French bean

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی DF	میانگین مربعات Mean of square			
		کاتالاز Catalase	پراکسیداز Peroxidase	سوپراکسید دیسمیوتاز Superoxide dismutase	مالون دی آلدئید Malondialdehyde
پرایمینگ Priming (P)	3	236.201**	971.466**	689.770**	0.331**
فرسودگی deterioration (D)	2	365.560**	334.303**	736.525**	0.144**
اثر متقابل پرایمینگ و فرسودگی P*D	6	3.445 ^{ns}	29.711**	67.452**	0.025**
خطا Error (E)	24	2.047	0.978	4.510	0.0016
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)		2.768	2.075	1.334	4.30005

ns و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۱.

ns and ** indicating not significant and the significant differences at 1 percent probability levels.

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر پرایمینگ و فرسودگی بر روی صفات مطالعه شده در لوبیا

Table 2- Analysis of variance for the effect of deterioration and priming on studied traits in French bean

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی DF	میانگین مربعات Mean of square							
		درصد جوانه‌زنی Germination percentage	مقدار استفاده از ذخایر بذر Seed reserves using rate	کارایی استفاده از ذخایر بذر Seed reserve using efficiency	کارایی تحرک ذخایر بذر Seed reserves remobilization efficiency	کسر ذخایر مصرف شده Fraction of seed reserves	شاخص تنفس بذر Seed respiration index	پروتئین Protein	وزن خشک باقی مانده بذر Residual seed dry weight
پرایمینگ Priming (P)	3	75.731**	16.472**	0.032 ^{ns}	0.000089 ^{ns}	0.028**	14.424**	2375.431**	8.788**
فرسودگی deterioration (D)	2	966.695**	5.070 ^{ns}	0.543**	0.0015**	0.0040**	5.415 ^{ns}	2389.752**	2.297**
اثر متقابل پرایمینگ و فرسودگی P*D	6	4.064 ^{ns}	0.839 ^{ns}	0.013 ^{ns}	0.00016 ^{ns}	0.00040 ^{ns}	0.912 ^{ns}	27.72**	0.026 ^{ns}
خطا Error (E)	24	2.916	1.675	0.018	0.00014	0.00071	1.689	2.849	0.036
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)		1.951	10.228	12.566	12.897	4.286	11.199	1.026	2.510

^{ns}, * and ** به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱.

^{ns}, * and ** indicating not significant, the significant differences at 5 and 1 percent probability levels.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر ساده پرایمینگ بر روی صفات مطالعه شده در لوبیا

Table 3- Mean Comparison for the effect of priming on studied traits in French bean

پرایمینگ Priming	درصد جوانه‌زنی Germination Percentage (%)	مقدار استفاده از ذخایر بذر Seed reserves using rate (mg seed ⁻¹)	کسر ذخایر مصرف شده Fraction of seed reserves (mg mg ⁻¹)	شاخص تنفس بذر Seed respiration index (mg)	وزن خشک باقی مانده بذر Residual seed dry weight (g)	کاتالاز Catalase (units mg ⁻¹ protein)
هیدرو Hydro	88.000 b	12.708 b	0.623 b	11.656 b	7.666 b	50.066 c
اسیدسالیسیلیک Salicylic acid	86.222 c	12.750 b	0.631 b	11.684 b	7.366 c	54.366 b
جیببرلین Gibberellin	91.333 a	14.232 a	0.686 a	13.090 a	6.488 d	56.977 a
شاهد Control	84.555 d	10.925 c	0.549 c	9.994 c	8.877 a	45.289 d

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال یک درصد است.

The different letters in each column indicate a significant differences at 1% probability level.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر ساده فرسودگی بر روی صفات مطالعه شده در لوبیا

Table 4-Mean Comparison for the effect of deterioration on studied traits in French bean

فرسودگی deterioration	درصد جوانه‌زنی Germination Percentage (%)	کارایی استفاده از ذخایر بذر Seed reserve using efficiency (mg mg ⁻¹)	کارایی تحرک ذخایر بذر Seed reserves remobilization efficiency (g g ⁻¹)	کسر ذخایر مصرف شده Fraction of seed reserves (mg mg ⁻¹)	خشک باقی مانده بذر Residual seed dry weight (g)	کاتالاز Catalase (units mg ⁻¹ protein)
شاهد Control	96.166 a	1.332 a	0.105 a	0.628 a	7.158 c	56.908 a
88%	88.166 b	1.007 b	0.084 b	0.637 a	7.608 b	52.208 b
78%	78.250 c	0.931 b	0.086 b	0.602 b	8.033 a	45.908 c

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال یک درصد است.

The different letters in each column indicate a significant differences at 1% probability level.

میزان پروتئین: بیشترین میزان پروتئین (۱۹۷/۹۰)

میلی گرم بر گرم) از پیش تیمار جیبرلین و بدون فرسودگی بود. و کمترین میزان پروتئین (۱۳۵/۳۳) میلی گرم بر گرم) بدون پرایمینگ با فرسودگی ۷۸٪ بود. با افزایش سطح فرسودگی کاهشی در محتوای پروتئین بذر مشاهده شد. با افزایش میزان کل پروتئین‌های دانه بر اثر پرایمینگ می توان گفت که به احتمال زیاد پیش تیمار بذر موجب افزایش محتوای آنزیمی بذر می شود. به عبارت دیگر، به نظر می رسد که میزان آنزیم‌های تولید شده به روش سنتز از نو (de novo) بر اثر پرایمینگ افزایش بیشتری پیدا می کند (جدول ۵).

وزن خشک باقی مانده بذر RSDW: بیشترین

RSDW (۸/۸۷ گرم) از شاهد (بدون پرایمینگ) و کمترین RSDW (۶/۴۸ گرم) در پیش تیمار جیبرلین بود. با افزایش شدت فرسودگی میزان RSDW افزایش یافت. به طوری که بیشترین مقدار RSDW (۸/۰۳ گرم) در فرسودگی ۷۸٪ و کمترین RSDW (۷/۱۵ گرم) بدون فرسودگی بود (جدول ۳ و ۴).

فعالیت آنزیم کاتالاز CAT: بیشترین (CAT units

protein mg⁻¹ ۵۶/۹۷) از پیش تیمار جیبرلین و کمترین

کارایی استفاده از ذخایر بذر SRUE: با افزایش

شدت فرسودگی SRUE کاهش یافت. به طوری که بیشترین SRUE (۱/۳۳) میلی گرم بر میلی گرم) در شاهد (بدون فرسودگی) و کمترین SRUE (۰/۹۳) میلی گرم بر میلی گرم) با فرسودگی ۷۸٪ بود (جدول ۴).

کارایی تحرک ذخایر بذر SRRE: فرسودگی باعث

کاهش SRRE شد به طوری که بیشترین SRRE (۰/۱۰) گرم بر گرم) در شاهد و کمترین SRRE (۰/۰۸۴) گرم بر گرم) در فرسودگی ۸۸٪ مشاهده شد (جدول ۴).

کسر ذخایر مصرف شده FUSR: بیشترین

(۰/۶۸) میلی گرم بر میلی گرم) در پیش تیمار جیبرلین و کمترین FUSR (۰/۵۴) میلی گرم بر میلی گرم) بدون پرایمینگ بود. با افزایش شدت فرسودگی FUSR کاهش یافت. به طوری که کمترین کسر ذخایر مصرف شده (۰/۶) میلی گرم بر میلی گرم) مربوط به فرسودگی ۷۸٪ بود (جدول ۳ و ۴).

شاخص تنفس بذر SR: بیشترین (۱۳/۰۹)

میلی گرم) از پیش تیمار جیبرلین و کمترین SR (۹/۹۹) میلی گرم) بدون پرایمینگ بود. با افزایش فرسودگی میزان تنفس بذر افزایش یافت (جدول ۳).

فرسودگی و کم‌ترین (۴۵/۹۰ units mg⁻¹ protein) در بدون پرایمینگ بود و با افزایش شدت فرسودگی میزان کاتالاز کاهش یافت. بیش‌ترین CAT (۵۶/۹۰ units mg⁻¹ protein) در بدون فرسودگی و کم‌ترین (۴۵/۹۰ units mg⁻¹ protein) در بدون پرایمینگ بود و با افزایش شدت فرسودگی میزان کاتالاز کاهش یافت.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل پرایمینگ و فرسودگی بر روی صفات مطالعه شده در لوبیا

Table 5- Mean Comparison for the interaction effect of deterioration (D) and priming (P) for studied traits in French bean

تیمار* Treatment**	پروتئین Protein (mg m ⁻¹)	پراکسیداز Peroxidase (units mg ⁻¹ protein)	سوپراکسید دیسمیوتاز Superoxide dismutase (units mg ⁻¹ protein)	مالون دی آلدئید Malondialdehyde (mmolg ⁻¹ FW)
D1P1	174.067 d	47.966 e	157.000 de	0.820 fg
D1P2	183.967 c	53.566 c	164.433 c	0.790 hg
D1P3	197.900 a	62.466 b	168.933 b	0.740 h
D1P4	161.000 f	42.933 f	156.300 de	0.980 c
D2P1	152.000 g	44.133 f	165.033 c	0.940 cd
D2P2	165.233 e	54.833 c	175.200 a	0.860 efg
D2P3	188.100 b	64.566 a	174.500 a	0.803 hfg
D2P4	148.233 h	34.700 h	146.700 f	1.246 b
D3P1	145.100 i	40.200 g	149.333 f	0.923 ecd
D3P2	151.767 g	48.100 e	153.400 e	0.940 cd
D3P3	172.133 d	50.700 d	158.567 d	0.873 ef
D3P4	135.333 j	27.800 i	140.000 g	1.466 a

*D1، بدون فرسودگی؛ D2، ۸۸٪ جوانه‌زنی شاهد؛ D3، ۷۸٪ جوانه‌زنی شاهد؛ P1، هیدروپرایمینگ؛ P2، پرایمینگ با اسید سالیسیلیک؛ P3، پرایمینگ با جیبرلین؛ P4، بدون پرایمینگ

**D1، without deterioration; D2، 88% of control germination; D3، 78% of control germination; P1، hydropriming; P2، priming with salicylic acid; P3، priming with gibberellin; P4، without priming.

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد است.

The different letters in each column indicate significant differences at 1% probability level.

پراکسیداسیون لیپید MDA: بیش‌ترین مقدار MDA (۱/۴۶ میلی‌مولار بر گرم FW) از تیمار بدون پرایمینگ و با فرسودگی ۷۸٪ بود و کم‌ترین مقدار آن (۰/۷۴ میلی‌مولار بر گرم FW) در بیش‌تیمار جیبرلین و بدون فرسودگی بود (جدول ۵).

به نظر می‌رسد دلیل بالا بودن درصد جوانه‌زنی در نتیجه تیمار بذرها با جیبرلین، آزادسازی آنزیم‌های تجزیه‌کننده کربوهیدرات و پروتئین در داخل بذر باشد (Ashraf et al., 2008). یکی از مهم‌ترین اثرات فرسودگی تخریب و فساد پروتئین‌های سلولی و افزایش هدایت الکتریکی است. هر چه میزان هدایت الکتریکی و

فعالیت آنزیم پراکسیداز POX: بیش‌ترین فعالیت POX (۶۴/۵۶ units mg⁻¹ protein) از بیش‌تیمار جیبرلین با فرسودگی ۸۸٪ بود و کم‌ترین آن (۲۷/۸۰ units mg⁻¹ protein) مربوط به بدون پرایمینگ با فرسودگی ۷۸٪ بود (جدول ۵).

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسمیوتاز SOD: بیش‌ترین فعالیت SOD (۱۷۵/۲۰ units mg⁻¹ protein) از بیش‌تیمار اسید سالیسیلیک با فرسودگی ۸۸٪ بود. و کم‌ترین فعالیت SOD (۱۴۰/۰۰ units mg⁻¹ protein) در تیمار بدون پرایمینگ با فرسودگی ۷۸٪ مشاهده گردید (جدول ۵).

که از هورمون استفاده نشده بود، کمتر کاهش داد. کائور و همکاران (Kaur *et al.*, 2005) گزارش دادند فعالیت مخزن در گیاه نخود حاصل از بذره‌های هیدرو پرایمینگ شده در مقایسه با شاهد بالاتر بود که این امر از طریق بالاتر بودن فعالیت آنزیم‌های درگیر در متابولیسم ساکارز بود.

التائب (El-Tayeb, 2005) در جو و الشینتالی و الشوریگی (El-Shintinawy and El-Shourbagy, 2001) در گندم عنوان کردند پیش تیمار بذر موجب افزایش مقدار پروتئین گیاهچه‌ها می‌گردد. در طی پرایمینگ بذر فازهای اول و دوم جوانه‌زنی را طی می‌کند. از این طریق آنزیم‌های دخیل در جوانه‌زنی فعال شده و مواد ذخیره‌ای بذرها تجزیه و به حالت محلول در می‌آیند که می‌تواند دلیل افزایش پروتئین محلول در بذره‌های پرایم شده باشد. کاهش میزان پروتئین موجود در بذر یکی از اثرات فرسودگی بذور می‌باشد که منجر به کاهش قدرت بذر می‌گردد. فرسودگی باعث کاهش سنتز پروتئین و افزایش فعالیت پروتئازها گردیده و در نتیجه میزان پروتئین را کاهش می‌دهد (Krishna Chaitanya *et al.*, 2000). کاهش پروتئین‌های محلول بذر می‌تواند به دلیل دناتوراسیون پروتئین و افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسمیوتاز (Kalpa and Rao, 1995) و همچنین به علت کاهش میزان ATP طی فرسودگی بذر باشد. سنتز پروتئین در گیاهان در حال رشد از مکانیسم‌های اساسی تنظیم سوخت و ساز گیاه می‌باشد که به عنوان ترکیب اصلی آنزیم‌ها موجب افزایش توان گیاه در پاسخ به تنش می‌باشند (Patil, 2010). ری و همکاران (Ray *et al.*, 1990) عنوان کردند گیاهچه‌های حاصل از بذور فرسوده در مقایسه با گیاهچه‌های بذور با قدرت بالا مقدار پروتئین کم‌تری دارند. پرایمینگ با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان موجب افزایش و بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی می‌شود که این آنزیم‌ها فعالیت پراکسیداسیون لیپید را طی جوانه‌زنی کاهش می‌دهند و در نتیجه باعث افزایش درصد جوانه‌زنی می‌گردند (Ansari *et al.*, 2013; Mittler *et al.*, 2004).

نشست‌پذیری سلولی بیشتر باشد درصد جوانه‌زنی کمتر می‌باشد (Rouzrokh and Gassemi-Golezani, 1998). هر چه ارقام بذری بتوانند در مدت زمان کمتری، درصد جوانه‌زنی بیشتری داشته باشند از سرعت جوانه‌زنی بالاتری برخوردار هستند. مقدار استفاده از ذخایر بذر، حاصل تفاضل بین وزن خشک اولیه و وزن خشک باقی‌مانده بذر است و بیانگر میزان استفاده از ذخایر بذر در تنفس است که در نهایت به صورت وزن خشک گیاهچه ظاهر می‌گردد. به عبارت دیگر، هر چه گیاهچه حاصل از بذر وزن خشک بیشتری داشته باشد، اتلاف تنفسی ذخایر کمتر و کارایی تبدیل آن به مواد ساختمانی بیشتر خواهد بود. افزایش مقدار استفاده از ذخایر بذر در نتیجه پرایمینگ با جیبرلین می‌تواند به دلیل افزایش فعالیت هورمون جیبرلین در فرآیند جوانه‌زنی باشد. سلطانی و همکاران (Soltani *et al.*, 2008) بیان کردند که به احتمال زیاد با کاهش سطح جیبرلین در هنگام جوانه‌زنی بذور گندم، از مقدار SRUR و FUSR کاسته می‌شود. نتایج این بررسی نشان داد که فرسودگی منجر به افزایش تنفس و تنفس نیز منجر به هدر رفت ذخایر غذایی شده باشد. آنچه که مسلم است، آن است که بذر بعد از جذب آب و جوانه‌زنی، قبل از این که عمل فتوسنتز را انجام دهد از مواد غذایی اندوخته در درون خود استفاده می‌کند. ترشح هورمون‌ها و آنزیم‌های درونی بذر موجب می‌شود تا مواد غذایی اندوخته در بذر از جمله نشاسته تجزیه و در آب حل شود و از این طریق انرژی لازم برای خروج ریشه‌چه و ساقچه فراهم گردد. در نتیجه تنفس و مصرف غذایی درون بذر، وزن خشک کل زیست توده کاهش می‌یابد (Alizadeh, 1997). در تحقیقی که صدقی و همکاران (Sedghi *et al.*, 2011) بر روی بذور ابریشم ایرانی انجام دادند، تاثیر هورمون پرایمینگ بر روی بذور فرسوده بررسی شد. با افزایش سطح فرسودگی بذور در این گیاه، کاهش در SRUE، FUSR و SRUR مشاهده گردید. ولی اعمال تیمار هورمون در هر سطح فرسودگی بذور این گیاه، مقدار این صفت را نسبت به تیمار شاهدی

زیستی و غیر زیستی افزایش می دهد و هم چنین این هورمون مرگ سلولی را در مواجهه با انواع تنش ها کنترل می کند. یکی از واضح ترین علایم و نشانه مرگ برنامه ریزی شده ی سلولی تحت تاثیر اسید سالیسیلیک تغییر در میزان بیان پروتئین ها می باشد (Mauch, 2001). گزارشات متعددی مبنی بر نقش اسید سالیسیلیک بر کاهش اثرات ناشی از تنش ها وجود دارد. از جمله اسیدسالیسیلیک موجب افزایش آنزیم های آنتی اکسیدانتی مانند کاتالاز (Slaymarker *et al.*, 2002)، سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیدازها (El-Tayeb, 2005) می گردد. آنزیم کاتالاز یکی از مهم ترین آنزیم های آنتی اکسیدانتی است که با افزایش تنش افزایش می یابد، ولی با استفاده از تکنیک پرایمینگ بذرها می توان میزان این آنزیم را در گیاهان بیشتر افزایش داد (Moosavi *et al.*, 2009). تحقیق محمدی و همکاران (Mohammadi *et al.*, 2009) نشانگر آن است که جیبرلین باعث افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت از جمله کاتالاز می شود. این نتایج با یافته های ویتوریا و همکاران (Vittoria *et al.*, 2001) نیز مطابقت دارد. آن ها گزارش کردند که افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت ناشی از کاربرد جیبرلین می تواند ناشی از افزایش القای رونویسی ژن و سنتز پروتئین آنزیم و یا به واسطه تغییرات پس از ترجمه ی پروتئین آنزیم های موجود باشد. آنزیم کاتالاز موجب تجزیه رادیکال های پراکسید هیدروژن در پراکسی زوم می شود. محققان معتقدند که فعالیت این آنزیم در تنش های شدید افزایش می یابد و در تنش های ملایم پاکسازی H_2O_2 بر عهده چرخه گلوکاتایون-آسکوربات است (Cruz de Carvalho, 2008). واریر و همکاران (Varier *et al.*, 2010) گزارش کردند که تیمارهای پرایمینگ باعث افزایش فعالیت آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز در پنبه شده است، هم چنین گزارش شده است که پرایمینگ می تواند با تغییر در بیان ژن باعث افزایش فعالیت های بیوشیمیایی در گیاهچه نخود گردد (Spin *et al.*, 2011). اثرات سودمند پرایمینگ بذرها به بازسازی و تجمع اسیدهای نوکلئیک، سنتز پروتئین ها و

تنش های محیطی که فرسودگی نیز از آن جمله است موجب افزایش انواع اکسیژن فعال می شود. اکسیژن فعال نیز موجب انتقال سیگنال شده و پاسخ دفاعی را فعال می کند. افزایش پراکسید هیدروژن و رادیکال های آزاد در سیتوپلاسم سلول ها طی فرسودگی، منجر به غیر فعال شدن فعالیت های فتوسنتتیک شده و عدم تعادل بین رادیکال های آزاد و آنزیم های آنتی اکسیدان را سبب می شود. هم چنین کاهش پیوستگی پروتئین ها طی فرسودگی اتفاق افتاده و باعث افزایش حساسیت پروتئین ها به آنزیم های تجزیه کننده می گردد و در نهایت کاهش قوه نامیه بذور مشاهده می شود (Berlett and Stadtman, 1997). پرایمینگ با کاهش عوارض فرسودگی، موجب ترمیم بیان ژن های مربوط به فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان می شود. هم چنین پرایمینگ موجب کاهش خسارت غشای سلولی شده و تولید رادیکال های آزاد اکسیژن را کاهش می دهد و از این طریق می تواند موجب افزایش جوانه زنی شود. آنتی اکسیدانت ها می توانند با کم کردن میزان رادیکال های آزاد از فرسودگی بذور جلوگیری و روند آن را کندتر کنند، ولی کاهش مقدار آنتی اکسیدانت ها پس از ادامه یافتن روند فرسودگی می تواند نشان دهنده شکست مکانیسم دفاعی سیستم های آنتی اکسیدانت بذور در برابر این رادیکال ها باشد. آنزیم های آنتی اکسیدانت بذور در روزهای اول فرسودگی افزایش می یابند، ولی با افزایش روند فرسودگی قابلیت دفاع را از دست می دهند و از مقدار آن ها کاسته می شود (Kaewnaee, 2011). کاتالاز به حفظ هموستازی اکسیژن فعال در زمان ایجاد تنش کمک می کند، فعالیت آن در گیاه به هنگام تنش افزایش یافته (Magbanua *et al.*, 2007) و سنتز آن یک پاسخ سازگار یافته در برابر تنش اکسیداتیو می باشد (Mittler, 2002). اسید سالیسیلیک به عنوان یک مولکول علامت دهنده شناخته شده است که نقش عمده ای را در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی در گیاهان ایفا می کند. کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک عملکرد گیاه را تحت تنش های

(Leprince *et al.*, 1994) معتقدند که تجمع رادیکال‌های آزاد و افزایش پراکسیداسیون لیپیدها طی آبیگری و خشکاندن مجدد بذور می‌تواند عامل کاهش طول عمر بذور پرایم شده باشد. تغییر در ساختار غشا به دلیل پراکسیداسیون لیپیدهای غشا موجب تخریب غشا و افزایش نفوذپذیری آن به پروتون و سایر یون‌ها می‌گردد. مجموع این حوادث، آزاد شدن محتویات درون سلولی را در بر دارد. سیرم و همکاران (Sairam *et al.*, 2002) معتقدند که زمانی که دفاع آنتی‌اکسیدانتی کاهش و یا تشکیل رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابد، تنش اکسیداتیو پدید می‌آید و می‌تواند منجر به پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع، تخریب غشاهای لیپیدی و در نتیجه خروج آلدئیدهای گوناگونی از جمله مالون دی آلدئید شود. پژوهش‌گران افزایش اسیدهای چرب طی فرسودگی بذور را ناشی از افزایش فعالیت آنزیم‌های لیپازی هم‌چون فسفولیپاز-D دانسته‌اند (Wang *et al.*, 2012).

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش با وجود این که اسیدسالیسیلیک توانست به جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های فرسوده کمک کند، اما تاثیر کاربرد جیبرلین بیشتر از این هورمون بود. بنابراین، در بذره‌های فرسوده لویا می‌توان از پیش تیمار اسید جیبرلیک جهت تقویت بنیه بذور استفاده کرد.

بازسازی غشاها مربوط است. به دلیل فعالیت بهتر برخی آنزیم‌ها در بذور (Kaouar *et al.*, 2006; Farooq *et al.*, 2006) قابلیت دسترسی به مواد غذایی در طول جوانه‌زنی در بذره‌های پرایمینگ شده آسان‌تر شده، این بذرها بهتر قادر به کامل کردن فرآیند جوانه‌زنی در زمان کوتاه هستند و استرس‌های محیطی را به خوبی تحمل می‌کنند (Kant *et al.*, 2006). دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت تحت تنش‌ها در اثر پرایمینگ، می‌تواند در اثر ساخت DNA در جنین در مدت پرایمینگ و در غیاب سلول‌های تقسیم شونده و به دنبال آن افزایش سرعت سنتز DNA در بافت جنین باشد. افزایش سرعت سنتز پروتئین و DNA در بذره‌های پرایم شده تنها بعد از ۶ تا ۱۲ ساعت پس از اعمال پرایمینگ گزارش شده است (Bray *et al.*, 1989). محققان معتقدند که پس از پرایمینگ، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت افزایش می‌یابد و بیانگر بهبود مکانیسم‌های ترمیم در بذور است (Wahid *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2010; Bailey *et al.*, 2000). به اعتقاد دیویسون و همکاران (Davison *et al.*, 1991) پرایمینگ می‌تواند موجب ترمیم خسارت‌های وارده شده به rRNA گردد و این سیستم بهبود، حتی در بذور پرایم شده و خشکانیده شده حفظ می‌گردد. وحید و همکاران (Wahid *et al.*, 2008) بیان کردند که آثار مثبت پرایمینگ ناشی از سنتز *de novo* پروتئین‌ها، بهبود مکانیسم‌های ترمیم و پیش ماده‌های جوانه‌زنی است. لپرینس و همکاران

Reference

- Aebi, H. 1984.** Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 105: 121-126.
- Alizadeh, A. 1997.** Water, Soil and Plants Relations. Astan Quds Razavi Press.
- Anonymous. 2008.** Food Outlook, Global Market Analysis [Online]. Available at <http://www.fao.foodoutlook.com>
- Ansari, O., R. Tavakkol Afshari, F. Sharif-Zadeh, and A. Shayanfar. 2013.** The role of priming on seed reserve utilization and germination of mountain rye (*Secale montanum*) seeds under salinity stress. (In Persian, with English Abstract.) *Iranian J. Field Crop Sci.* 44(2): 181-189.

منابع

- Ashraf, M., H. R. Athar, P. J. C. Harris, and T. R. Kwon. 2008.** Some prospective strategies for improving crop salt tolerance. *Adv. Agron.* 97: 45-92.
- Bailly, C. 2004.** Active oxygen species and antioxidants in seed biology. *Seed Sci. Res.* 14: 93- 107.
- Bailly, C., A. Benamer, F. Cornineau, and D. Come. 2000.** Antioxidant systems in sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds as affected by priming. *Seed Sci. Res.* 10: 35-42.
- Berlett, B. S., and E. R. Stadtman. 1997.** Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *J. Biol. Chem.* 272: 20313-20316.
- Bray, C. M., P. A. Davision, M. Ashraf, and R. M. Taylor. 1989.** Biochemical changes during osmopriming of leek seed. *Ann. Bot.* 63: 185-193.
- Bruggink, G.T., J. J. J. Ooms, and P. Van der Toorn, 1999.** Induction of longevity in primed seeds. *Seed Sci Res.* 9: 49- 53.
- Burguières, E., P. McCu, Y. Kwon, and K. Shetty. 2007.** Effect of vitamin C and folic acid on seed vigour response and phenolic-linked antioxidation activity. *Bioresour. Technol.* 98: 1393-1404.
- Chen, K., and R. Arora. 2013.** Priming memory invokes seed stress-tolerance. *Environ. Exp. Bot.* 94: 33-45.
- Cruz de Carvalho, M. H. 2008.** Drought stress and reactive oxygen species. *Plant Signal Behav.* 3: 156-165.
- Davison, P. A., R. M. Taylor, and C. M. Bray. 1991.** Changes in ribosomal RNA integrity in leek (*Allium porrum* L.) seeds during osmopriming and drying-back treatments. *Seed Sci. Res.* 1(1): 37-44.
- Duman, I. 2006.** Effect of seed priming with PEG and K₃PO₄ on germination and seedling growth in lettuce. *Pakistan J. Biol. Sci.* 9(5): 923-928.
- Ellias, S. G., A. L. Garary, and S. Haning. 2006.** Seed quality testing of native species. *Native Plant J.* 7: 15-19.
- Ellis, R. H., and E. H. Roberts. 1980.** Towards a rational basis for testing seed quality. p. 605-635. In P.D. Hebblethwaite (ed.). *Seed Production*. Butterworth's, London.
- El-Shintinawy, F., and M. N. El-Shourbagy, 2001.** Alleviation of changes in protein metabolism in NaCl -stressed wheat seedlings by thiamine. *Biol. Plant.* 44: 541-545.
- El-Tayeb, M. A. 2005.** Response of barley gains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regul.* 45: 215-225.
- Espin, G. B., P. D. Vivancos, D. Job, M. Belghazi, C. Job, and J. A. Hernandez. 2011.** Understanding the role of H₂O₂ during pea seed germination: a combined proteomic and hormone profiling approach. *Plant Cell Environ.* 34: 107-1919.
- Farooq, M., S. M. A. Basra, E. A. Warraich, and A. Khaliq, 2006.** Optimization of hydropriming techniques for rice seed invigoration. *Seed Sci. Technol.* 34: 529-534.
- Giannopolitis, C. N., and S. K. Ries, 1977.** Suoeroxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. *J. Plant Physiol.* 59: 309-314.
- Hampton, J. G. 2003.** Methods of viability and vigour testing: a critical and appraisal. p. 81-118. In A. S. Basra (ed.) *Seed Quality: Basic Mechanisms and Agricultural Implications*, CBS Publishers and Distributers, New Delhi, India.
- Harris, D., J. K. R. Kumar, and J. Kumar. 2001.** On- farm seed priming. *Agric. Res.* 44: 3-14.
- Kaewnaee, P., S. Vichitphan, P. Klanrit, B. Siri, and k. Vichitphan, 2011.** Effect of accelerated Aging Process on Seed Quality and Biochemical Chnages in Sweet Pepper (*Capsicum annuum* L.). *Seed Biotechnol.* 10(2): 175- 182.
- Kalpana, R., and M. K. V. Rao, 1995.** On the ageing mechanism in pigeon pea (*Cajanus cajan* (L.) Mill sp.) seeds. *Seed Sci. Technol.* 23: 1-9.
- Kant, S., S. Pahuja, and R. K. Pannu. 2006.** Effect of seed priming on growth and phenology of wheat under late-sown conditions. *Tropical Sci.* 44: 9-15.

- Kaur, S., A. K. Gupta, and N. Kaur. 2005.** Seed priming increase crop yield possibly by modulating enzymes of sucrose metabolism in chickpea. *J. Agron. Crop Sci.* 191: 81-87.
- KrishnaChaitanya, K. S., S. Keshavkant, and S. C. Naithani. 2000.** Changes in total protease activity in dehydrating recalcitrant sal (*Shorea robusta*) seeds. *Silva Fen.* 34: 71-77.
- Lee, S. S., and J. H. Kim. 2000.** Morphological change, sugar content, α -amylase activity of rice seed various priming conditions. *Korean J. Crop Sci.* 44: 138-142.
- Leprince, O., N. M. Atherton, R. Deltour, and G. A. F. Hendry. 1994.** The involvement of respiration in free radical processes during loss of desiccation tolerance in germination *Zea mays* L. An electron paramagnetic resonance study. *Plant Physiol.* 104: 1333-1339.
- MacAdam, J. W., R. Nelson, and E. Sharp. 1992.** Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue. *Plant Physiol.* 99: 872-878.
- McCue, P., and K. Shetty. 2002.** A biochemical analysis of mungbean (*Vignar adriata*) response to microbial polysaccharides and potential phenolic enhancing effects for nutraceutical applications. *Food Bio.* 16: 57- 79.
- MacDonald, M. B. 1999.** Seed deterioration: physiology, repaired and assessment. *Seed Sci. Technol.* 27: 177-237.
- McDonald, M. B. 2000.** Seed priming. p. 287-325. In M. Black and J. D Bewley (ed) *Seed technology and its biological basis.* Sheffield Academic Press, UK.
- Magbanua, Z. V., C. M. D. Moraes, T. D. Brooks, W. P. Williams, and D. S. Luthe. 2007.** Is Catalase Activity One of the Factors Associated with Maize Resistance to *Aspergillus flavus*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 20(6): 697-706.
- Mauch, F., B. Mauch-Mani, C. Gaille, B. Kull, D. Haas, and C. Reimann. 2001.** Manipulation of salicylate content in *Arabidopsis thaliana* by the expression of an engineered bacterial salicylate synthase. *J. Plant.* 25(1): 67-77.
- Mittler, R. 2002.** Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 7: 405-410.
- Mittler, R., S. Vanderauwera, M. Gollery, and F. Van Breusegem. 2004.** Reactive oxygen gene network of plants. *Trends Plant Sci.* 9: 490-498.
- Mohammadi, M., H. Fahimi, and A. Mogar. 2009.** Effects of salicylic acid and gibberellic acid on seed germination rate in lentils. (In Persian, with English Abstract.) *J. Bio* 4:33-44.
- Mohanty, N. 2003.** Photosynthetic characteristics and enzymatic antioxidant capacity of flag leaf and the grain yield in two cultivars of *Triticum aestivum* (L). exposed to warmer growth conditions. *J. Plant Physiol.* 160:71-74.
- Moosavi, A., R. Tavakkol-Afshari, F. Sharif-Zadeh, and A. Ayneband. 2009.** Effect of seed priming on germination characteristics, polyphenol oxidase, and peroxidase activities of four amaranth cultivars. *J. Food Agri. Environ.* 7: 353-358.
- Patil, M. N. 2010.** Biofertilizer effect on growth protein and carbohydrate content in stevia rebaudianavar bertonii. *Sci. Technol.* 2(10): 42-44.
- Ray, M. B., S. Halder, and K. Gupta, 1990.** Differential responses of early and late cultivars of rice seeds under accelerated ageing. *Seed Sci. Technol.* 18: 823-831.
- Rouzkroh, M., and K. Ghasemi Golezani. 1998.** The effect of aging on seed emergence and yield and yield components of two chickpea cultivars under full irrigation and deficit irrigation. M. Sc. Thesis. Univ. of Tabriz, Iran.
- Sairam, R. K., K. V. Rao, and G. C. Srivastava. 2002.** Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Sci.* 163: 1037-1046.
- Savage, W. E. F., K. C. Dent, and L. J. Clark. 2004.** Soak condition and temperature following sowing influence the response of maize (*Zea Mays* L.). *Field Crops Res.* 90: 361-374.

- Sedghi, M., S. Khomari, and B. Amanpour-Balaneji. 2011.** Effect of seed vigor and hormone priming on glyoxylate cycle enzymes activity in Persian silk tree (*Albizia julibrissin* Durazz.). *World App. Sci. J.* 13(3): 541-544.
- Sedghi, M., A. Nemati, B. Amanpour-Balaneji, and A. Gholipouri. 2010a.** Influence of different priming materials on germination and seedling establishment of milk thistle (*Silybum marianum*) under salinity stress. *Word App. Sci. J.* 11(5): 604-609.
- Sedghi, M., A. Nemati, and B. Esmailpour. 2010.** Effect of seed priming on germination and seedling growth of two medicinal plants under salinity. *Emir. J. Food Agric.* 22 (2): 130-139.
- Slaymarker, D. H., D. A. Navarre, D. Clark, O. D. Pozo, G. B. Martin, and D. F. Klessig. 2002.** The Tobacco salicylic acid-banding protein 3 (SABP3) is the chloroplast carbonic anhydrase, which exhibition antioxidant activity and plays a role in the hypersensitive defense response. *PNAS.* 99 (18):11640-11645.
- Soltani, E., B. Kamkar, S. Galeshi, and F. Akram Ghaderi. 2008.** The effect of seed deterioration on seed reserves depletion and heterotrophic seedling growth of wheat. (In Persian, with English Abstract.) *J. Agric. Sci. Natur Resorce* 15(1):13-17.
- Van Schoonhoven, A., and O. Voysest (eds.) 1991.** Common Beans: Research for Crop Improvement. Wallingford: CAB International, in association with CIAT. pp. 980.
- Varier, A., A. Kuriakose, and M. Dadlani. 2010.** The subcellular basis of seed priming. *Current Sci.* 99(4): 450-456.
- Vitoria, A. P., P. J. Lea, and R. A. Azevedo. 2001.** Antioxidant enzymes responses to cadmium in radish tissues. *Phytochem.* 57: 701-710.
- Wahid, A., A. Noreen, S. M. A. Basra, S. Gelani, and M. Farooq. 2008.** Priming-induced metabolic changes sunflower (*Helianthus annuus*) achenes improve germination and seedling growth. *Bot. stud.* 49: 343-350.
- Wang, F., R. Wang, W. Jing, and W. Zhang. 2012.** Quantitative dissection of lipid degradation in rice seeds during accelerated aging. *Plant Growth Regul.* 66: 49-58.