



نشریه تولید گیاهان زراعی
جلد هفتم، شماره چهارم، زمستان ۹۳
۲۲۳-۲۳۴
<http://ejcp.gau.ac.ir>
(مقاله کوتاه علمی)



تأثیر پرایمینگ با اسید سالیسیلیک بر خصوصیات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی بذور پیر شده ماریتیغال (*Silybum marianum*)

قاسم پرمون*^۱، علی عبادی^۲، سدابه جهانبخش گدهکهریز^۳ و مهدی داوری^۳

^۱دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه محقق اردبیلی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۷/۳۰، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۰/۷

چکیده

به منظور بررسی نقش احتمالی اسیدسالیسیلیک بر کاهش اثر پیری بذر ماریتیغال، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سال ۱۳۹۲ اجرا شد. عامل‌های آزمایش شامل پرایمینگ با اسیدسالیسیلیک در پنج سطح (شاهد، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و پیری تسریع شده در ۴ سطح (شاهد (پیر نشده)، ۲، ۴ و ۶ روز پیری تسریع شده) بود. در این مطالعه درصد جوانه‌زنی، ضریب سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه، شاخص طولی قدرت، میزان استفاده از ذخایر بذر، کارایی ذخایر پویا شده، کسر ذخایر مصرفی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز) اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که پیری تسریع شده سبب کاهش درصد جوانه‌زنی، ضریب سرعت جوانه‌زنی، شاخص‌های رشد گیاهچه، شاخص‌های قدرت و کارایی استفاده از ذخایر پویا شده، کسر ذخایر و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش و میزان استفاده از ذخایر شد. پرایمینگ موجب کاهش تأثیر پیری شد و غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسیدسالیسیلیک دارای بیشترین تأثیر بود.

واژه‌های کلیدی: جوانه‌زنی، شاخص‌های قدرت، اسیدسالیسیلیک، کاتالاز، پراکسیداز

*مسئول مکاتبه: ghasem.parmoon@gmail.com

مقدمه

گیاهان دارویی به‌عنوان جزء کلیدی در نظام‌های بهداشتی در سراسر جهان شناخته شده و مورد استفاده قرار می‌گیرند (راسکین، ۱۹۹۲). ماریتیغال (*Silybum marianum*) که یک گیاه دارویی است، به‌عنوان علف هرز سمج مزارع گندم شناخته شده است (خان و همکاران، ۲۰۰۳). ماریتیغال بومی نواحی مدیترانه بوده و از آن برای درمان ناراحتی‌های کبدی، چربی خون، دیابت و سرطان استفاده می‌شود (شاکر و همکاران، ۲۰۱۰).

پرایمینگ از مهم‌ترین روش‌های افزایش دهنده قدرت جوانه‌زنی بذور می‌باشد (فروک و همکاران، ۲۰۰۶). پرایمینگ باعث افزایش درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی (آسگدوم و بکر، ۲۰۰۱) و بهبود استقرار پوشش گیاهی می‌گردد، همچنین باعث کاهش غیریکنواختی فیزیولوژیک طبیعی و ذاتی جوانه‌زنی (روس، ۱۹۹۵) می‌شود. اسیدسالیسیلیک از مواد استفاده شده مهم در پرایمینگ می‌باشد که از ترکیبات فنلی بوده و توسط گیاهان تولید می‌شود. این گروه از ترکیبات می‌توانند به‌عنوان تنظیم کننده رشد عمل کنند (راسکین، ۱۹۹۲). اسیدسالیسیلیک به‌عنوان یک سیگنال مولکولی مهم در واکنش‌های گیاهی در پاسخ به تنش‌های محیطی مورد استفاده قرار می‌گیرد (سایرام و همکاران، ۱۹۹۷). کاربرد اسیدسالیسیلیک ممکن است روی بسیاری از فرآیندهای گیاهان مانند جوانه‌زنی بذور، نفوذپذیری غشاها و سرعت رشد اثر داشته باشد (خان و همکاران، ۲۰۰۳). هسو و همکاران (۲۰۰۳) در مطالعه خود بر کدوی تلخ (*Momordica charantia* L) نشان دادند که پیری باعث کاهش جوانه‌زنی و افزایش متوسط زمان جوانه‌زنی بذور گردید و پرایمینگ باعث کاهش اثر پیری شد. پیری میزان مالون-دی‌آلدئید و پراکسیداز کل را افزایش داده و موجب کاهش میزان پروتئین محلول در گیاه شد. در طی پیری فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز کاهش یافت و پرایمینگ موجب افزایش فعالیت آن‌ها شد. آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در واکنش مهلر دخیل بوده و در مزوفیل کلروپلاست موجب کاهش اکسیژن مولکولی و تنظیم سطح اکسیژن پلاستییدی می‌شود (تریست و دیکا، ۱۹۹۵). فعالیت این آنزیم از تولید بیش از حد اجزای خطی انتقال الکترون در شرایط تنش آب در واکنش مهلر جلوگیری می‌کند و افزایش فعالیت این آنزیم در طی پیری می‌تواند در جهت کاهش رادیکال‌های آزاد اکسیژن باشد (تیپینگ و همکاران، ۲۰۰۴). هدف از این پژوهش، بررسی تأثیر پیری تسریع شده بر جوانه‌زنی، رشد گیاهچه، قدرت بذر، تخلیه ذخایر بذر و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ماریتیغال و تعیین بهترین غلظت اسیدسالیسیلیک در کاهش اثر پیری تسریع شده بود.

مواد و روش‌ها

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه فیزیولوژی بذر دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۲ انجام گرفت. عامل اول شامل پرایمینگ با هورمون اسیدسالیسیلیک با غلظت ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بود و یک تیمار عدم پرایمینگ به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. عامل دوم، سطوح مختلف پیری تسریع شده (۰، ۲، ۴ و ۶ روز) در رطوبت نسبی ۹۵ درصد و دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد انتخاب شد. درصد جوانه‌زنی، ضریب سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، شاخص طولی قدرت، میزان استفاده از ذخایر، کارایی استفاده از ذخایر پویا شده بذر، کسر ذخایر مصرفی و فعالیت آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز اندازه‌گیری شد. رقم بذر استفاده شده، توده اصفهان و برای اعمال پیری تسریع شده، بذر در درون توری‌هایی قرار داده شد و سپس در درون ظروف دارای رطوبت موردنظر قرار گرفتند و به آن با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. برای پرایمینگ بذر، تعداد بذر موردنظر را در درون دو لایه کاغذ صافی قرار داده و سپس محلول‌های هورمونی مورد استفاده برای پرایمینگ را بر روی آن افزودند و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در تاریکی به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. برای انجام آزمون جوانه‌زنی، بذر با هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت پنج دقیقه ضدعفونی شدند و سپس ۲۵ عدد بذر در هر پتری دیش با قطر دهانه نه سانتی‌متری دارای دو لایه کاغذ صافی قرار گرفته و برای جوانه‌زنی به ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند (صدقی و همکاران، ۲۰۱۰). آزمون شمارش جوانه‌زنی به مدت ۱۴ روز و بر اساس خروج ریشه‌چه ۲ میلی‌متری صورت گرفت. بعد از ۱۴ روز طول ریشه‌چه و ساقه‌چه نیز اندازه‌گیری شد. در این آزمایش، وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه ماریتیغال با قرار دادن نمونه‌ها در درون آون با دمای ۶۰ درجه به مدت ۴۸ ساعت تعیین گردید. ضریب سرعت جوانه‌زنی با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (اسکات و همکاران، ۱۹۸۴). در این رابطه G تعداد بذر جوانه‌زده روزانه بوده که اندیس آن نشان دهنده شماره آن روز می‌باشد.

$$CVG = G_1 + G_2 + \dots + G_n / (1 \times G_1) + (2 \times G_2) + \dots + (n \times G_n) \quad (1)$$

شاخص دوم بنیه نیز طبق رابطه زیر محاسبه شد (عبدالباکی و اندرسون، ۱۹۷۳).

$$\text{قابلیت جوانه‌زنی} \times \text{طول گیاهچه} = \text{شاخص طولی قدرت} \quad (2)$$

برای اندازه‌گیری تخلیه ذخایر غذایی، ابتدا بذور هر نمونه توزین و سپس کشت شده و بعد از اتمام مرحله کشت، لپه‌ها از گیاهچه جدا شده و به‌عنوان وزن باقی‌مانده بذر در نظر گرفته شده و از روابط زیر برای محاسبه آن‌ها استفاده شد (سلطانی و همکاران، ۲۰۰۸).

(۳) وزن خشک باقی‌مانده بذرها - وزن خشک اولیه بذرها = مقدار استفاده از ذخایر غذایی

(۴) مقدار استفاده از ذخایر غذایی / وزن خشک گیاهچه‌ها = کارایی استفاده از ذخایر پویا بذر

(۵) وزن خشک گیاهچه‌ها / مقدار استفاده از ذخایر غذایی = کسر ذخایر مصرفی

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان با استفاده از روش کارو و میسرا (۱۹۷۶) و میزان پروتئین نیز به روش برادفورد (۱۹۷۶) اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS تجزیه و میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح پنج درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

شاخص‌های جوانه‌زنی: نتایج تجزیه واریانس‌ها نشان داد که پرایمینگ با اسیدسالیسیلیک و پیری تسریع شده بر درصد جوانه‌زنی ماریتیغال به ترتیب در سطح ۵ درصد و ۱ درصد تأثیر معنی‌داری داشتند (نتایج نشان داده شده است). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که درصد جوانه‌زنی در طی پرایمینگ افزایش پیدا کرد. در بین غلظت‌های اسیدسالیسیلیک، بیشترین (۶۳/۳ درصد) و کمترین (۵۷ درصد) درصد جوانه‌زنی به ترتیب به غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اختصاص داشت (جدول ۲). پیری تسریع شده موجب کاهش جوانه‌زنی شد. در طی پیری، جوانه‌زنی از ۶۶/۹ درصد به ۵۸ درصد در ۲ روز پیری کاهش پیدا کرد، با افزایش سطوح پیری، این کاهش شدیدتر شده به طوری که در ۴ و ۶ روز پیری، جوانه‌زنی به ترتیب به ۴/۵۸ درصد و ۱۶/۸ درصد کمتر از سطح اول پیری رسید (جدول ۱).

قاسم پرمون و همکاران

جدول ۱- تأثیر پرایمینگ و پیری تسریع شده بر طول و وزن خشک ریشه چه و ساقه چه بذور ماریتیغال.

وزن خشک ساقه چه	طول ساقه چه	وزن خشک ریشه چه	طول ریشه چه	ضریب سرعت جوانه زنی	درصد جوانه زنی	تیمار
میلی گرم	سانتی متر	میلی گرم	سانتی متر	روز	درصد	
۱/۳±۰/۰۹	۱/۹۳±۰/۱۳	۱/۲۳±۰/۱۰	۲/۶۲±۰/۲۶	۰/۳۱±۰/۰۱	۵۰/۶±۴/۴	شاهد
۱/۵±۰/۰۷	۲/۸۷±۰/۱۵	۱/۴۵±۰/۰۹	۳/۲۱±۰/۱۵	۰/۶۳±۰/۰۵	۵۷/۰±۴/۳	اسیدسالیسیلیک ۵۰۰
۱/۶±۰/۰۵	۲/۹۵±۰/۱۰	۱/۵۲±۰/۱۱	۴/۲۷±۰/۳۲	۰/۵۲±۰/۰۳	۶۳/۳±۴/۵	اسیدسالیسیلیک ۱۰۰۰
۱/۷±۰/۰۶	۲/۷۵±۰/۱۸	۱/۴۸±۰/۱۱	۳/۷۶±۰/۲۷	۰/۵۴±۰/۰۴	۶۰/۶±۲/۶	اسیدسالیسیلیک ۱۵۰۰
۱/۶±۰/۰۷	۲/۷۳±۰/۱۴	۱/۲۸±۰/۰۷	۲/۹۰±۰/۲۹	۰/۵۸±۰/۰۴	۵۷/۳±۳/۵	اسیدسالیسیلیک ۲۰۰۰
۰/۱۴۰	۰/۴۱	۰/۲۰	۰/۶۵	۰/۰۸۶	۱۰/۲۷	LSD _{0.05}
۱/۷±۰/۰۶	۳/۰۱±۰/۱۷	۱/۳۷±۰/۰۸	۳/۳۷±۰/۲۹	۰/۵۷±۰/۰۴	۶۶/۹±۳/۴	شاهد
۱/۷±۰/۰۴	۲/۹۰±۰/۱۳	۱/۴۹±۰/۰۸	۳/۶۳±۰/۲۴	۰/۵۷±۰/۰۵	۵۸/۹±۱/۹	۲ روز
۱/۴±۰/۰۵	۲/۴۵±۰/۱۲	۱/۳۶±۰/۱۱	۳/۲۹±۰/۳۷	۰/۴۶±۰/۰۴	۵۶/۲±۳/۵	۴ روز
۱/۳±۰/۰۵	۲/۲۲±۰/۱۳	۱/۳۴±۰/۰۸	۳/۱۳±۰/۱۸	۰/۴۸±۰/۰۴	۴۹/۰±۳/۹	۶ روز
۰/۱۲۵	۰/۳۷	۰/۱۰	۰/۵۰	۰/۰۷۷	۹/۱۹	LSD _{0.05}

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که پرایمینگ سبب افزایش ضریب سرعت و پیری موجب کاهش ضریب سرعت جوانه زنی شد. بیشترین ضریب سرعت جوانه زنی (۰/۶۳) در غلظت ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر اسیدسالیسیلیک مشاهده شد (جدول ۱). پیری سبب تغییرات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متعددی می‌شود. این نتایج با یافته‌های هسو و همکاران (۲۰۰۳) و همچنان لین و سونگ (۲۰۰۱) مطابقت داشت. کاهش شاخص‌های جوانه زنی را می‌توان به افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان طی پیری نسبت داد (کینزا و همکاران، ۲۰۱۱).

شاخص‌های رشد گیاهچه: بین تیمارهای آزمایشی بیشترین طول ریشه چه در بذور پرایم شده با غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر اسیدسالیسیلیک مشاهده شد، این سطح غلظت هورمون موجب افزایش ۱۱۲ درصدی ریشه چه در مقایسه با شاهد شد. بیشترین طول ساقه چه (افزایش ۵۲/۸ درصدی) نیز در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر مشاهده شد. روند تغییرات طول ریشه چه در سطوح مختلف پیری متفاوت بوده، به طوری که ۲ روز پیری موجب افزایش طول ریشه چه شده، ولی با افزایش شدت پیری به ۴ و ۶ روز طول ریشه چه کاهش پیدا کرد. ولی در طی ۲ روز پیری طول ساقه چه ۳/۶۵ درصد و در

طی ۴ و ۶ روز پیری ۱۸/۶ درصد و ۲۶/۲ درصد کاهش نشان داد. وزن خشک طی پرایمینگ افزایش و طی پیری کاهش یافت. بیشترین وزن خشک ریشه‌چه (۱/۵۲ میلی‌گرم) در تیمار پرایمینگ با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و بیشترین وزن خشک ساقه‌چه در غلظت ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر (افزایش ۳۰/۷۶ درصدی) اسیدسالیسیلیک مشاهده شد. بیشترین و کمترین وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه در طی پیری نیز به ترتیب از ۲ و ۶ روز پیری به دست آمد (جدول ۱).

افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در آغاز جوانه‌زنی باعث افزایش جوانه‌زنی بذور و بهبود رشد گیاهچه‌ها می‌شد. رشد گیاهچه با قدرت بذر و فعالیت آنزیمی دارای همبستگی مثبت است. کاهش رشد گیاهچه می‌تواند به علت کاهش تقسیمات سلولی و ممانعت از بزرگ شدن سلول باشد. پیری با افزایش میزان گلوکز و تنفس گیاهچه بر سنتز پروتئین‌ها و DNA سینتاز گیاهچه اثر می‌گذارد و موجب کاهش پویایی ذخایر بذر و رشد گیاهچه می‌شود (مورتی و همکاران، ۲۰۰۳؛ مک‌دونالد، ۱۹۹۹).

شاخص‌های قدرت و تخلیه ذخایر: پرایمینگ سبب افزایش شاخص طولی قدرت شد، به طوری که پرایمینگ با غلظت ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسیدسالیسیلیک دارای بیشترین میزان شاخص طولی بوده که نشان دهنده بیشترین تأثیر پرایمینگ بر قدرت در این غلظت‌ها می‌باشد. پیری تسریع شده نیز موجب کاهش شاخص طولی قدرت بذر شد. طی دو روز پیری شاخص طولی قدرت از ۱۸۵/۹ به ۱۲۸/۳ کاهش یافت که این نشان‌دهنده کاهش ۳۰/۹ درصدی مقدار آن در طی دو روز پیری بود. افزایش زمان پیری از دو روز به شش روز، قدرت بذر را به شدت کاهش داد به طوری که شاخص طولی قدرت ۲۲ درصد کاهش یافت (جدول ۲).

قاسم پرمون و همکاران

جدول ۲- تأثیر پرایمینگ و پیری تسریع شده بر شاخص‌های قدرت و تخلیه ذخایر بذور ماریتیغال.

تیمار	شاخص طولی قدرت	میزان استفاده از ذخایر	کارایی ذخایر	کسر ذخایر
	-	میلی گرم در هر بذر	میلی گرم بر میلی گرم	
شاهد	۹۶/۴±۱۱/۰	۰/۰۱۴±۰/۰۰۱۴	۰/۳۶۲±۰/۰۶۳	۸۵/۳۱±۰۹/۰۷
پرایمینگ اسیدسالیسیلیک ۵۰۰ (میلی گرم)	۱۶۶/۸±۱۷/۳	۰/۰۰۵±۰/۰۰۰۶	۱/۰۱۳±۰/۲۱۸	۲۶۰/۴۶±۳۹/۵۰
اسیدسالیسیلیک ۱۰۰۰ (بر لیتر)	۱۸۶/۳±۱۴/۶	۰/۰۰۷±۰/۰۰۱۲	۰/۸۳۱±۰/۱۲۴	۱۸۵/۰۹±۲۵/۶۲
اسیدسالیسیلیک ۱۵۰۰	۱۶۷/۴±۱۴/۲	۰/۰۰۸±۰/۰۰۱۲	۰/۵۹۵±۰/۰۸۱	۱۶۴/۸۶±۱۳/۸۹
اسیدسالیسیلیک ۲۰۰۰	۱۵۷/۲±۱۳/۰	۰/۰۰۸±۰/۰۰۰۵	۰/۵۶۰±۰/۰۶۰	۱۳۸/۶۸±۰۸/۲۵
LSD 0.05	۳۶/۸۰	۰/۰۰۲۷	۰/۳۳	۶۴/۵۳
شاهد	۱۸۵/۹±۱۵/۸	۰/۰۰۶±۰/۰۰۰۷	۰/۸۳۹±۰/۱۲۵	۲۱۰/۳۲±۲۵/۸۸
پیری ۲ روز	۱۶۴/۶±۱۰/۴	۰/۰۰۷±۰/۰۰۱۰	۰/۷۶۰±۰/۱۵۵	۱۷۶/۱۸±۲۹/۷۶
تسریع شده ۴ روز	۱۴۰/۵±۱۱/۹	۰/۰۰۹±۰/۰۰۱۵	۰/۶۸۴±۰/۱۱۵	۱۵۶/۷۸±۲۱/۰۷
۶ روز	۱۲۸/۳±۱۶/۱	۰/۰۱۰±۰/۰۰۱۳	۰/۴۰۶±۰/۰۵۰	۱۲۴/۲۴±۱۶/۶۴
LSD 0.05	۳۲/۹۱	۰/۰۰۲۴	۰/۳۰	۵۷/۷۲

پرایمینگ سبب کاهش مقدار استفاده از ذخایر و سبب افزایش کارایی مقدار ذخایر پویا شده و کسر ذخایر مصرفی شد. پرایمینگ با غلظت ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر اسیدسالیسیلیک دارای کمترین مقدار استفاده از ذخایر (۰/۰۰۵ میلی گرم در هر بذر) و بیشترین کارایی ذخایر پویا شده (۱/۰۱۳ میلی گرم در میلی گرم) و کسر ذخایر مصرفی بذر (۲۶۰/۴۶ میلی گرم در میلی گرم) بود. پیری سبب افزایش مقدار استفاده از ذخایر و کاهش کارایی و کسر ذخایر مصرفی آن‌ها شد، به طوری که در طی بالاترین سطح تنش، مقدار استفاده از ذخایر ۶۶ درصد افزایش و کارایی استفاده از ذخایر بذر و کسر ذخایر مصرفی بذر به ترتیب ۵۱ درصد و ۴۰ درصد کاهش نشان داد (جدول ۲). این نتایج با یافته‌های راثو و سینگ (۲۰۰۶) و سلطانی و همکاران (۲۰۰۸) مطابقت دارد.

سرعت جوانه‌زنی و قدرت بذر که از شاخص‌های مهم کیفیت بذر می‌باشند، تحت تأثیر قوه‌نامه بذور می‌باشند. پرایمینگ با بهبود فعالیت آنزیم‌ها، شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه موجب افزایش شاخص‌های قدرت گردید. اسیدسالیسیلیک (۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر) از طریق تأثیرگذاری بر شاخص‌های رشد گیاهچه و جوانه‌زنی (سرعت جوانه‌زنی) موجب کاهش اثرات پیری گردید. کاهش

نشریه تولید گیاهان زراعی، جلد هفتم (۴)، ۱۳۹۳

مقدار استفاده از ذخایر بذر و کسر ذخایر مصرفی انتقال یافته بذر به گیاهچه می‌تواند به دلیل کاهش فعالیت هورمون جیبرلین و کاهش سنتز آنزیم‌های هیدرولیتیک آلفا و بتا آمیلاز در فرآیند جوانه‌زنی در طی پیری باشد (مک‌دونالد، ۱۹۹۹). پیری با افزایش فعالیت پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های آزاد در سیتوپلاسم سلول‌ها در طی تنش‌های اکسیداتیو، میزان تولید هیدروژن آزاد در میتوکندری را افزایش داده و منجر به غیرفعال شدن فعالیت‌های فتوسنتزی و ایجاد عدم تعادل بین رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدان‌های دفاعی شده و منجر به ایجاد اختلال در فعالیت سلولی می‌شود (کیبینزا و همکاران، ۲۰۱۱).

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: پرایمینگ موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز شد. فعالیت آنزیم کاتالاز در غلظت ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بیشترین (۷/۰۴) تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه) و غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسیدسالیسیلیک بیشترین فعالیت آنزیم را نشان داد، به طوری که در این غلظت، فعالیت آنزیم از ۵/۹۴ به ۹/۶۱ (تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه) معادل ۶۱ درصد افزایش نشان داد. پیری تسریع شده در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد دارای تأثیر معنی‌داری بر فعالیت کاتالاز و پراکسیداز بود و موجب کاهش فعالیت این آنزیم‌ها شد، به طوری که در ۲ روز پیری فعالیت آنزیم کاتالاز از ۷/۰۷ به ۶/۷۴ (تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه) کاهش و در ۴ و ۶ روز پیری فعالیت آنزیم به ترتیب به ۵/۸۱ و ۴/۳۵ (تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه) رسید. فعالیت پراکسیداز در ۴ و ۶ روز پیری، از ۸/۶۸ به ۷/۱۰ و ۵/۸۸ تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه کاهش یافت (جدول ۳). بیشترین فعالیت این آنزیم (۱۱/۹۵) تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه) در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد. پیری تسریع شده به مدت ۲ روز، موجب افزایش فعالیت آنزیم از ۷/۲۳ به ۸/۴۶ (جذب در میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه شد (جدول ۳).

قاسم پرمون و همکاران

جدول ۳- تأثیر انواع پرایمینگ و پیری تسریع شده بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بذور ماریتیغال.

تیمار	کاتالاز	پراکسیداز	پلی فنل اکسیداز
(تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه)			
شاهد	۵/۱۴±۰/۵۰	۵/۹۴±۰/۹۵	۶/۴۸±۰/۹۴
پرایمینگ (میلی‌گرم بر لیتر)	اسیدسالیسیلیک ۵۰۰	۶/۹۸±۰/۶۲	۱۰/۵۹±۱/۱۴
	اسیدسالیسیلیک ۱۰۰۰	۹/۶۱±۰/۸۹	۱۱/۹۵±۱/۸۶
	اسیدسالیسیلیک ۱۵۰۰	۷/۰۴±۰/۷۳	۱۰/۹۰±۰/۹۷
	اسیدسالیسیلیک ۲۰۰۰	۶/۱۱±۰/۵۴	۷/۹۲±۰/۹۸
LSD 0.05	۱/۴۲	۲/۴۷	۵/۵۱
پیری تسریع شده	شاهد	۷/۰۷±۰/۴۷	۷/۲۳±۰/۶۲
	۲ روز	۶/۷۴±۰/۴۹	۸/۴۶±۱/۱۶
	۴ روز	۵/۸۱±۰/۴۱	۱۰/۰۱±۱/۴۷
	۶ روز	۴/۳۵±۰/۳۲	۱۲/۵۷±۰/۹۶
LSD 0.05	۱/۲۷	۲/۲۰	۴/۹۳

کاهش رونوشت‌برداری در ژن‌های مربوط آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در طی پیری در نتیجه کاهش فعالیت RNA اکسیداز در موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌گردد. افزایش پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های آزاد در سیتوپلاسم سلول‌ها در طی تنش‌های اکسیداتیو، میزان تولید هیدروژن در میتوکندری افزایش یافته و منجر به غیرفعال شدن فعالیت‌های فتوسنتزی و ایجاد عدم تعادل بین گونه‌های فعال اکسیژن و آنتی‌اکسیدان‌های دفاعی شده و پیوستگی پروتئین‌ها نیز در طی آن کاهش یافته و باعث افزایش حساسیت پروتئین‌ها به آنزیم‌های پروتئیناز کننده می‌شود. پرایمینگ باعث بهبود و ترمیم بیان ژن‌های مؤثر در تشکیل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش فعالیت آن‌ها در طی جوانه‌زنی می‌شود (کینزا و همکاران، ۲۰۰۶). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به‌خصوص کاتالاز باعث جلوگیری از فعالیت اکسیداز رادیکال‌های آزاد می‌شود (رومرو- پورتاس و همکاران، ۲۰۰۲). در طی پیری، محل برخی از اسید آمینه‌ها و آهن گوگردی موجود در ساختار برخی از آنتی‌اکسیدان‌ها تغییر پیدا می‌کند که موجب افزایش فعالیت گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود. بررسی کاتالاز در زمان پرایمینگ نشان داده که این آنزیم در طی پرایمینگ در سیتوزول سلولی تجمع پیدا می‌کند که این مرحله همزمان با تجزیه هیدروژن پراکسیداز می‌باشد و حاصل این فرآیند تجزیه هیدروژن پراکسید و نشان‌دهنده نقش حفاظتی کاتالاز می‌باشد (کینزا و همکاران، ۲۰۱۱).

نتیجه گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که پیری سبب کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی، شاخص‌های رشد گیاهچه، شاخص‌های قدرت، کارایی ذخایر (به استثنای میزان استفاده از ذخایر) و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شود. پرایمینگ موجب افزایش شاخص جوانه‌زنی، شاخص‌های رشد گیاهچه و شاخص قدرت و کارایی ذخایر شد. در بین غلظت‌های مختلف اسیدسالیسیلیک، ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بیشترین تأثیر را نشان داد. البته نتایج این تحقیق نشان داد که پیری ملایم تأثیر زیادی بر بذور ماریتیغال نداشت که نشان‌دهنده تحمل نسبی این بذر می‌باشد. شاید علت آن نقش حفاظتی سلیمارین (ماده مؤثر ماریتیغال) موجود در بذر به واسطه فعالیت‌های آنتی‌اکسیدان ضد پراکسیداسیون لیپیدها در کاهش پیری بذور باشد.

منابع

1. Abdul-Baki, A.A., and Anderson, J.D. 1973. Vigor determination in soybean by multiple criteria. *Crop Sci.*, 13: 630-633.
2. Asgedom, H., and Becker, M. 2001. Effects of Seed Priming with Different Nutrient Solutions on Germination, Seedling Growth and Weed Competitiveness of Cereals in Eritrea, in Proc. Deutscher Tropentag. University of Bonn and ATSAF, Margraf Publishers Press, Weickersheim, 282p.
4. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *An. Biochem.*, 72: 248-254.
5. Farooq, M., Basra, S.M.A., Warraich, E.A., and Khaliq, A. 2006. Optimization of hydro priming techniques for rice seed invigoration. *Seed Sci. Technol.*, 34: 529- 534.
8. Hsu, C.C., Chen, C.L., Chen, J.J., and Sung, J.M. 2003. Accelerated aging-enhanced lipid peroxidation in bitter gourd seeds and effects of priming and hot water soaking treatments. *Sci Hortic.*, 98: 201-212.
9. Karo, M., and Mishra, D. 1976. Catalase, peroxidase and polyphenol oxidase activity during rice leaf senescence. *Plant Physiol.*, 57: 315-319.
10. Khan, W., Prithiviraj, B., and Smith, D. 2003. Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. *Plant Physiol.*, 160: 485-492.
11. Kibinza, S., Bazin, J., Bailly, C.H., Farrant, J.M., Corbineau, F., and Maarouf-Bouteau, H.E. 2011. Catalase is a key enzyme in seed recovery from ageing during priming. *Plant Sci.*, 181: 309-315.
12. Kibinza, S., Vinel, D., Come, D., Bailly, C., and Corbineau, F. 2006. Sunflower seed deterioration as related to moisture content during ageing, energy metabolism and active oxygen species scavenging. *Plant Physiol.*, 128: 496-506.

13. Lin, J.M., and Sung, J.M. 2001. Pre-sowing treatments for improving emergence of bitter melon seedlings under optimal and sub-optimal temperatures. *Seed Sci. Technol.*, 29: 39-50.
14. McDonald, M.B. 1999. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. *Seed Sci. Technol.* 27: 177-237.
15. Murthy, U.M.N., Kumar, P.D., and Sun, W.Q. 2003. Mechanisms of seed aging under different storable conditions for (*Vigna radiata* L.) Lipid peroxidation, sugar hydrolysis, reactions and their relationship to state transition. *J. Exp. Bot.*, 384: 1057-1067.
16. Rao, R.G.S., and Singh, P.M. 2006. Storability of onion seeds and effects of packaging and storage conditions on viability and vigor. *Sci. Hortic.* 110: 1-6.
17. Raskin, I. 1992. Role of salicylic acid in plants. *An. Rev. Plant Physiol.*, 43: 168-160.
19. Romero-Puertas, M.C., Palma, J.M., Gomez, M., Del Rio, L.A., and Sandalio, L.M. 2002. Cadmium causes the oxidative modification of proteins in pea plants. *Plant Cell Environ.*, 25: 677-686.
20. Rowse, H.R. 1995. Drum priming: A non-osmotic method of priming seeds. *Seed Sci. Technol.*, 24: 281- 294.
21. Sairam, P.K., Deshmukh, P.S., and Shukla, D.S. 1997. Tolerance of drought and temperature stress in relation to increased antioxidant enzyme activity in wheat. *J. Agron. Crop Sci.*, 178: 171- 178.
22. Scott, S.J., Jones, R.A., and Williams, W.A. 1984. Review of data analysis methods for seed germination. *Crop Sci.*, 24: 1192-1199.
23. Sedghi, M., Nemati, A., Amanpour-Balaneji, B., and Gholipouri, A.G. 2010. Influence of different priming materials on germination and seedling establishment of Milk Thistle (*Silybum marianum*) under Salinity Stress. *World Applied Sci. J.*, 11: 604-609.
24. Shaker, E., Mahmoud, H., and Mnaa, S. 2010. Silymarin, the antioxidant component and *Silybum marianum* extracts prevent liver damage. *Food Chem. Toxicol.*, 48: 803-806.
25. Soltani, E., Kamkar, B., Galeshi, S., and Akram-Ghaderi, F. 2008. The effect of seed deterioration on seed reserves depletion and heterotrophic seedling growth of wheat. *J. Agric. Sci. Nat. Resour.*, 27: 13- 17.
27. Thipyapong, P., Melkonian, J., Wolfe, D.W., and Steffens, J.C. 2004. Suppression of polyphenol oxidases increases stress tolerance in tomato. *Plant Sci.*, 167: 693-703.
28. Trebst, A., and Depka, B. 1995. Polyphenol oxidase and photosynthesis research. *Photosynth. Res.*, 46: 41-44.



EJCP., Vol. 7 (4): 223-234
<http://ejcp.gau.ac.ir>



Gorgan University of Agricultural
Sciences and Natural Resources

(Short Technical Report)

Effect of seed priming by salicylic acid on the physiological and biochemical traits of aging milk thistle (*Silybum marianum*) seeds

*Gh. Parmoon¹, A. Ebadi², S. Jahanbakhsh Godahkahriz³
and M. Davari³

¹M.Sc. Graduate, Associate Prof., and Assistant Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

Received: 22-10-2014 ; Accepted: 28-12-2013

Abstract

In order to reduce the effects of priming with salicylic acid on reducing milk thistle seed aging effect, a factorial experiment was carried out as completely randomized design in 2011. Factors consisted of priming with salicylic acid at five concentration (0, 500, 100, 1500 and 2000 mg L⁻¹), and four accelerated aging (control, 2, 4 and six days of aging). In this experiment germination percentage, germination rate, length vigor index, seed reservoirs using rate, seed reservoirs using efficiency, fraction of utilized seed reservoirs and catalase, peroxidase and polyphenol oxidase antioxidants enzyme activity were measured. The results showed that accelerated aging reduced the germination percentage, germination rate, seedling growth and seed reservoirs using efficiency, fraction of utilized seed reservoirs and antioxidant enzyme's activities whereas seed aging increased seed reservoirs using rate. Priming reduced the effects of accelerated aging, and priming by 1000 mg L⁻¹ salicylic acid had the greatest impact.

Keywords: Catalase, Germination, Peroxidase, Salicylic acid, Vigor index

*Corresponding author; ghasem.parmoon@gmail.com