



علوم و تحقیقات بذر ایران  
سال سوم / شماره سوم / ۱۳۹۵ (۱۰ - ۱)



## بررسی تاثیر پیش تیمارهای مختلف بذر بر جوانه‌زنی و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه سرخارگل (*Echinacea purpurea*. L)

خاتون انصاری<sup>۱</sup>، امین صالحی<sup>۲\*</sup>، محسن موحدی دهنوی<sup>۳</sup> و ساناز حیدری<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۹/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۲/۲۵

### چکیده

به منظور بررسی اثر پیش تیمارهای مختلف بر خصوصیات جوانه‌زنی و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه سرخارگل، آزمایشی به صورت طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج در سال ۱۳۹۴ اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل چهار پیش تیمار اسید جیبرلیک ۵۰۰ میلی گرم در لیتر (۱۲ و ۲۴ ساعت)، نیترات پتاسیم ۲۹/۷ میلی مولار (۱۲ و ۲۴ ساعت)، بذور پیش تیمار شده با آب مقطر (۱۲ و ۲۴ ساعت)، اسید سالیسیلیک ۲۰۰ میلی مولار (۱۲ و ۲۴ ساعت) و شاهد (بدون پیش تیمار) بودند. در این تحقیق، صفات متوسط مدت جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی، فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز مورد اندازه گیری و ارزیابی قرار گرفت. نتایج آزمایش نشان داد پیش تیمارهای اعمال شده اثر معنی داری بر صفات متوسط مدت جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی، فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز داشتند. بذره‌های پیش تیمار شده با اسید جیبرلیک ۵۰۰ میلی گرم در لیتر به مدت ۱۲ ساعت بالاترین شاخص‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم کاتالاز را نشان دادند. بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در پیش تیمار آب مقطر ۱۲ ساعت مشاهده شد. همچنین نتایج نشان داد که افزایش مدت پیش تیمار تأثیر منفی بر اکثر صفات داشت. به طور کلی در بین پیش تیمارها، پیش تیمار اسید جیبرلیک ۵۰۰ میلی گرم در لیتر در مدت زمان ۱۲ ساعت برای بهبود جوانه‌زنی و تولید گیاهچه قوی تر توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پیش تیمار، سرخارگل، جوانه‌زنی

۴- دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

۲- استادیار، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

۳- دانشیار، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

\* نویسنده مسئول: aminsalehi@yu.ac.ir

## مقدمه

در حال حاضر تقاضا برای گیاهان دارویی به عنوان تولیدات قابل مصرف در صنایع بهداشتی و دارویی در حال افزایش است (Kochaki et al., 2008). رویکرد روز افزون به استفاده از گیاهان دارویی در سطح جهان، اهمیت کشت و تولید این گیاهان را روشن تر می‌سازد. سرخارگل [*Echinacea purpurea*(L.) Moench] گیاهی علفی چند ساله و از تیره *آستر/سه* یا گل ستاره<sup>۱</sup> است. این گیاه بومی آمریکای شمالی است، ولی امروزه در اکثر نقاط اروپا، آسیا و همچنین ایران کشت می‌شود. در گذشته این گیاه را برای درمان مارگزیدگی، بیماری‌های لته و دهان، سرماخوردگی، سرفه و گلودرد استفاده می‌کردند. در ۵۰ سال اخیر این گیاه به دلیل خواص ضد ویروسی، ضد قارچی و ضد باکتریایی شهرت جهانی یافته است و ترکیبات حاصل از آن در گروه مواد تقویت کننده سیستم ایمنی بدن به شمار می‌رود. همچنین فرآورده‌های سرخارگل به عنوان تصفیه کننده خون، ضد عفونی کننده و آرام بخش معرفی شده است (Gladisheva, 1995).

امروزه اگرچه ارقام اصلاح شده دارای قوه نامیه بالایی می‌باشند ولی به دلیل وجود تنش‌های محیطی زیستی و غیرزیستی، تولید گیاهچه در آنها با مشکل روبرو می‌شود و درصد ظهور گیاهچه کاهش می‌یابد. یکی از روش‌های رایج جهت افزایش بهبود جوانه‌زنی بذر، اعمال روش پیش تیمار (پرایمینگ)<sup>۲</sup> روی بذر می‌باشد (Coolbear, 1978 and)، در این راستا پنالوسا و ایرا (Penalosa and Eira, 1993) بیان نمودند که تعیین زمان مناسب پیش تیمار موجب جلوگیری از تأثیر منفی آن بر ویژگی‌های جوانه‌زنی از جمله درصد و سرعت جوانه‌زنی و رشد گیاهچه بذرهای پیش تیمار شده می‌شود. پیش تیمار (پرایمینگ) به تیمارهای خاصی گفته می‌شود که برای افزایش درصد و یکنواختی جوانه‌زنی بذر، بهبود رشد گیاهچه‌ها و شاخص‌های بنیه بذر در برابر تنش‌های محیطی به کار گرفته می‌شود (Ansari and Sharifzadeh, 2012). پیش تیمار شامل فرایندی است که طی آن تا اندازه ای به بذر اجازه جذب آب داده می‌شود که فعالیت‌های فیزیولوژیکی جوانه‌زنی شروع شود ولی خروج ریشه‌چه رخ ندهد (Badek et al., 2006).

کروچ و همکاران (Koroch et al., 2002)، عملیات تولید سرخارگل را به خاطر ظهور ضعیف گیاهچه و هزینه بالای بذر، بسیار متغیر گزارش کردند و بیان داشتند که بذریاشی مستقیم در مزرعه باعث ظهور تعداد گیاهچه کم و غیر قابل قبول می‌شود. گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد پیش تیمار بذر، اجازه رونویسی زود هنگام DNA، افزایش RNA و پروتئین سنتتاز را به بذور داده و موجب افزایش رشد رویان می‌شود، بخش‌های آسیب دیده بذور را ترمیم می‌کند و سنتز متابولیت‌ها را کاهش می‌دهد. این عوامل می‌تواند میزان و یکنواختی جوانه‌زنی بذر و ظهور گیاهچه‌ها را بهبود بخشد (Omidi et al., 2005).

پیش تیمار بذر باعث بهبود جوانه‌زنی بذر، از طریق یکنواختی بیشتر و افزایش بنیه و در نهایت عملکرد بالاتر در زیره سبز<sup>۳</sup> شد (Nematollahi et al., 2009). پیش تیمار بذرهای سیاه دانه تحت شرایط تنش شوری با نیترات پتاسیم ۰/۲ درصد به مدت ۷۲ ساعت و اسید جیبرلیک با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۴۸ ساعت سبب بهبود ویژگی‌های جوانه‌زنی بذرهای گیاه سیاه دانه<sup>۴</sup> شد (Fathiamirkhez et al., 2012). بیات و همکاران (Bayat et al., 2014) نیز گزارش دادند روش‌های مختلف پیش تیمار، تأثیر مثبتی بر ویژگی‌های گیاه سرخارگل و پیش تیمارهای هاردنینگ<sup>۵</sup> (روش خشک و خیس کردن بذر) و کلرید پتاسیم در مدت زمان ۶ ساعت بیشترین اثر مثبت را بر صفات درصد، سرعت و قدرت جوانه‌زنی داشتند.

تأثیر پیش تیمار و پیش تیمار با آب مقطر و مانیتول در بذور نخود موجب افزایش تعداد شاخه‌های فرعی، طول ریشه‌چه و بیوماس گره‌های ریشه می‌گردد که می‌تواند به دلیل توزیع بیشتر مواد فتوسنتزی به گره‌ها و همچنین افزایش فعالیت ساکارز سنتتاز و گلوتامین سنتتاز باشد (Kaur, 2006). در آزمایشی تأثیر پیش تیمارهای مختلف GA<sub>3</sub>، نیترات پتاسیم و IAA روی جوانه‌زنی بذر گیاه نی نهانندی<sup>۶</sup> بررسی و مشخص شد که پیش تیمار با GA<sub>3</sub> درصد جوانه‌زنی این گیاه را نسبت به شاهد تا ۹۶ درصد افزایش و متوسط مدت جوانه‌زنی را به طور معنی‌داری کاهش داد (Bhatt et al., 2005).

<sup>3</sup> *Cuminum cyminum* L.

<sup>4</sup> *Nigella sativa* L.

<sup>5</sup> Hardening

<sup>6</sup> *Swertia angustifolia*

<sup>1</sup> Asteracea

<sup>2</sup> Priming

درصد جوانه‌زنی بذرهای سرخارگل را به طور معنی‌داری افزایش داد. پرارور و همکاران (Paraver *et al.*, 2015) نیز بیان نمودند پیش تیمار بذرهای سرخار گل با آب مقطر به مدت زمان ۱۰ ساعت باعث افزایش معنی‌دار درصد و سرعت جوانه‌زنی، شد.

با توجه به اثر مثبت پیش تیمار بذر بر ویژگی‌های جوانه‌زنی گیاهان مختلف و مشکلات جوانه‌زنی گیاه سرخارگل و همچنین اهمیت این گیاه در صنایع دارویی این تحقیق جهت تعیین بررسی تأثیر پیش تیمارهای مختلف بذر بر خصوصیات جوانه‌زنی و برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بذر سرخارگل انجام گرفت.

### مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر پیش تیمارهای مختلف بر خصوصیات جوانه‌زنی و برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بذرهای سرخارگل، آزمایشی به صورت طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در سال ۱۳۹۴ در دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج اجرا شد. بذرهای سرخارگل اکوتیپ نجف آباد از مزرعه شرکت پاکان بذر اصفهان در مهرماه ۹۴ تهیه گردید. تیمارهای آزمایش شامل چهار پیش تیمار اسید جیبرلیک ۵۰۰ قسمت در میلیون (۱۲ ساعت و ۲۴ ساعت)، اسید سالیسیلیک ۲۰۰ میلی‌مولار (۱۲ ساعت و ۲۴ ساعت)، نیترات پتاسیم ۲۹/۷ میلی‌مولار (۱۲ ساعت و ۲۴ ساعت)، آب مقطر (۱۲ و ۲۴ ساعت) و شاهد (بدون پیش تیمار) بود.

قبل از اعمال پیش تیمار، بذرها با هیپوکلریت سدیم پنج درصد به مدت ۳۰ ثانیه ضدعفونی گردید و سپس چندین بار با آب مقطر شستشو داده شدند. بعد از پیش تیمار، بذرها در دمای اتاق خشک و کشت انجام شد. در هر تیمار، ۲۵ عدد بذر داخل هر پتری به قطر ۹ سانتی‌متر روی کاغذ صافی واتمن شماره یک قرار داده شدند. به هر پتری پنج میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد و به منظور کاهش تبخیر آب دور پتری‌ها با پارافیلیم بسته شد. جوانه‌زنی بذرها از روز پنجم شروع شد که در این روز اولین شمارش انجام و تا ۱۴ روز ادامه یافت. در پایان، ویژگی‌های مختلف مانند متوسط مدت‌زمان جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی، فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز محاسبه و اندازه‌گیری شد. به هنگام شمارش، بذرهایی جوانه‌زده تلقی شدند که طول ریشه‌چه آنها از

میزان تجمع انواع فعال اکسیژن در زمان جوانه‌زنی بوسیله میزان تولید و آزاد شدن انواع فعال اکسیژن و همچنین فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی تعیین می‌شود که تعادل بین انواع فعال اکسیژن و فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی تعیین کننده میزان خسارت وارده است. انواع اکسیژن فعال باعث آسیب به غشای سلولی، DNA و پروتئین می‌گردد که منجر به تولید ترکیبات سمی در گیاه می‌شود (Baily, 2004). سیستم آنتی‌اکسیدانی شامل آنزیم‌ها و متابولیت‌های آنتی‌اکسیدان هستند که باعث حذف انواع فعال اکسیژن می‌شوند. آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و دیگر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان با شکستن پراکسید هیدروژن آن را به آب و اکسیژن تبدیل می‌کند و باعث حذف و غیر فعال شدن انواع فعال اکسیژن می‌شوند (Mittler, 2002).

سیادت و همکاران (Siadat *et al.*, 2012) گزارش دادند که پیش تیمار بذر ذرت با  $KNO_3$  و جیبرلین اثر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به تیمار شاهد داشت. آنها گزارش کردند بذرهای با فعالیت آنزیمی بیشتر دارای درصد جوانه‌زنی بیشتری بودند. همچنین یونسی و همکاران (Uonesi *et al.*, 2013) گزارش کردند که اعمال پیش تیمار در بذر ارزن مروریدی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به ویژه آنزیم کاتالاز و نیز افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی نسبت به تیمارهای پیش تیمار نشده شد.

احمدپور دهکردی و بلوچی (Ahmadpour Dehkordi and Balouchi, 2012) نیز گزارش کردند پیش تیمار بذر سیاهدانه با اسید سالیسیلیک، نیترات پتاسیم و آب مقطر سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در مقایسه با گیاهچه‌های تیمار نشده گردید. در مطالعات فاتح و همکاران (Fateh *et al.*, 2011) بر بذر نخود نیز مشخص شد بذرهای پیش تیمار شده با کلرید کلسیم و کلرید پتاسیم دارای فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز بیشتر، وزن هزار دانه بیشتر، تعداد دانه در بوته بیشتر و شاخص برداشت بیشتری نسبت به بذرهای پیش تیمار نشده بودند.

بیشونی و همکاران (Bishnoi *et al.*, ۲۰۱۰) گزارش نمودند که پیش تیمار بذرهای سرخارگل با پلی‌اتیلن گلیکول ۸۰۰۰ در پتانسیل آبی ۰/۵- مگا پاسکال با خراش دهی مکانیکی، میانگین روز تا جوانه‌زنی و همچنین

آنزیمی اضافه و در طول موج ۲۴۰ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر مدل Lambda EZ 210 میزان کاهش جذب در مدت ۶۰ ثانیه قرائت شد. با افزودن  $H_2O_2$  تجزیه آن شروع شده و موجب کاهش جذب می‌گردد. فعالیت آنزیمی بر حسب میلی‌مول بر گرم بافت تازه بر دقیقه محاسبه شد. ضریب خاموشی برای کاتالاز  $0.0394$  میلی‌مول بر سانتی‌متر می‌باشد (Aebi, 1984).

#### اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز

به ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۶۰ میلی‌مولار با  $pH=6/1$ ، ۰/۵ میلی‌لیتر گایاکول ۲۸ میلی‌مولار و ۰/۵ میلی‌لیتر  $H_2O_2$  ۵ میلی‌مولار اضافه کرده و در طول موج ۴۷۰ نانومتر قرائت گردید. فعالیت آنزیمی به صورت افزایش جذب توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۴۷۰ نانومتر در دقیقه به ازای هر میکروگرم پروتئین در عصاره آنزیمی بر حسب گرم بر دقیقه بر بافت تازه ساقه‌چه محاسبه گردید (Ghanati et al., 2002).

#### نتایج و بحث

##### فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر پیش‌تیمارهای مختلف بر فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز از پیش‌تیمار اسید جیبرلیک ۵۰۰ قسمت در میلیون و آب مقطر در مدت‌زمان ۱۲ ساعت به‌دست آمد که به‌ترتیب نسبت به شاهد ۱۷۵ و ۱۰۰ درصد افزایش داشتند. اسید سالیسیلیک ۰/۲ مولار و نیترات پتاسیم ۲۹/۷ میلی‌مولار اثر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم کاتالاز در مقایسه با تیمار شاهد نداشتند (جدول ۵). بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز از پیش‌تیمار آب مقطر در مدت‌زمان ۱۲ و ۲۴ ساعت به‌دست آمد که به‌ترتیب نسبت به شاهد ۱/۵۸ و ۱/۲۹ برابر افزایش نشان دادند. اسید سالیسیلیک ۰/۲ مولار و نیترات پتاسیم ۲۹/۷ میلی‌مولار اثر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم کاتالاز در مقایسه با تیمار شاهد نداشتند (جدول ۲).

۲ میلی‌متر بیشتر بود (Gholami et al., 2015). برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز، آزمایشی جداگانه با تیمارهای آزمایش جوانه‌زنی طراحی شد و بعد از ۱۴ روز ساقه‌چه حاصل برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز استفاده شد.

با شمارش روزانه بذرهای جوانه‌زده، درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی طبق روابط زیر تعیین گردید. متوسط مدت جوانه‌زنی از رابطه (۱) محاسبه شد (Ellis and Roberts, 1981).

$$MGT = \frac{\sum f_i n_i}{N} \quad \text{رابطه (۱)}$$

که در آن MGT، متوسط مدت جوانه‌زنی،  $f_i$ ، روز شمارش،  $n_i$ ، تعداد بذر جوانه‌زده در همان روز و  $N$ ، کل بذر جوانه‌زده می‌باشد.

سرعت جوانه‌زنی از رابطه (۲) محاسبه شد (Verma et al., 2005):

$$GR = \sum \left( \frac{NI}{TI} \right) \quad \text{رابطه (۲)}$$

که در آن GR=سرعت جوانه‌زنی، NI: تعداد بذرهای جوانه‌زده در هرروز، TI: تعداد روزها از زمان شروع آزمایش می‌باشد.

درصد جوانه‌زنی از رابطه (۳) محاسبه شد (Ikic et al., 2012):

$$GP = \left( \frac{n/N \right) \times 100 \quad \text{رابطه (۳)}$$

که در آن GP=درصد جوانه‌زنی،  $n$ =تعداد بذور جوانه‌زده و  $N$ =تعداد کل بذرها می‌باشد.

##### اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز

برای این منظور ۰/۱ گرم از بافت تازه ساقه‌چه در هاون چینی سرد با قرار دادن در ظرف یخ با ۲ میلی‌متر بافر فسفات ۰/۱ مولار با  $pH=6/8$  هموزن شد و سپس به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. فاز بالایی عصاره به‌دست آمده برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز مورد استفاده قرار گرفت و فعالیت آنزیم بر حسب واحدگرم بر دقیقه بر بافت تازه ساقه‌چه محاسبه شد.

به ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با  $pH=7$  حاوی آب اکسیژنه ۳۰ میلی‌مولار، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره

جدول ۱- تجزیه واریانس اثرات پیش تیمارهای مختلف بر صفات مورد مطالعه در بذر سرخارگل

Table 1. Variance analysis of the effect of different priming on studied traits of *Echinacea purpurea* seed

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	فعالیت آنزیم کاتالاز Catalase activity enzyme	فعالیت آنزیم پراکسیداز Peroxidase activity enzyme	متوسط مدت جوانه زنی Means of germination time	سرعت جوانه زنی Germination rate	درصد جوانه زنی Germination Percentage
پیش تیمار	8	0.64**	18.75**	10.56**	13.54**	393.44**
خطا	27	0.02	0.71	0.68	1.21	32.14
ضریب تغییرات (درصد) CV(%)		14.4	12.4	10.0	15.4	8.84

\*\* : معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

\*\* : significant at 1 percent probability level

قسمت در میلیون در مدت زمان ۱۲ و ۲۴ ساعت به دست آمد که در مقایسه با پیش تیمار آب مقطر در مدت زمان ۱۲ و ۲۴ ساعت اختلاف معنی داری نشان ندادند (جدول ۲).

بیشترین درصد جوانه زنی نیز از پیش تیمار اسید جیبرلیک ۵۰۰ قسمت در میلیون در مدت زمان ۱۲ ساعت و نیترات پتاسیم ۲۹/۷ میلی مولار در مدت زمان ۲۴ به دست آمد که به ترتیب نسبت به شاهد ۷۳/۹ درصد و ۴۵/۸ درصد افزایش داشتند. بیشترین سرعت جوانه زنی نیز از پیش تیمار با اسید جیبرلیک ۵۰۰ قسمت در میلیون و آب مقطر در مدت زمان ۱۲ ساعت به دست آمد که به ترتیب نسبت به شاهد ۱۲۶/۸ و ۱۰۶/۴ درصد افزایش نشان دادند (جدول ۲).

سرعت جوانه زنی بیشتر در بذره‌های پیش تیمار شده با آب مقطر می‌تواند به علت جذب سریع تر آب و شروع زودتر فعالیت‌های متابولیکی در هنگام جذب آب مانند همانندسازی DNA (Jaap et al., 1966)، تحریک فعالیت RNA و در نتیجه پروتئین سازی (Davison et al., 1991)، ترمیم غشای سلولی و افزایش غلظت هورمون‌های محرک جوانه زنی از جمله اتیلن (Chojnowski and Come, 1997) باشد که مجموعه این عوامل مقدمات جوانه زنی را فراهم می‌آورند و باعث افزایش سرعت جوانه زنی می‌شوند. ملک زاده و فلاح (Malekzadeh and Fallah, 2014) نیز نشان دادند اثر پیش تیمار با آب مقطر باعث افزایش درصد و سرعت جوانه زنی زنیان<sup>۳</sup> شد. آن‌ها نشان دادند در بذره‌های پیش تیمار شده با آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت، درصد و سرعت جوانه زنی به طور معنی داری افزایش یافت.

طبق نتایج مشاهده می‌شود که آنزیم پراکسیداز و کاتالاز در گیاهان رشد کرده از بذره‌های پیش تیمار شده بیشتر از بذره‌های پیش تیمار نشده است. موسوی و همکاران (Moosavi et al., 2009) نیز نشان دادند پیش تیمار بذره‌های گل همیشه بهار<sup>۱</sup> فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، بخصوص کاتالاز و پراکسیداز را در مقایسه با بذره‌های پرایم نشده افزایش می‌دهد. در مطالعه فرهودی و همکاران (Farhoudi et al., 2011) بر گیاه خربزه<sup>۲</sup> 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. دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در اثر پیش تیمار، می‌تواند در اثر ساخت DNA در جنین در مدت پیش تیمار و در غیاب سلول‌های تقسیم شونده و به دنبال آن افزایش سرعت سنتز DNA در بافت جنین باشد. افزایش در سرعت سنتز DNA در بذره‌های پیش تیمار شده، تنها پس از شش تا ۱۲ ساعت پس از اعمال پیش تیمار گزارش شده است (Bray et al., 1989).

#### متوسط مدت، سرعت و درصد جوانه زنی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد، اثر پیش تیمار روی صفات متوسط مدت جوانه زنی، سرعت و درصد جوانه زنی در سطح یک درصد معنی دار بود (جدول ۱). بیشترین متوسط مدت جوانه زنی از تیمار شاهد به دست آمد که در مقایسه با پیش تیمار اسید سالیسیلیک در مدت زمان ۱۲ و ۲۴ ساعت اختلاف معنی داری نداشت. کمترین میانگین مدت زمان جوانه زنی از پیش تیمار اسید جیبرلیک ۵۰۰

<sup>1</sup> *Calendula officinalis*<sup>2</sup> *Cucomin melon*<sup>3</sup> *Carum copticum* L.

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه در سطوح مختلف پیش تیمارد بذر سرخارگل

Table 2. Means comparison of studied traits in different priming levels of *Echinacea purpurea* seed

پیش تیمار priming	مدت زمان پیش تیمار Priming Time	فعالیت آنزیم کاتالاز (میلی مول بر گرم بر دقیقه) Catalase activity enzyme (M mol gr <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	فعالیت آنزیم پراکسیداز (میلی مول بر گرم بر دقیقه) peroxidase activity enzyme (M mol gr <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	متوسط مدت جوانه زنی (روز) Means of germination time day	سرعت جوانه زنی Germination rate Seed day <sup>-1</sup>	درصد جوانه زنی Germination Percentage (%)
اسید جیبرلیک	12	1.98a	7.84bc	5.66cd	10.14a	83.00a
Gibberlic acid	24	1.21bc	6.99ce	6.73cd	7.99bc	69.00b
اسید سالیسیلیک	12	0.78e	5.92cd	10.73a	5.33fg	58.00c
Salysilic acid	24	0.90de	5.24cd	9.71ab	6.11def	57.00c
نیترات پتاسیم	12	1.01cd	3.67f	7.80c	6.02gef	62.00bc
KNO <sub>3</sub>	24	0.82de	6.63ce	9.10b	7.67bcd	70.00b
آب مقطر	12	1.44b	9.12a	6.13d	9.23ab	68.00b
Distilled water	24	1.01cd	8.09ab	6.73cd	7.00cde	62.00bc
شاهد Control	-	0.72e	3.53f	9.66ab	4.47g	48.00d

میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف معنی‌دار با آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد می‌باشند. Means in each column followed by similar letter (s) are not significantly different at 5% probability levels using Lsd test

( $F=$  داشت (جدول ۳)؛ به طوری که با افزایش فعالیت این دو آنزیم درصد جوانه‌زنی به طور معنی‌داری افزایش یافت. به نظر می‌رسد که استفاده از پیش تیمار بخصوص اسید جیبرلیک باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز شده که در اثر این افزایش فعالیت آنزیمی در بذرها، درصد و سرعت جوانه‌زنی بهبود یافت. احمدپور دهکردی و بلوچی (Ahmadpour Dehkordi and Balouchi, 2012) گزارش دادند پیش تیمار بذر سیاه‌دانه با سالیسیلیک اسید، نیترات پتاسیم و آب مقطر، فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز، درصد و سرعت جوانه‌زنی بالاتری در مقایسه با گیاهچه‌های تیمار نشده نشان دادند. در مطالعات فاتح و همکاران (Fateh *et al.*, 2011) بر بذر نخود نیز مشخص شد بذرهای پیش تیمار شده با کلسیم کلرید و پتاسیم کلرید دارای فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز بیشتر، وزن هزاردانه بیشتر، تعداد دانه در بوته بیشتر و شاخص برداشت بیشتری نسبت به بذرهای پیش تیمار نشده داشتند.

به طور کلی، مطالعه روابط همبستگی (جدول ۳) بین صفات نشان داد که بین کلیه صفات مورد مطالعه به جز متوسط مدت جوانه‌زنی، اثر مثبت و معنی‌داری وجود دارد که این امر بیانگر این موضوع است که بهبود در فعالیت آنزیم‌ها باعث بهبود در درصد و سرعت جوانه‌زنی، متوسط مدت جوانه‌زنی شده که این امر در نهایت باعث بهبود قدرت جوانه‌زنی و کاهش مدت زمان جوانه‌زنی می‌شود.

همچنین عموقایی (Amoaghaee., 2006) در مطالعات خود روی بذر گیاه کما<sup>۴</sup> بیان کرد که افزودن اسید جیبرلیک، درصد جوانه‌زنی را تا ۳۵ درصد افزایش داد. طویلی و همکاران (Tavili *et al.*, 2008) نیز گزارش دادند پیش تیمار بذرهای علف‌شور<sup>۵</sup> با اسید جیبرلیک و نیترات پتاسیم باعث افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی شد. آنها بیان داشتند پیش تیمار با اسید جیبرلیک سبب تسریع فرایندهای بیوشیمیایی و هیدرولیز قندها، فعال نمودن ژن‌های کد کننده آنزیم‌های دخیل در جوانه‌زنی بذر به ویژه آلفا آمیلاز می‌شود و بذر را برای جوانه‌زنی آماده‌تر می‌کند. همچنین گزارش شده است پیش تیمار با نیترات پتاسیم باعث توزیع مواد فتوسنتزی بیشتر به اندام‌های هوایی و افزایش فعالیت ساکارز سنتتاز و گلوتامین سنتتاز می‌شود که در نتیجه باعث افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی و ظهور سریع‌تر گیاهچه می‌شود (Omidi *et al.*, 2005).

سرعت جوانه‌زنی همبستگی مثبت و معنی‌داری با فعالیت آنزیم کاتالاز ( $F=75^{**}$ ) و پراکسیداز ( $F=73^{**}$ ) داشت (جدول ۳)؛ به طوری که با افزایش فعالیت این دو آنزیم سرعت جوانه‌زنی به طور معنی‌داری افزایش یافت. درصد جوانه‌زنی نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری با فعالیت آنزیم کاتالاز ( $r=0.76^{**}$ ) و پراکسیداز ( $r=0.71^{**}$ )

<sup>4</sup> *Ferula ovina*<sup>5</sup> *Salsola rigida*

جدول ۳- ضرایب همبستگی ساده بین صفات مورد بررسی در سرخارگل

Table 3. The simple correlation coefficient between studied traits in *Echinacea purpurea* seed

	1	2	3	4	5
	فعالیت آنزیم کاتالاز Catalase activity enzyme	فعالیت آنزیم پراکسیداز Peroxidase activity enzyme	متوسط مدت جوانه زنی Means of germination time	سرعت جوانه زنی Germination rate	درصد جوانه زنی Germination percentage
1	1				
2	0.45 <sup>ns</sup>	1			
3	-0.63 <sup>**</sup>	-0.60 <sup>*</sup>	1		
4	0.75 <sup>**</sup>	0.73 <sup>**</sup>	-0.47 <sup>*</sup>	1	
5	0.76 <sup>**</sup>	0.71 <sup>**</sup>	-0.61 <sup>*</sup>	0.81 <sup>**</sup>	1

ns, \* و \*\* به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵ و یک درصد

ns, \* and \*\* are non significant, signification at 5 and 1 % in probability levels respectively

## نتیجه گیری کلی

حاضر نشان داد پیش تیمار بذر با اسید جیبرلیک ۵۰۰ قسمت در میلیون در مدت زمان ۱۲ ساعت نسبت به سایر تیمارها، بهترین تیمار برای بهبود جوانه زنی و فعالیت آنزیمی بذر سرخارگل بود.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که بذرهای پیش تیمار شده دارای مؤلفه های جوانه زنی و فعالیت آنزیمی بهتری بوده و پیش تیمار بذر در مجموع باعث بهبود ویژگی های جوانه زنی گیاهچه شد. پیش تیمار اسید جیبرلیک و آب مقطر در اکثر صفات مورد بررسی نسبت به سایر تیمارها مؤثرتر بودند. به طور کلی نتایج پژوهش

## منابع

- Aebi, H.E. 1984. Catalase in vitro. *Methods Enzymology*, 105: 121-126. **(Journal)**
- Ahmadpour Dehkordi, S. and Balouchi H.R. 2012. Effect of seed priming on antioxidant enzymes and lipids peroxidation of cell membrane in Black cumin (*Nigella sativa*) seedling under salinity and drought stress. *Electronic Journal of Crop Production*, 5(4): 63-85. (In Persian)**(Journal)**
- Amoaghaee, R. 2006. Effect of gibberellic acid and chilling on dormancy breaking seed *Ferrula ovina* Boiss. *Journal of Sciences and Technology of Agricultural and Natural Researches*, 11 (40): 471-481. (In Persian)**(Journal)**
- Ansari, O. and Sharifzadeh, F. 2012. Osmo and hydropriming mediated germination improvement under cold stress conditions in mountain rye (*Secale montanum*). *Cercetari Agronomice in Moldova*, 3: 53-62. (In Persian)**(Journal)**
- Arin, L.E. and Kiyak, D.Y. 2003. The effect of pre sowing treatments on emergence and seedling growth of tomato seed (*Lycopersicon esculentum* Mill.) under several stress conditions. *Pakistan Journal of Biological Science*, 6(11): 990-994. **(Journal)**
- Badek, B., Duijn, B.V. and Grzesik, M. 2006. Effect of water supply methods and seed moisture content on germination of China aster and tomato seeds. *Journal of Agronomy*, 24: 45-51. **(Journal)**
- Bayat, M., Rahmani, A., Amirnia, R. and Alavi Siney, M. 2014. Determine the best method and time of priming of *Echinacea purpurea* seed in vitro and pot conditions. *Iranian Journal of Seed Science and Research*, 1(1): 1-15. (In Persian)**(Journal)**
- Bhatt, A., Rawal, R.S. and Dhar, U. 2005. Germination improvement in *Swertia angustifolia*: a high value medicinal plant of Himalaya. *Current Science*, 89(6): 1008-1012. **(Journal)**
- Bishnoi, U.R., Willis, J.E. and Rao Mentreddy, S. 2010. Methods to improve seed germination of purple coneflower (*Echinacea purpurea* L. Moench). *Agriculture and Biology Journal of North America*, 6(4): 624-622. **(Journal)**
- Bray, C.M., Davison, P.A., Ashraf, M. and Taylor, R.M. 1989. Biochemical changes during osmopriming of leek seed. *Annals of Botany*, 63: 185-193. **(Journal)**

- Chojnowski, F.C. and Come, D. 1997. Physiological and biochemical changes induced in sunflower seeds by osmopriming and subsent drying, storage and aging. *Seed Science Research*, 7: 323-331. **(Journal)**
- Davison, P.A., Taylor, R.M. and Bray, C.M. 1991. Changes in ribosomal RNA integrity in leek (*Alliamporrum* L.) seeds during osmopriming and drying osmopriming and drying-bak treatments. *Seed Science Research*, 1: 37-44. **(Journal)**
- Demir Kaya, M., Games, O., Atak, M., Cikili, Y. and Kolsarici, O. 2006. Seed treatment to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *European Journal of Agronomy*, 24: 291-295. **(Journal)**
- Ellis, R.A. and Roberts, E.H. 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. *Seed Science and Technology*, 9: 373-409. **(Journal)**
- Farhoudi, R., Saedipour, 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. **(Journal)**
- Fathiamirkhez, K., Omid, H., Heshmati, S. and Jafarzadeh, L. Effects accelerates on seed vigour and germination Parameters (*Nigella sativa* L.). *Iranian Journal of Field Crops Research*, 10 (2): 299-310. (In Persian)**(Journal)**
- Fateh, H., Siosemardeh, A. and Karimpoor, M. 2011. Effects of seed priming and sowing date on antioxidant enzymes activity and yield of chickpea under dryland condition. *Technology of Plant Production*, 10 (2): 1-16. (In Persian)**(Journal)**
- Ghanati, F., Morita, A., and Yokota, H. 2002. Induction of suberin and increase of lignin content by excess boron in tobacco cell. *Soil Science and Plant Nutrition*, 48: 357-364. **(Journal)**
- Gladisheva, O.N. 1995. Experimental studies on production and processing technology and establishment of raw material uses and seed plantation of *E. purpurea* under samara region. *Russian Academy of Agricultural Science*, p: 214. **(Journal)**
- Gholami, S., Salehi, A and Moradi, A. 2015. Effects of maternal plant nutrition on the absorption of some nutritional elements and germination characteristics of Cumin (*Cuminum cyminum* L.). *Iranian Journal of Seed Science and Technology*, 4(1): 119-118. (In Persian)**(Journal)**
- Heydecker, W. and Coolbear, P. 1978. Seed treatment for improved performance: Survey and attempted prognosis. *Seed Science and Technology*, 4: 384-394. **(Journal)**
- Ikic, I., Maric evic, M., Tomasovic, S., Gunjaca, J., Atovic, Z.S. and Arcevic, H.S. 2012. The effect of germination temperature on seed dormancy in Croatian-grown winter wheats. *Euphytica*, 188: 25-34. **(Journal)**
- Jaap, G.V.P., Groot, S.P.C., Kraak, H.L., Bergervoet, J.H.U. and Bino, R.J. 1996. Effects of pre-storage hydration treatments on germination performance, moisture content, DNA synthesis and controlled deterioration tolerance of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds. *Seed Science Research*, 6: 57-63. **(Journal)**
- Jabbari, R., Amini Dehaghi, M., Ganji Arjenaki, F. and Agahi, K. 2011. How duration and methods of priming may affect the germination of cumin seeds (*Cuminum cyminum* L.). *Journal of Agronomy*, 4(4): 23-30. **(Journal)**
- Kaphi, M., Zand, E., Kamkar, B., Mahdavi damghani, A. and Abbasi, F. 2008. *Plant Physiology* (2), Publication of Jahad Daneshgahi Mashhad, pp.676. (In Persian)**(Book)**
- Kaur, S., Gupta A.K. and Kaur, N. 2006. Effect of hydro and osmo priming of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds on anzymes of sucrose and nitrogen metabolism in nodules. *Plant Growth Regulation*, 49: 177-182. **(Journal)**
- Koocheki, A., Tabrizi, L. and Ghorbani, R. 2008. Effect of biofertilizers on agronomic and quality criteria of Hyssop (*Hyssopus officinalis* L.). *Iranian Journal of Field Crops Research*, 6 (1): 127 – 37. (In Persian)**(Journal)**



- Koroch, A., Juliana, H.R., Kapetyn, J. and Simon, J.E. 2002. Invitro regeneration of *Echinacea purpurea* from leaf explant. *Plant Cell Tissue and Organic Cell Culture*, 69: 79-83. **(Journal)**
- Lee, J.H., Hong, S.B, Yuu, S.H. and Park, E.H. 1998. Priming effect of rice seed on seedling establishment under adverse soil condition. *Korean Journal of Crop Science*, 43(3): 194-198. **(Journal)**
- Malekzadeh, S. and Fallah, S. 2014. Effects of seed priming methods on germination parameters of Ajowan (*Carum copticum L.*) seed. *Iranian Journal of Seed Science and Research*, 1(2): 91-101. (In Persian)**(Journal)**
- 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 Environment*, 7: 353-358. (In Persian)**(Journal)**
- Nematollahi, E., Banayan, M., Souhani Darban, A. and Ghanbari, A. 2009. Hydropriming and osmopriming effects on cumin (*Cuminum cyminum L.*) seeds germination. *World Academy of Science Engineering and Technology*, 57: 526-529. **(Journal)**
- Omidi, H., Soroushzhadeh, A., Salehi, A. and Ghezeli, F. 2005. Evaluation of priming pretreatments on germination rapeseed. *Agricultural Science and Technology*, 19(2): 1-10. (In Persian)**(Journal)**
- Paraver, A., Omidi, H., Sadat Ehsannezhad, H. and Amirzadeh, M. 2015. Effect of hydropriming on coneflower (*Echinacea purpurea*) seed germination and seedling growth under salt stress. *Journal of Seed Ecophysiology*, 1(1): 57-69. (In Persian)**(Journal)**
- Penalosa, A.P.S. and Eira, M.T.S. 1993. Hydration dehydration treatments on tomato seeds (*Lycopersicon esculentum mill.*). *Seed Science and Technology*, 86: 461-469. **(Journal)**
- Siadat, S.A., Moosavi, A., Sharafi-Zadeh, M. 2012. Effects of seed priming on antioxidant activity and germination characteristics of maize seeds under different ageing treatment. *Research Journal of Seed Science*, 5: 51-62. **(Journal)**
- Tavili, A., Safari, B. and Saberi, M. 2008. Comparing the impact of the application of gibberellic acid and potassium nitrate on improving germination characteristics of *Salsols rigida*. *Grassland*, 3(2): 272-280. (In Persian)**(Journal)**
- Verma, S.K., Bjpai, G.C., Tewari, S.K. and Singh, J. 2005. Seedling index and yield as influenced by seed size in pigeon pea. *Legume Research*, 28(2): 143-145. **(Journal)**
- Yonesi, A., Bahadori, A., Azadi, M. and Ansari, O. 2013. The effect hydropriming and accelarated ageing on germination parameters and catalase enzyme in *Panucum miliaceum* (*Pennisitum americanum L.*). *Journal of Seed Researches*, 3(4): 61-70. (In Persian)**(Journal)**

## Effect of different seed priming on germination characteristics and some antioxidant enzymes activity of *Echinacea purpurea*

Khatoon Ansari<sup>1</sup>, Amin Salehi<sup>2</sup>, Mohsen Movahedi Dehnavi<sup>3</sup>, Sanaz Heydari<sup>4</sup>

Received: December 16, 2015

Accepted: March 15, 2016

### Abstract

To find out the effect of different priming on germination characteristics and some antioxidant enzyme activity of *Echinacea purpurea*, an experiment was conducted in a completely randomized design with four replications in 2015 at the Faculty of Agriculture, University of Yasouj. The experimental treatments consisted of four levels of priming including gibberellic acid 500 mg/L (12 and 24 h), potassium nitrate 29.7 mM (12 and 24 h), seeds priming with distilled water (12 and 24 h), salicylic acid 200 mM (12 and 24 h) and control. In this study, means of germination time, germination rate, germination percent, Catalase and Peroxidase activity enzyme were measured and evaluated. The results showed that priming treatments had a significant effect on means of germination time, germination rate, germination percent, Catalase and Peroxidase activity enzyme. Priming with gibberellic acid 500 mg/L in 12 hours was more effective to achieve the highest germination characteristics and catalase activity. The highest peroxidase activity was achieved from priming with distilled water for 12 hours. Also, the results showed that an increase in priming time had a negative effect on most of the measured characteristics. Overall, priming with gibberellic acid 500 mg/L for 12 hours is recommended to improve germination and vigorous seedling production.

**Key words:** Antioxidant enzymes; *Echinacea purpurea*; Germination; Priming

1 and 4- MSc student of Agronomy, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Yasouj, Yasouj, Iran

2- Assistant professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Yasouj, Yasouj, Iran

3- Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Yasouj, Yasouj, Iran

\*Corresponding Author. E mail: aminsalehi@yu.ac.ir