Archive of SID

مجلهٔ علوم کشاورزی ایران
دوره ۱-۳۸، شماره ۲، ۱۳۸۶ (۳۴۶-۳۳۷)

تاثیر پیری بذر بر صفات جوانه زنی و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت کاتالاز و پراکسیداز در ژنوتیپ های جو (*Hordeum vulgare*)

رضا توکل افشاری[1*]، فیروزه قاسم[2]، ناصر مجنون حسینی[3]، هوشنگ علیزاده[4]، محمدرضا بی همتا[5]
۱، ۲، ۳، ۴، ۵، دانشیار، دانشجوی دوره دکتری، استادیار، دانشیار واستاد پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
(تاریخ دریافت:۸۴/۱۰/۲۴ - تاریخ تصویب: ۸۵/۹/۱۵)

چکیده

به منظور مطالعه پیری بذر جو و اثر آن بر صفات جوانه زنی و فعالیت آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز، آزمایشی در آزمایشگاه بذر دانشکده علوم زراعی و دامی دانشگاه تهران در سال ۱۳۸۲ اجرا شد. تعداد ۲۰ ژنوتیپ دریافتی از مرکز ژرم پلاسم دانشگاه واگنینگن هلند به همراه دو رقم شاهد محلی به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار و تحت دو تیمار پیری زودرس و بدون پیری مورد بررسی قرار گرفتند. صفات درصد، سرعت و شاخص جوانه‌زنی اندازه‌گیری شدند. سپس اثر پیری بر فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانت کاتالاز و پراکسیداز در جنین بذر دو ژنوتیپ جو که حداکثر و حداقل صفات جوانه زنی را نشان داده بودند در مراحل اولیه جوانه زنی مورد بررسی قرار گرفت. پیری زودرس سبب کاهش درصد، سرعت و شاخص جوانه زنی گردید. بررسی فعالیت آنزیمهای آنتی‌اکسیدانت پراکسیداز و کاتالاز تحت تیمارهای مختلف آبگیری نشان داد که فعالیت این آنزیم با پیشرفت مراحل جوانه زنی افزایش می یابد. در حقیقت پیری زودرس سبب توقف فعالیت آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز نمی شود بلکه سبب کاهش فعالیت این آنزیمها می شود. فعالیت این آنزیمها در ژنوتیپ با بنیه ضعیف کمتر از ژنوتیپ با بنیه قوی بود. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که فعالیت آنزیم کاتالاز بیشتر تحت تاثیر پیری زودرس قرار گرفت و این آنزیم نقش کلیدی تری در جوانه زنی نسبت به آنزیم پراکسیداز دارد.

واژه های کلیدی: پیری بذر، پراکسیداز، جوانه زنی، کاتالاز، ، جو

مقدمه

فرسودگی یا پیری بذر به فرآیند از دست رفتن کیفیت بذر با گذشت زمان اطلاق می‌شود و توانایی بذر برای زنده ماندن را کاهش می‌دهد. پیری بذر یک خصوصیت ناخواسته در کشاورزی است و سبب کاهش محصول دانه و ضرر اقتصادی می‌شود. تاکنون پدیده‌های زیادی شناخته شده که در خلال پیری بذر رخ می‌دهند. اما هنوز مطالب بسیاری برای تحقیق باقی مانده است و اطلاعات کاملی در زمینه اهمیت نسبی هر یک از این پدیده‌ها در فرآیند پیری بذر، چگونگی اثر متقابل پدیده‌ها بر هم و تأثیر شرایط پیش از نگهداری بدست نیامده است (۲).

در مورد فرآیند پیری باید دو مطلب مهم را در نظر گرفت. یکی وجود سیستمهای درون ساخت بذر است که می‌تواند با تاثیر رویدادهای زوالگر مقابله کند. در صورت وجود زمان و شرایط مناسب برای مکانیسم‌های ترمیمی، یک بذر پیر شده ممکن است توانایی ایجاد یک گیاه طبیعی و سالم را پیدا کند. در مورد این مفهوم باید توجه کرد که فرآیند پیری یک توالی خطی از رویدادها نیست بلکه

* نویسنده مسئول: رضا توکل افشاری تلفن:۰۲۶۱-۲۲۴۶۰۷۴ Email:tavakkol@ut.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

رویدادهای زوالگر در کنار هم یک شبکه از رویدادها را تشکیل می‌دهند (۱۷).

مکانیزم های مختلفی در فرآیند پیری شرکت دارند که سبب کاهش بنیه و کیفیت بذر می‌شوند. عدم توانایی بذر در تولید آنزیم های ضروری جهت سم زدایی و ترمیم یکی از پیامدهای آنزیم‌سازی ناقص و ناکارا در بذور پیر شده است. دو تا از آنزیمهای آنتی اکسیدانت مهم پراکسیداز و کاتالاز می باشند که از بین برنده رادیکال های آزاد هستند. کاتالاز یکی از آنزیمهایی است که در تمام سلولهای زنده وجود دارد و هیدروژن پراکسید (H_2O_2) را سریع به آب و گاز اکسیژن می‌شکند. در واقع کاتالاز از H_2O_2 به عنوان سوبسترا استفاده می‌کند. پراکسیداز نیز از آنتی اکسیدانتهای مهم است که از هیدروژن پراکسید به عنوان پذیرنده الکترون برای کاتالیز تعدادی از واکنشهای اکسیداتیو استفاده می‌کند. واکنش گونه‌های اکسیژنCO_2 و هیدروژن پراکسید نقش مهمی در فرسودگی بذر در طول پیری بذر ایفا می‌کنند (۲۱ و ۲۴). هیدروژن پراکسید در بسیاری از واکنشهای متابولیکی تولید می‌شوند و بسیار سمی است. در مطالعه‌ای که توسط گوال و همکاران (۱۳) بر روی بذر پنبه تحت شرایط پیری زودرس انجام شد مشخص شد که توانایی جوانه‌زنی کاهش یافت. همچنین فرسودگی غشاء بوسیله هدایت الکتریکی بررسی شد و مواد نشتی از بذر افزایش معنی‌داری را نشان داد. کاهش در توانایی جوانه‌زنی همبستگی معنی داری با افزایش تجمع پراکسید و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز داشت. نتایج نشان داد که بذور فرسوده شده در طول پیری زودرس به طور نزدیک مرتبط با کاهش فعالیت آنزیمهای از بین برنده پراکسیداز بودند. رادیکالهای اکسیژن از متابولیسم اکسیداسیونی میتوکندری در طول جوانه‌زنی بذر مشتق شده‌اند (۲۲). در بذرهای پیر نشده این متابولیتها در سطوح با وضعیت ثابت به علت عمل سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز که از این دهندگان الکترون استفاده می‌کنند قرار دارند و فعالیت این آنزیمها در طول جوانه‌زنی افزایش می‌یابد (۲۲، ۸ و ۱۲). بنابراین فرسودگی بذر در طول پیری ممکن است وابسته به کارایی بذر در نگهداری سطح کافی از سیستمهای آنزیمی برای حفاظت در مقابل تنش اکسیداتیو باشد.

پونتاروال و همکاران (۲۲) و کک مک و همکاران (۸) نشان دادند که فعالیت کاتالاز قبل از شروع جوانه‌زنی تغییر نکرد و در ذرت، گندم و سویا فعالیت پراکسیداز بالاتر از کاتالاز بود. در مطالعه‌ای که توسط برنال و همکاران (۷) بر روی ذرت انجام گرفت مشخص شد که فعالیت پراکسیداز و کاتالاز در محورهای جنینی بذرهای پیر شده پایین بود. این کاهش ممکن است منجر به تجمع H_2O_2 شود که احتمالاً جوانه‌زنی را بطور مستقیم یا از طریق تشکیل رادیکالهای هیدروکسیل صدمه می رسانند. تجمع H_2O_2 برای رشد ریشه‌چه مضر است. نتایج نشان داد که فرسودگی بذر سبب کاهش فعالیت آنزیم های از بین برنده پراکسیداسیون چربی می گردد (۱۳). سانگ و چیو (۲۶) در بررسی خود بر روی بذور سویا بیان کردند که پیری سبب بازداری فعالیت پراکسیداز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز می‌شود. در تحقیق ورما و همکاران (۲۷) بر روی بذور براسیکا مشخص شد که پیری سبب کاهش در فعالیت آنزیمها پراکسیداز می‌شود که همراه با کاهش قابلیت حیات است. لذا بطور آشکار پیری به القاء سیستمهای آنزیمی دفاعی (آنتی اکسیدانت ها) که برای حفاظت جنین جوانه زده از صدمه تنش اکسیداتیو ضروری است صدمه می‌زند.

هدف از انجام این تحقیق بررسی صفات جوانه زنی و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت کاتالاز و پراکسیداز در بذور جو با بنیه های متفاوت از طریق آزمون پیری زودرس و مطالعه نقش صفات فوق در حفظ و تداوم بنیه بذر می باشد.

مواد و روش ها

مواد گیاهی:

ژنوتیپ های جو (تیپ پائیزه- بهاره) دریافتی از مرکز بین‌المللی ژرم پلاسم گیاهی دانشگاه واگنینگن هلند همراه دو شاهد به نام والفجر (بهاره-پاییزه) و گرگان (بهاره) به منظور تکثیر در اواخر آذرماه ۱۳۸۲ در مزرعه آموزشی و پژوهشی دانشکده علوم زراعی و دامی دانشگاه تهران واقع

www.SID.ir

Archive of SID

در شهر کرج کشت گردیدند. محل اجرای طرح در عرض جغرافیایی ′۵۶ °۳۵ شمالی و طول جغرافیایی ′۵۸ °۵۰ و ارتفاع ۱۳۱۲ متری از سطح دریا قرار دارد و دارای آب و هوای نیمه‌خشک با متوسط بارندگی سالیانه ۲۴۱ میلی‌متر می‌باشد. نوع خاک محل اجرای آزمایش از نوع لومی‌رسی بود.

ژنوتیپ ها بر روی یک ردیف، هر ژنوتیپ در دو خط یک متری کاشته شدند و بعد از هرپنج ژنوتیپ و در ابتدا و انتهای بلوک دو شاهد والفجر و گرگان کاشته شد. فاصله بین ردیفها ۲۵ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. فاصله بین بوته‌ها بر روی هر خط پنج سانتی‌متر و مجموعاً ۴۰ عدد بذر برای هر ژنوتیپ در ارقام شاهد در دو خط کشت گردید. هیچ نوع کودی مصرف نشد. در طول فصل رشد پنج مرتبه آبیاری انجام شد. برای کنترل علفهای هرز یکبار از علف کش 2,4-D استفاده شد و یک مرتبه هم بصورت دستی وجین صورت گرفت.

مطالعات آزمایشگاهی

ارزیابی توان رشد گیاهچه در ژنوتیپ های جو

پس از برداشت ژنوتیپ های جو در مرحله رشدی زادکس ۹۲ (۲۹)، تعداد ۲۰ ژنوتیپ همراه با دو رقم شاهد تحت دو تیمار بدون پیری و پیری قرار گرفتند. این آزمون بصورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ۳ تکرارشامل فاکتور اول ژنوتیپ با ۲۲ سطح و فاکتور دوم بنیه با دو سطح بنیه قوی و بنیه ضعیف بود. در این بررسی به منظور ایجاد بنیه ضعیف آزمون پیری زودرس با استانداردهای انجمن بین‌المللی تست بذر (۲۵) انجام شد. به منظور ایجاد پیری، بذرها در داخل ژرمیناتور (مدل ساخت شرکت گروک ایران) در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۹۰ درصد بمدت ۳ روز قرار داده شدند. بعد از سه روز بذرها از ژرمیناتور خارج شدند و آزمون جوانه‌زنی استاندارد بر روی آنها انجام شد.

درصد، سرعت و شاخص جوانه زنی

به منظور انجام آزمون جوانه‌زنی استاندارد تعداد ۲۵ عدد بذر از هر تیمار در داخل یک پتریدیش و برروی کاغذ صافی قرار داده شدند. پنج میلی لیتر آب مقطر استریل به پتریدیش‌ها اضافه شد و سپس پتریدیش‌ها در داخل رژمیناتور در شرایط تاریکی و ۱۸ درجه سانتیگراد برای هفت روز قرار داده شدند و تعداد بذر جوانه زده در هر روز به مدت هفت روز شمارش شد. سرعت جوانه‌زنی از رابطه ارائه شده بوسیله بیلچر و میلر (۱۹۷۴) محاسبه شد (۵).

$$R_S = \sum_{i=1}^{n} \frac{S_i}{D_i}$$

R_S سرعت جوانه‌زنی، S_i تعداد بذرهای جوانه زده در هر شمارش، D_i تعداد روز تا شمارش mام، n دفعات شمارش می‌باشد. همچنین برای بدست آوردن شاخص جوانه زنی از فرمول ارائه شده توسط واکرسیمونز و سسینگ (۱۹۹۰) استفاده گردید (۲۸).

$$GI = \frac{۷n_۱ + ۶n_۲ + ۵n_۳ + ۴n_۴ + ۳n_۵ + ۲n_۶ + ۱n_۷}{۷ \times N}$$

که در آن GI شاخص جوانه‌زنی، n_1 تعداد بذر جوانه زده در روز اول، n_2 تعداد بذر جوانه زده در روز دوم و ... n_7 تعداد بذر جوانه زده در روز هفتم و N تعداد کل بذر در هر پتری است.

اثر پیری بذر بر فعالیت آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز در مراحل اولیه جوانه زنی

با توجه به نتایج آزمایش مرحله قبل یک ژنوتیپ با بنیه بالا و یک ژنوتیپ با بنیه پایین انتخاب شدند. این آزمون بصورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول ژنوتیپ با دو سطح و فاکتور دوم بنیه با دو سطح قوی و ضعیف و فاکتور سوم آبگیری بذر در سه سطح ۶، ۱۲ ، ۱۸ ساعت بود.

تعداد ۴۰ عدد بذر از دو تیمار بنیه قوی و بنیه ضعیف برای هر ژنوتیپ بر روی کاغذ صافی استریل در درون پتریدیش قرار داده شد. برای ایجاد تیمار بنیه ضعیف در هر ژنوتیپ ابتدا بذور مطابق آزمون ذکر شده در بخش قبل تحت شرایط پیری زودرس قرار گرفتند. سپس به هر پتری دیش پنج میلی‌لیتر از محلول ساکارز دو درصد اضافه شد (۷) و پتری دیش ها در ۱۸ درجه سانتیگراد و شرایط تاریکی قرارگرفتند. در پایان مدت هر تیمار آبگیری، جنین

www.SID.ir

Archive of SID

ها از بذور جدا شده، در نیتروژن مایع منجمد شدند و در فریزر ۷۰- درجه سانتیگراد تا زمان استخراج آنزیم نگهداری شدند. برای تهیه محلول بافر استخراج، استخراج پروتئین جنین بذر، و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز از روش تغییر یافته برنال و همکاران (۲۰۰۰) استفاده شد (۷).

محاسبات آماری:

داده‌های بدست آمده از لحاظ توزیع و یکنواختی واریانس مورد بررسی قرار گرفته و سپس به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی و طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش حداقل تفاوت معنی دار (LSD) در سطح احتمال ۵٪ انجام گرفت. برای تجزیه های آماری از نرم‌افزارهای SAS وMSTAT -C و Excel 2000 استفاده شد.

نتایج و بحث

اثر پیری بذر بر درصد، شاخص و سرعت جوانه زنی :

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که ژنوتیپ ها و سطوح بنیه تفاوت معنی داری در درصد جوانه زنی در سطح احتمال ۰/۰۱ دارند (جدول ۱). ضریب تغییرات یا پراکندگی حدود ۴/۷۴ درصد و اثر متقابل بین ژنوتیپ و تیمار در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی‌دار بود. ژنوتیپ های با میانگین ۱۰۰ درصد جوانه زنی دارای بیشترین درصد جوانه‌زنی در تیمار بدون پیری بودند که می توان به تعدادی از آن ها مانند ژنوتیپ های شماره ۱۵، ۵ و۳ اشاره کرد ولی دارای تفاوت معنی دار با شاهد والفجر و گرگان نمی باشند (جدول ۲). ژنوتیپ های شماره۷، ۲۲، ۲۵ و ۲۹ با درصد جوانه‌زنی کمتری نسبت به سایر ژنوتیپ ها و شاهد در تیمار بدون پیری و پیری زودرس بودند و تفاوت معنی داری با شاهد والفجر و گرگان داشتند. کمترین درصد افت متعلق به ژنوتیپ شماره ۳ و ۱۵ و بیشترین درصد افت متعلق به ژنوتیپ های شماره ۷ و ۲۵ بود (جدول ۲).

نتایج تجزیه واریانس برای شاخص جوانه‌زنی نشان داد که تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۱ بین ژنوتیپ ها و سطوح بنیه وجود دارد (جدول ۱). ضریب تغییرات یا پراکندگی حدود ۴/۸۴ درصد است و اثر متقابل بین ژنوتیپ و تیمار در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین شاخص جوانه‌زنی(جدول ۳) نشان داد که ژنوتیپ های شماره ۱۳ و ۱۵ دارای شاخص جوانه-زنی بالاتری نسبت به سایر ژنوتیپ ها در تیمار بدون پیری و دارای تفاوت معنی دار با شاهد والفجر و گرگان بودند. ژنوتیپ های شماره ۳ و ۱۵ با شاخص جوانه‌زنی بالاتر نسبت به سایر ژنوتیپ ها در تیمار پیری زودرس ظاهر شدند و دارای تفاوت معنی دار با شاهد والفجر و گرگان می‌باشند. ژنوتیپهای شماره ۲۵ و ۴۰ دارای شاخص جوانه-زنی کمتری نسبت به سایر ژنوتیپ ها در تیمار بدون پیری و دارای تفاوت معنی دار با شاهد والفجر و گرگان می‌باشند. ژنوتیپ های شماره ۲۲، ۲۵ و ۴۳ دارای شاخص جوانه‌زنی کمتری نسبت به سایر ژنوتیپ ها در تیمار پیری زودرس و دارای تفاوت معنی دار با شاهد والفجر و گرگان می‌باشند. بیشترین درصد افت متعلق به ژنوتیپ شماره ۲۵ و کمترین درصد افت متعلق به ژنوتیپ‌های شماره ۱۵ و ۳ بود (جدول ۳).

نتایج تجزیه واریانس سرعت جوانه‌زنی تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال ۰/۰۱ بین ژنوتیپ‌های جو نشان داد (جدول ۱). ضریب تغییرات یا پراکندگی حدود ۸/۳۳ درصد و اثر متقابل بین ژنوتیپ و تیمار در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی‌دار بود (جدول ۱).

نتایج مقایسه میانگین سرعت جوانه‌زنی در جدول ۴ نشان داده شده است. همان طور که ملاحظه می‌شود ژنوتیپ های شماره ۱۳ و ۱۵ دارای سرعت جوانه‌زنی بالا در تیمار بدون پیری و دارای تفاوت معنی دار با شاهد والفجر و گرگان می باشند. همچنین ژنوتیپ های شماره ۳ و۱۵ دارای سرعت جوانه‌زنی بالا در تیمار پیری زودرس می باشند. ژنوتیپ شماره ۱۵ دارای تفاوت معنی دار با شاهد والفجر و گرگان می باشد و ژنوتیپ شماره ۳ دارای تفاوت معنی دار با شاهد والفجر می باشد.

ژنوتیپ های شماره ۲۵ و ۴۰ دارای کمترین سرعت جوانه‌زنی در تیمار بدون پیری هستند و تفاوت معنی داری با شاهد والفجر نشان دادند. ژنوتیپ های شماره ۲۲ و ۲۹ دارای کمترین سرعت جوانه‌زنی در تیمار پیری هستند و دارای تفاوت معنی دار با شاهد والفجر و گرگان می باشند. بیشترین درصد افت متعلق به ژنوتیپ‌های شماره ۲۲، ۲۵ و

www.SID.ir

Archive of SID

۲۹ و کمترین درصد افت متعلق به ژنوتیپ های شماره ۳ و ۱۵ می‌باشد.

نتایج نشان داد که روند و پاسخ ژنوتیپ ها به تیمار پیری زودرس یکسان نبوده و پیری زودرس سبب کاهش سرعت، درصد و شاخص جوانه‌زنی شده است. در تحقیقی که توسط جاتوی و همکاران(۱۵) بر روی نخود تحت دو تیمار بدون پیری و پیری زودرس انجام شد مشخص گردید که پیری زودرس سبب کاهش سرعت و درصد و شاخص جوانه‌زنی می‌شود. آنها علت این امر را کاهش قابلیت حیات بذر بیان کردند. مدرسی و همکاران (۱۹) بیان کردند که پیری زودرس سبب کاهش سرعت و درصد جوانه‌زنی گندم می‌شود. این نتایج مشابه نتایجی است که پدرسن و همکاران (۲۰)، هامپتون و همکاران (۱۴)، سیمیک و همکاران (۲۳)، باسو و همکاران (۴) بر روی گندم، جو، نخود، ذرت گزارش نمودند.

اثر پیری بذر بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت کاتالاز و پراکسیداز در مراحل اولیه جوانه زنی:

نتایج آزمون رشد گیاهچه نشان داد که پیری زودرس سبب کاهش بنیه بذر می شود و ژنوتیپ ها با بنیه بالا دارای صفات جوانه زنی بالاتری نسبت به سایر ژنوتیپ ها بودند. بدین منظور دو ژنوتیپ یکی با بنیه بالا (CGN00027) و دیگری با بنیه پایین (CGN00038) انتخاب شدند تا فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت پراکسیداز و کاتالاز در مراحل اولیه جوانه زنی در این دو ژنوتیپ تحت دو تیمار پیری زودرس و بدون پیری بررسی شود.

بررسی فعالیت آنزیم کاتالاز

نتایج تجزیه واریانس آنزیم کاتالاز نشان داد که اثر متقابل ساعات مختلف آبگیری و ژنوتیپ در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی دار است (جدول ۵). در این بررسی با افزایش ساعت آبگیری از ۶ساعت به ۱۸ساعت فعالیت آنزیم کاتالاز در هردو ژنوتیپ افزایش یافت ومیزان فعالیت آنزیم در ژنوتیپ با بنیه بالا بیشتر از ژنوتیپ با بنیه پایین بود. همچنین روند افزایش فعالیت آنزیم باافزایش ساعت آبگیری در ژنوتیپ با بنیه بالا بیشتر از ژنوتیپ با بنیه پایین بود (نمودار ۱).

جدول۱- میانگین مربعات صفات بررسی شده در ۲۲ ژنوتیپ جو در آزمون رشد گیاهچه

منابع تغییرات	درجه آزادی	سرعت جوانه زنی	شاخص جوانه زنی	درصد جوانه زنی
بلوک	۲	۱/۶۲ ns	۰/۰۰۵۸**	۲۷/۲۸ns
ژنوتیپ	۲۱	۱۸/۲۸**	۰/۰۶۴**	۸۹۰/۲۳**
بنیه	۱	۱۷۶۵/۳۶**	۶/۴۴**	۵۴۵۳۴/۰۱**
بنیه × ژنوتیپ	۲۱	۵/۰۵**	۰/۰۳۴**	۵۷۴/۷۷**
خطا	۸۶	۰/۵۳	۰/۰۰۱	۱۳/۶۱
ضریب تغییرات		۸/۳۳	۴/۸۴	۴/۷۴

ns ، * و** به ترتیب به معنی غیر معنی دار بودن، معنی دار در سطح ۵ و ۱ درصد .

جدول ۲- اثر پیری بذر بر درصد جوانه‌زنی ۲۰ژنیپ جو و دو رقم شاهد

شماره	ژنوتیپ	درصدجوانه‌زنی (تیمار شاهد)	درصدجوانه‌زنی (تیمار پیری)	درصد افت
۱	CGN00001	۹۷/۳۳	۴۲/۶۷	۵۶/۱۶
۳	CGN00007	۱۰۰	۸۲/۶۷	۱۷/۳۳
۴	CGN00008	۹۶	۳۴/۶۷	۶۳/۸۸
۵	CGN00009	۱۰۰	۸۱/۳۳	۱۸/۶۷
۷	CGN00012	۹۶	۳۱	۶۷/۷۱
۱۳	CGN00025	۱۰۰	۷۷/۳۳	۲۲/۶۷
۱۵	CGN00027	۱۰۰	۸۴	۱۶
۱۷	CGN00029	۱۰۰	۷۸/۶۷	۲۱/۳۳
۱۸	CGN00030	۱۰۰	۷۳/۳۳	۲۶/۶۷
۲۱	CGN00034	۱۰۰	۶۶/۶۷	۳۳/۳۳
۲۲	CGN00035	۹۶	۳۲	۶۶/۶۷
۲۵	CGN00038	۸۸	۲۲/۶	۷۲/۳۲
۲۹	CGN00043	۹۳/۳۳	۳۲	۶۵/۷۱
۳۱	CGN00046	۱۰۰	۶۹/۳۳	۳۰/۶۷
۳۲	CGN00048	۱۰۰	۷۲	۲۸
۳۸	CGN00054	۹۷/۳۳	۴۲/۶۷	۵۶/۱۶
۴۰	CGN00057	۹۷/۳۳	۳۷/۳۳	۶۱/۶۵
۴۲	CGN00060	۱۰۰	۶۹/۳۳	۳۰/۶۷
۴۳	CGN00062	۹۷/۳۳	۳۳/۳۳	۶۵/۷۶
۴۵	CGN00064	۱۰۰	۴۰	۶۰
۴۶	والفجر	۱۰۰	۸۲/۶۷	۱۷/۳۳
۴۷	گرگان	۱۰۰	۷۷/۳۳	۲۲/۶۷
	LSD	۳/۴۸	۷/۶۰۳	

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- اثر پیری بذر بر شاخص جوانه‌زنی ۲۰ ژنوتیپ جو و دو رقم شاهد

شماره	ژنوتیپ	شاخص‌جوانه‌زنی (تیمار شاهد)	شاخص‌جوانه‌زنی (تیمار پیری)	درصد افت
۱	CGN00001	۰/۷۹۳	۰/۲۵	۶۸/۴۷
۳	CGN00007	۰/۸۳	۰/۶۱۷	۲۵/۶۶
۴	CGN00008	۰/۸۰۷	۰/۲۰	۷۵/۲۲
۵	CGN00009	۰/۸۴۳	۰/۵۸	۳۱/۱۹
۷	CGN00012	۰/۸۱۳	۰/۱۹۳	۷۶/۲۶
۱۳	CGN00025	۰/۸۷۷	۰/۵۲	۴۰/۷۱
۱۵	CGN00027	۰/۸۹۰	۰/۶۶۳	۲۵/۵۱
۱۷	CGN00029	۰/۸۴۷	۰/۵۶	۳۳/۸۸
۱۸	CGN00030	۰/۸۶	۰/۵۰	۴۱/۸۶
۲۱	CGN00034	۰/۸۵۷	۰/۴۸۷	۴۳/۱۷
۲۲	CGN00035	۰/۸۱۳	۰/۱۶۳	۷۹/۹۵
۲۵	CGN00038	۰/۷۲۷	۰/۱۳	۸۲/۱۲
۲۹	CGN00043	۰/۷۹	۰/۱۹	۷۵/۹۵
۳۱	CGN00046	۰/۸۳۳	۰/۴۵۳	۴۵/۶۲
۳۲	CGN00048	۰/۸۵	۰/۴۹	۴۲/۳۵
۳۸	CGN00054	۰/۸۲۷	۰/۲۵۷	۶۸/۹۲
۴۰	CGN00057	۰/۷۸۳	۰/۲۳۳	۷۰/۲۴
۴۲	CGN00060	۰/۸۵	۰/۴۵	۴۷/۰۶
۴۳	CGN00062	۰/۷۹۳	۰/۱۶۷	۷۸/۹۴
۴۵	CGN00064	۰/۸۲۷	۰/۲۵۷	۶۸/۹۲
۴۶	والفجر	۰/۸۳	۰/۵۴۷	۳۴/۰۹
۴۷	گرگان	۰/۸۳۳	۰/۵۵	۳۳/۹۷
	LSD	۰/۰۴۳	۰/۰۵۱۵	

اثر متقابل بین ساعات آبگیری و بنیه برای فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی دار بود (جدول ۵). همچنین نتایج نشان داد که در هر دو تیمار پیری زودرس و بدون پیری با افزایش ساعت آبگیری از ۶ ساعت به ۱۸ ساعت میزان فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش یافت اما، میزان فعالیت آنزیم در تیمار پیری زودرس کمتر از تیمار بدون پیری بود.

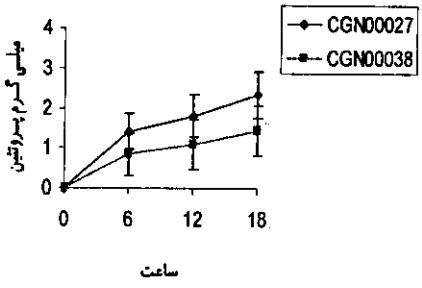
مقایسه میانگین ها در تیمار پیری زودرس و بدون پیری در ۶ ساعت آبگیری نشان داد که فعالیت آنزیم حدود ۵۸٪ کاهش یافت و این کاهش در ۱۲ ساعت آبگیری حدود ۵۴٪ و در ۱۸ ساعت آبگیری حدود ۴۸٪ بود. نتایج نشان داد که پیری زودرس سبب کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز می شود (نمودار ۲). همچنین اثر متقابل بین ژنوتیپ و بنیه در سطح احتمال۰/۰۱ معنی دار شد. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در هر دو ژنوتیپ در تیمار بدون پیری بیشتر از تیمار پیری زودرس بود و میزان فعالیت آنزیم در ژنوتیپ جو با بنیه بالا در هر دو تیمار بیشتر از ژنوتیپ جو با بنیه پایین بود. نتایج نشان داد که پیری زودرس سبب کاهش فعالیت آنزیم می شود. مقایسه درصد افت آنزیم در تیمار بدون پیری و پیری زودرس نشان داد که درصد افت فعالیت آنزیم در ژنوتیپ با بنیه بالا حدود۴۱٪ و در ژنوتیپ با بنیه پایین ۶۸٪ بوده و این نشان دهنده درصد افت بیشتر ژنوتیپ با بنیه پایین بود (نمودار ۳).

جدول۴- اثر پیری بذر بر سرعت جوانه‌زنی ۲۰ ژنوتیپ جو و دو رقم شاهد

شماره	ژنوتیپ	سرعت‌جوانه‌زنی (تیمار شاهد)	سرعت‌جوانه‌زنی (تیمار پیری)	درصد افت
۱	CGN00001	۱۱/۴۹	۳/۲۶	۷۱/۶۳
۳	CGN00007	۱۱/۹۲	۸/۲۳	۳۰/۹۶
۴	CGN00008	۱۱/۳۴	۲/۴۵	۷۸/۳۹
۵	CGN00009	۱۲/۵۳	۷/۰۷	۴۳/۵۷
۷	CGN00012	۱۱/۶۸	۲/۲۶	۸۰/۶۵
۱۳	CGN00025	۱۵/۹۴	۶/۵۴	۵۸/۹۷
۱۵	CGN00027	۱۵/۵۵	۱۰/۴۵	۳۴/۴۴
۱۷	CGN00029	۱۲/۶	۷/۲۴	۴۲/۵۳
۱۸	CGN00030	۱۳/۸۹	۶/۴۱	۵۳/۸۵
۲۱	CGN00034	۱۳	۶/۳۲	۵۱/۳۸
۲۲	CGN00035	۱۱/۷۸	۲/۰۲	۸۲/۸۵
۲۵	CGN00038	۱۰/۹۳	۲/۱۳	۸۰/۵۱
۲۹	CGN00043	۱۱/۴۵	۲/۰۵	۸۲/۰۹
۳۱	CGN00046	۱۲	۶/۳۸	۴۶/۸۳
۳۲	CGN00048	۱۲/۷۲	۶/۴۳	۴۹/۴۵
۳۸	CGN00054	۱۲/۰۷	۳/۲۵	۷۳/۰۷
۴۰	CGN00057	۱۱/۱۶	۳/۳	۷۰/۴۳
۴۲	CGN00060	۱۲/۷۱	۶/۲۳	۵۰/۹۸
۴۳	CGN00062	۱۱/۵	۲/۱۶	۸۱/۲۲
۴۵	CGN00064	۱۱/۶۲	۳/۴۵	۷۰/۳۱
۴۶	والفجر	۱۲/۶۲	۶/۷۷	۴۶/۳۵
۴۷	گرگان	۱۲/۱	۷/۲۷	۳۹/۹
	LSD	۱/۳۴	۱/۰۴۹	

www.SID.ir

Archive of SID

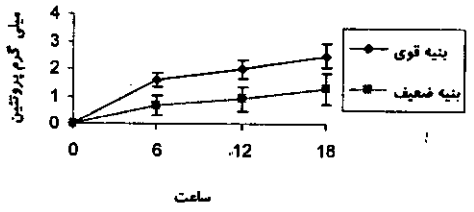


نمودار۱- فعالیت آنزیم کاتلاز در جنین بذور دو ژنوتیپ جوبا بنیه های متفاوت در مراحل اولیه جذب آب

جدول ۵- میانگین مربعات فعالیت آنزیمهای پراکسیداز و کاتالاز در دو ژنوتیپ جو با بنیه های متفاوت

منبع تغییرات	درجه آزادی	فعالیت آنزیم کاتالاز	فعالیت آنزیم پراکسیداز
ساعات آبگیری	۲	۱/۷۶۳**	۰/۰۱۵۷**
ژنوتیپ	۱	۴/۸۷۴**	۰/۰۱۹۵**
بنیه	۱	۹/۹۶۱**	۰/۱۰۳۸**
ساعات آبگیری × ژنوتیپ	۲	۰/۰۸۳۹**	۰/۰۰۰۱**
ژنوتیپ × بنیه	۱	۰/۰۷۶۴**	۰/۰۰۱۵**
ساعات آبگیری × بنیه	۲	۰/۰۵۸۵**	۰/۰۰۱۳**
ساعات آبگیری× بنیه × ژنوتیپ		۰/۰۰۲۲**	۰/۰۰۰۰۰۰۴۴ns
خطا	۲۴	۰/۰۰۰۰۲۲	۰/۰۰۰۰۰۱
ضریب تغییرات		۰/۳۲	۱/۷۶

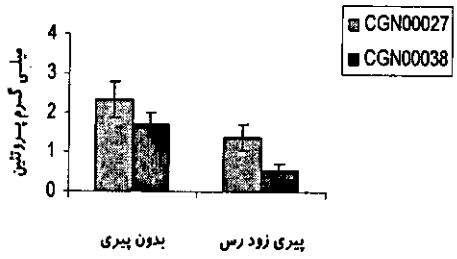
** معنی دار بودن در سطح احتمال یک درصد



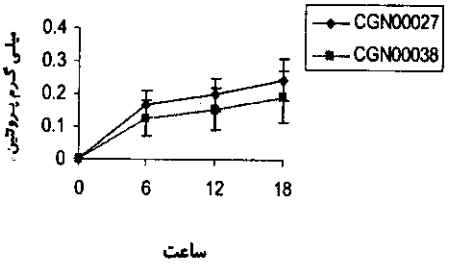
نمودار۲- فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمارهای بنیه قوی و بنیه ضعیف در مراحل اولیه جذب آب

بررسی فعالیت آنزیم پراکسیداز

نتایج تجزیه واریانس فعالیت آنزیم پراکسیداز نشان داد که اثر متقابل بین ساعات مختلف آبگیری و ژنوتیپ در سطح احتمال۰/۰۱ معنی دار بود (جدول ۵). با افزایش ساعات آبگیری از ۶ ساعت به ۱۸ ساعت میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در هر دو ژنوتیپ افزایش یافت ولی میزان فعالیت آنزیم در ژنوتیپ جو با بنیه بالا بیشتر بود. همچنین روند افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در ژنوتیپ با بنیه بالا بیشتر از ژنوتیپ با بنیه پایین در هر سه زمان آبگیری بود (نمودار ۴).



نمودار ۳- اثر تیمارپیری بر فعالیت آنزیم کاتالاز در جنین بذور دو ژنوتیپ جو



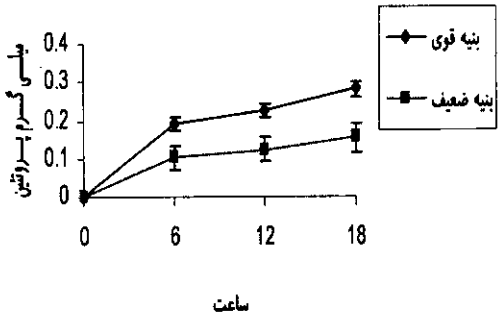
نمودار۴- فعالیت آنزیم پراکسیداز در جنین بذور دو ژنوتیپ جو با بنیه های متفاوت در مراحل اولیه جذب آب

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل بین ساعات مختلف آبگیری و تیمار بنیه در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی دار است (جدول ۵). در این بررسی با افزایش ساعات آبگیری از ۶ ساعت به ۱۸ ساعت میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در هر دو تیمار افزایش یافت اما میزان فعالیت این آنزیم در تیمار پیری در هر سه زمان آبگیری کمتر از تیمار بدون پیری بود. درصد افت فعالیت آنزیم در ۶ ساعت آبگیری در تیمار پیری زودرس حدود ۴۷٪ ، در ۱۲ ساعت آبگیری حدود۴۶٪ و در ۱۸ ساعت، آبگیری ۴۵٪ بود. این نتایج نشان داد که پیری زودرس سبب کاهش فعالیت آنزیم

www.SID.ir

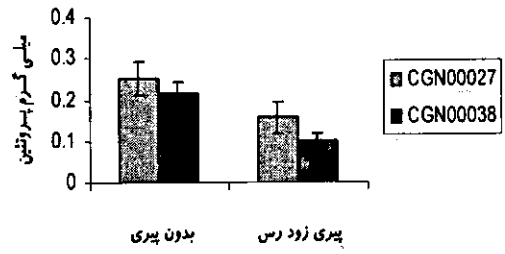
Archive of SID

پراکسیداز در ساعات مختلف آبگیری می شود، روند افزایش فعالیت آنزیم در ساعات مختلف آبگیری در تیمار بدون پیری بیشتر بود (نمودار ۵).



نمودار۵- فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمارهای بنیه در مراحل اولیه جذب آب

همچنین، نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل بین تیمار بنیه و ژنوتیپ در سطح احتمال۰/۰۱ معنی دار می باشد. میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در هر دوژنوتیپ جو در تیمار بدون پیری بیشتر از تیمار پیری زودرس بود. میزان فعالیت آنزیم در دو ژنوتیپ با بنیه بالا در هر دو تیمار بدون پیری و پیری زودرس بیشتر بود. مقایسه درصد افت فعالیت آنزیم پراکسیداز در هر دو ژنوتیپ در دو تیمار پیری زودرس و بدون پیری نشان داد که درصد افت ژنوتیپ با بنیه بالا در تیمار پیری زودرس حدود۳۸٪ و درصد افت ژنوتیپ با بنیه پایین ۵۵٪ بود ، همچنین نتایج نشان می دهد که پیری زودرس سبب کاهش فعالیت آنزیم می شود (نمودار ۶).



نمودار۶- اثر تیمار پیری بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در جنین بذور دو ژنوتیپ جو

آنزیم های پراکسیداز و کاتالاز از آنتی اکسیدانت های مهم و از بین برنده رادیکال های آزاد که از متابولیسم اکسیداسیونی میتوکندری در طول جوانه زنی بذر مشتق شده اند هستند. بنابراین مطالعه فعالیت این آنزیم ها در شناخت بنیه بذر مهم است. در تحقیق ورما و همکاران (۲۷) در بذور براسیکا مشخص شده که پیری سبب کاهش فعالیت آنزیم می شود که همراه با کاهش قابلیت حیات می باشد. در مطالعه ای که توسط گوال و همکاران(۱۳) بر روی بذور پنبه تحت شرایط پیری زودرس انجام گرفت مشخص شد که توانایی جوانه زنی کاهش یافته است. کاهش در توانایی جوانه زنی همبستگی با کاهش فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانت پراکسیداز و کاتالاز داشت. نتایج نشان داد که فرسودگی بذر در طول پیری زودرس به طور نزدیک مرتبط با کاهش در فعالیت آنزیم های از بین برنده رادیکال های آزاد است.

در مطالعه ای توسط برنال و همکاران (۷) بر روی ذرت مشخص شد که فعالیت پراکسیداز و کاتالاز در محور های جنینی بذر های پیر شده پایین بود و این ممکن است منجر به تجمع H_2O_2 شود که احتمالا جوانه زنی بیشتر را به طور مستقیم یا از طریق تشکیل رادیکال های هیدروکسیل ممانعت می کند.

مقایسه فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز در هر دو ژنوتیپ با بنیه قوی و ضعیف نشان داد که پیری زودرس سبب کاهش هر دو آنزیم می شود. اما، میزان افت آنزیم کاتالاز در هر دو ژنوتیپ بیشتر از آنزیم پراکسیداز بود. در واقع آنزیم کاتالاز نسبت به آنزیم پراکسیداز بیشتر تحت تاثیر پیری.قرار گرفت، بنابراین می توان پیشنهاد نمود که آنزیم کاتالاز نقش کلیدی تری در جوانه زنی بذر جو نسبت به آنزیم پراکسیداز دارد.

نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که پیری بذر سبب کاهش بنیه بذر می شود و این موضوع از طریق کاهش درصد، سرعت، و شاخص جوانه زنی خود را نشان می دهد. تعدادی از ژنوتیپ ها مانند شماره ۱۳، ۱۵، ۳۲ در بین ژنوتیپ های موجود دارای بنیه بالاتری بودند که می توان در برنامه های به نژادی از این ارقام استفاده نمود در حالی که،

www.SID.ir

Archive of SID

ژنوتیپ های شماره ۲۵ و ۲۹ دارای بنیه پایین تری نسبت به سایر ژنوتیپ ها دارند. صفات ژنتیکی برتر در برخی از ژنوتیپ ها می تواند دلیل بالا بودن بنیه آن ها باشد. فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت به عنوان یکی از دلایل فیزیولوژیکی مهم مورد بررسی قرار گرفت و نتایج این تحقیق نشان داد که آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز که دو آنزیم مهم برای از بین بردن رادیکال های آزاد در جوانه زنی بذر هستند تحت تاثیر پیری بذر قرار گرفته و پیری بذر سبب کاهش فعالیت این آنزیم ها می شود. فعالیت آنزیم کاتالاز بیشتر تحت تاثیر پیری بذر قرار گرفت و این آنزیم می تواند نقش مهمتری در جوانه زنی بذر جو نسبت به آنزیم پراکسیداز داشته باشد.

سپاسگزاری

مقاله فوق برگرفته از طرح تحقیقاتی "ارزیابی بنیه بذر در ژرم پلاسم جو" می باشد که هزینه آن توسط قطب علمی گیاهان علوفه ای دانشگاه تهران تامین گردیده است و بدینوسیله تقدیر و سپاسگزاری می گردد.

REFERENCES

1. Abdul-Baki, A.A., and J.D. Anderson. 1973. Vigour deterioration in soybean seeds by multiple criteria. Crop Science, 13: 630-633.
2. Anderson, J.D., and K. Gupta. 1986. Nucleotide alternation during seed deterioration. pp. 47-63. In: Mc Donald, M.B. and C.J. Nelson, (eds). Physiology of Seed Deterioration. Crop Science Society of America, Special Publication NO.11.1986, Madison, Wisconsin:
3. Basra, S.M.A., N. Ahmad, M.M. Khan, N. Iqbal and M.A. Cheema. 2003. Assessment of cotton seed deterioration during accelerated ageing. Seed Science and Technology, 31: 531-540.
4. Basu, S., S.P. Sharma, and M. Dadlani. 2004. Storability studies on maize (*Zea mays* L.) parental line seeds under natural and accelerated ageing conditions. Seed Science and Technology, 32: 239-245.
5. Belcher, E.W. and L. Miller. 1974. Influence of substrate moisture level on the germination of sweet gum and pine seed. Proceeding of the Association of Official Seed Analysis, 65: 88-89.
6. Berjak, P. and T.A. Villers. 1972. Aging in plant embryos: Acceleration of senescence following artificial ageing treatment. New Phytology, 71: 513-518.
7. Bernal, L., A. Camacho, and A. Carballo. 2000. Effect of seed ageing on the enzymic antioxidant system of maize cultivars. pp.157-160. In: Black, M., K.J. Bradford, and J. Vazqez-Ramos (eds.). Seed Biology. CABI Publpshing. UK.
8. Cakmak, I., S. Dragan, and H. Marschner. 1993. Activities of hydrogen - proxide scavenging enzymes in germinating wheat seeds. Journal of Experimental Botany, 44: 127-133.
9. Cookson, W.R., J.S. Rowarth, and J.R. Sedcole. 2001. Seed vigour in perennial ryegrass *(Lolium Perennel.)*: Effect and Cause. Seed Science and Technology, 29: 255-270.
10. Das, G. and S. Sen-Mandi. 1988. Root formation in deteriorated (aged) wheat embryos. Plant Physiology, 88: 983-986.
11. Gasper, T., C. Penel, J.F. Gastillo, and H. Greppin. 1985. A two step control of basic and acidic peroxidases and its significant for growth and development. Physiologia Plantarum, 64: 418-423.
12. Gidrol, X., W. S. Lin, N. Degousee, S.F. Yip, and A. Kush. 1994. Accumulation of reactive oxygen species and oxidant of cytokinin in germination soybean seeds. European Journal of Biochemistry, 224: 21-28.
13. Goel, A., A.K Goel, and I.S. Sheoran. 2003. Changes in oxidative stress enzymes during artificial ageing in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) seeds. Journal of Plant Physiology, 160: 1093-1100.
14. Hampton, J.G., R.J. Brunton, G.M. Pemberton and J.S. Rowarth. 2004.Temperature of Pea (*Pisum Sativum* L.) seed. Seed Science and Technology, 32: 267-264.
15. Jatoi, S.A., M. Afzal, S. Nasim, and R. Anwar. 2001. Seed deterioration study in pea, using accelerated ageing techniques. Pakistan Journal of Biological Science, 4: 1490-1494.

www.SID.ir

Archive of SID

16. Lee, S.Y., J.H. Lee, and T.O.K Won. 2002. Variation differences in seed germination and seedling vigor of Korean rice varieties following dry heat treatment. Seed Science and Technology, 30: 311-327.
17. McDonald, M.B. 2004. Orthodox seed deterioration and its repair. pp. 273-304. In: Benech- Arnold, R.L. and R.A. Sanchez. (eds). Handbook of Seed Physiology. Food Product Press. UK.
18. McDaniel, R.G. 1969. Relationship of seed weight, seedling vigour and mitochondrial metabolism in barley. Crop Science, 9: 823-827.
19. Modarresi, R., M. Rucker, and D.M. Tekrony. 2002. Accelerating ageing test for comparing wheat seed vigour. Seed Science and Technology, 30: 683-687.
20. Pedersen, L.H., P.E. Jorgensen, and I. Poulsen. 1993. Effect of seed vigor and dormancy on field emergence, development and grain yield on winter wheat and winter barley. Seed Science and Technology, 21: 159-178.
21. Puntarulo, S. and A. Boveris. 1990. Effect of natural and accelerated ageing on the hydroperoxide metabolism of soybean embryonic axes. Plant Science, 69: 27-32.
22. Puntarulo, S., M. Galleano, R.A. Sanchez, and A. Boveris. 1991. Superoxide anion and hydrogen proxide metabolism in soybean embryonic axes during germination. Biochimica et Biophisica Acta, 1047: 277-283.
23. Simic, A., S. Sredojevic, M. Todorouic, L. Dukanovic, and C. Radenovic. 2004. Studies on the relationship between the content of total phenolics in exudates and germination ability of maize seed during accelerated ageing. Seed Science and Technology, 32: 213-218.
24. Simontacchi, M., A. Caro, G.G. Fraga, and S. Puntaralo. 1993. Oxidative stress affects α-tocopherol content in soybean embryonic axes during germination. Plant Physiology, 103: 949-953.
25. Soltani, A,E. Leinali, S. Galeshi, and N. Latifi. 2001. Genetic variation for and interrelationship among seed vigor traits in wheat from the Caspian see coast of Iran. Seed Science and Technology, 29: 653-662.
26. Sung, J.M. and C.C. Chiu. 1995. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes of naturally aged soybean seed. Plant Science, 110: 45-52.
27. Verma, S.S., U. Verma, and R.P.S. Tomer. 2003. Studies on seed quality parameters in deteriorating seeds in Brassica (*Brassica campestris*). Seed Science and Technology, 31: 389-396.
28. Walker-Simmons, M.K. and J. Sesing. 1990. Temperature effects on embryonic abscisic acid levels during development of wheat grain dormancy. Journal of Plant Growth Regulation, 9: 51-56.

www.SID.ir