



تأثیر پیری بذر بر جوانه‌زنی و فعالیت‌های آنزیمی لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) تحت شرایط تنش شوری

مجید قنبری^{۱*}، علی مختصی بیدگلی^۲، پرنیان طالبی سیه‌سران^۳، حسن پیرانی^۴

۱. دکترای فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۲. استادیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۳. دانش‌آموخته باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۴. دانشجوی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۰۷؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۳۰

چکیده

جوانه‌زنی و سبز شدن سریع بذر، یک عامل مهم و تعیین‌کننده در عملکرد نهایی گیاهان است. این تحقیق با هدف بررسی اثر پیری بذر بر ویژگی‌های جوانه‌زنی لوبیا، رقم صدری تحت تأثیر تنش شوری به صورت آزمایش فاکتوریل، بر پایه طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در سال ۱۳۹۵ انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل پیری بذر در چهار سطح شاهد، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با استفاده از آزمون پیری تسریع شده و تنش شوری در پنج سطح، صفر (آب مقطر)، ۲، ۴، ۶ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر از منبع سدیم کلراید بود. نتایج این آزمایش نشان داد که کمترین متوسط زمان جوانه‌زنی و بیشترین درصد جوانه‌زنی و وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه در تیمار ۲۴ ساعت پیری بذر و تیمار آب مقطر (شاهد) به دست آمد. همچنین بیشترین میزان ضریب آلومتریک، بنیه بذر و فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز نیز در تیمار ۲۴ ساعت پیری و تیمار شاهد شوری مشاهده گردید. به‌طور کلی، در طی فرآیند پیری تسریع شده با گذشت زمان کیفیت، بنیه و قدرت بذر و به دنبال آن ظرفیت و سرعت جوانه‌زنی برای زنده ماندن بذر کاهش یافت. به‌طور کلی، افزایش دوره پیری و افزایش سطوح تنش شوری از طریق تجمع انواع گونه‌های اکسیژن فعال در سلول و آسیب رساندن به لیپیدهای غشا، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک بر جوانه‌زنی و شاخص‌های مرتبط با آن و فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی در بذر گیاه لوبیا، تأثیر منفی گذاشته و در نهایت موجب افت شاخص‌های جوانه‌زنی گردید.

واژه‌های کلیدی: رقم صدری، زوال، سدیم کلراید، فعالیت آنزیمی، مورفولوژی گیاهچه

مقدمه

(بذور جوانه‌زنده سخت) و اثر سمیت یونی و ایجاد اختلالات فیزیولوژیکی و در مجموع مرگ جنین (بذور جوانه‌زنده نرم) قابل مشاهده است (Rahimian Mashhadi et al., 1991; Gama et al., 2007). برخی از پژوهشگران علت کاهش میانگین و درصد جوانه‌زنی و کاهش طول ساقه‌چه و ریشه‌چه را ناشی از بروز اختلالات رشدی و کوچک شدن غیرطبیعی سطح برگچه‌ها در مرحله جوانه‌زنی حاصل از تنش شوری عنوان کرده‌اند (Ghanbari et al., 2016). محققین به‌طور جداگانه در آزمایش‌های خود دریافتند که با افزایش میزان

تنش شوری یکی از عوامل محیطی مهم در کاهش محصولات زراعی بوده و آثار تخریب‌کنندگی خود را در تمام مراحل رشدی گیاه به همراه داشته و در میان همه مراحل رشد گیاهان زراعی، مرحله جوانه‌زنی نیز، از مراحل حساس به تنش شوری است. تنش شوری از دو طریق بر رشد گیاهچه حاصل از جوانه‌زنی مؤثر است: (۱) خشکی فیزیولوژیک حاصل از کاهش پتانسیل آب در منطقه ریشه‌چه (۲) سمیت یون‌های سدیم و کلر درون بافت‌های گیاهچه، که اثر به‌صورت اثر اسمزی محلول کلرید سدیم و ممانعت از جذب آب توسط بذر

زوال بذر ناشی از انبارداری جهت عدم استفاده کشاورزان از این چنین بذرهایی با توجه به شرایط منطقه، این آزمایش به اجرا درآمد. این پژوهش در راستای بررسی اثرات فرسودگی بذر ناشی از انبارداری و بررسی شاخص‌های جوانه‌زنی بذرها لوبیا در شرایط شور انجام شده است.

مواد و روش‌ها

به منظور ارزیابی تأثیر تنش شوری و پیری بذر بر ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر لوبیا رقم صدری، آزمایشی به صورت فاکتوریل، بر پایه طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در آزمایشگاه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس در سال ۱۳۹۵ انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل پیری بذر، در چهار سطح شاهد، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت و تنش شوری، در پنج سطح صفر (آب مقطر)، ۲، ۴، ۶ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر بود. قبل از اجرای آزمایش بذر با محلول ۱۰ درصد هیپوکلریت سدیم به مدت ۱۵ دقیقه ضد عفونی شده و سه مرتبه با آب مقطر شستشو داده شدند (Fallah and Babaei, 2006). برای اعمال تیمار پیری، بذرها به صورت یک لایه روی توری‌های آلومینیومی بالای ظروف آب درون انکوباتور و در مدت زمان‌های صفر، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت و در رطوبت نسبی ۸۵ درصد قرار گرفتند (Balouchi et al., 2013). سپس برای کشت به تعداد ۲۵ عدد درون هر پتری‌دیش سترون دارای کاغذ صافی قرار گرفتند. تنش شوری با استفاده از NaCl خالص، مطابق رابطه زیر ایجاد شد.

$$TDS = 0.64 \times EC \quad [1]$$

که در آن TDS، میزان NaCl خالص بر حسب گرم در لیتر و EC میزان هدایت الکتریکی بر حسب دسی‌زیمنس بر متر است (Laleh et al., 2011). به هر پتری‌دیش، پنج میلی‌لیتر محلول NaCl با هدایت الکتریکی ۲، ۴، ۶ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر و برای هدایت الکتریکی صفر دسی‌زیمنس بر متر، آب مقطر اضافه شد. پس از اعمال تیمارها، ظروف توسط پارافیلیم پوشیده و پتری‌دیش‌ها در ژرمیناتور در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و در تاریکی به مدت هشت روز قرار داده شد.

شمارش جوانه‌زنی از روز پنجم آغاز و تا روز هشتم ادامه یافت (ISTA, 2004) و معیار جوانه‌زنی خروج ریشه‌چه به اندازه دو میلی‌متر بود (Soltani et al., 2001). متوسط زمان و درصد جوانه‌زنی به ترتیب بر اساس رابطه ۲ و ۳ محاسبه شدند.

تنش شوری، طول ریشه‌چه نسبت به طول ساقه‌چه بیشتر تحت تأثیر تنش شوری قرار دارد (Soltani et al., 2001; Mahdavi and Modarres Sanavi, 2007; Khaledi and Aghaali khani, 2007). همچنین بررسی اثر پیش-تیمار بذر بر جوانه‌زنی و قدرت گیاهچه لوبیا تحت شرایط تنش شوری دریافتند که با افزایش سطوح تنش شوری تعداد بذر با جوانه غیرعادی نسبت به بذر دارای جوانه عادی افزایش یافته که این امر در نهایت موجب کاهش بنیه بذر گردید (Agah and Nabavi Kalat, 2013).

بذر واحد ساختاری تولید محصولات زراعی بوده و نقش بسزایی در افزایش کیفی و کمی محصول نهایی دارد (Ahmadloo et al., 2011). از این جهت بررسی کیفیت و سلامت بذرها از انبارداری شده جهت افزایش عملکرد محصول، امری اجتناب‌ناپذیر است. در طول مدت نگهداری بذر در انبار، فرسودگی در بذر رخ داده که کاهش در صفات بذر از جمله، کیفیت بذر، قدرت حیات، ظرفیت جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه در گیاه پنبه را در پی داشت (Basra et al., 2003). پژوهشگران در مطالعات خود نشان دادند که با افزایش دوره تسریع پیری میانگین و درصد جوانه‌زنی بذر پنبه از ۸۷ درصد در تیمار شاهد به صفر درصد در تیمار ۱۵ روز پیری رسیده است (Basra et al., 2003). کاهش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه در اثر افزایش سطوح پیری بذر در آزمایش‌های مختلف روی بذر لوبیا گزارش شده است (Machado Neto et al., 2001). پژوهش‌ها در زمینه تأثیر پیری بذر و تنش شوری بر ویژگی‌های جوانه‌زنی لوبیا نشان داد که افزایش دوره پیری بذر و افزایش سطوح تنش شوری بر خصوصیات جوانه‌زنی لوبیا تأثیر منفی گذاشته و از تأثیر منفی گذاشته و از طریق تأثیر بر روابط آبی گیاه، سمیت ناشی از تجمع یون، کاهش پلاسمایی، تغییر ساختمان مولکولی اسیدهای نوکلئیک و کاهش فعالیت آنزیم‌ها در نهایت موجب افت شاخص‌های جوانه‌زنی گردید (Ghanbari and Karamnia, 2016). محققین حوزه تکنولوژی بذر در بررسی‌های خود گزارش کردند که شاخص بنیه بذر می‌تواند تحت تأثیر فرسودگی بذر کاهش یابد (Khazaei et al, 2010). با توجه به اینکه بیشتر اراضی حاشیه دریای خزر از مشکل شوری رنج‌برده و لوبیا گیاهی حساس به شوری است، همچنین به دلیل انبارداری بذرها این گیاه برای کشت دوم بعد از برنج با مشکل مواجه هستیم، در این راستا جهت شناسایی و بیان اثرات شوری و

پنج دقیقه در حمام آب جوش حرارت داده می‌شوند و پس از سرد شدن در دمای اتاق، ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن‌ها افزوده می‌شود. پس از به هم زدن، جذب آن‌ها در ۵۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده می‌شود (Bernfeld, 1955).

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۲ تجزیه شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون Tukey و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

متوسط زمان و درصد جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر پیری بذر، تنش شوری و برهمکنش پیری بذر × تنش شوری بر متوسط زمان و درصد جوانه‌زنی بذر در سطح یک درصد ($P < 0.01$) معنی‌دار است (جدول ۱). مقایسه متوسط زمان و درصد جوانه‌زنی از نظر برهمکنش پیری بذر × تنش شوری بذر نشان داد که بالاترین میزان متوسط زمان جوانه‌زنی، ۱۰ روز در تیمار ۷۲ ساعت پیری بذر و ۸ دسی‌زیمنس بر متر تنش شوری و درصد جوانه‌زنی، ۱۰۰/۱۰۰ درصد، در تیمار شاهد دیده شد و کم‌ترین متوسط زمان جوانه‌زنی، ۱/۰۰ روز در تیمار شاهد و درصد جوانه‌زنی، ۱۰/۱۰۰ درصد، در تیمار ۷۲ ساعت پیری بذر و ۸ دسی‌زیمنس بر متر تنش شوری مشاهده شد (جدول ۲). محققین در بررسی جوانه‌زنی و رشد گیاهچه چهار رقم grass pea (*Lathyrus sativus* L.) در یافتند که تنش شوری به‌طور معنی‌داری میانگین و درصد جوانه‌زنی را کاهش داده و بیشترین و کم‌ترین میزان آن به ترتیب در ۶ دسی‌زیمنس بر متر و ۲۰ دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد (Mahdavi and Modarres Sanavi, 2007). تنش شوری از طریق نفوذ یون‌های خارجی و نشت محلول‌های سیتوسولی و مواد الکترولیت از سلول‌های گیاهی بر کارایی دیواره و غشای سلولی و همچنین پایداری غشای پلاسمایی اثر منفی داشته (Eisvand and Madah Arefi, 2007) و بدین طریق موجب کاهش میانگین و درصد جوانه‌زنی در بذور می‌گردد. محققین در تحقیقات خود روی تأثیر زوال بذر بر سبز شدن گندم گزارش نمودند که زوال بذر بر میانگین، سرعت و درصد جوانه‌زنی تأثیر معنی‌داری داشته و بیشترین میزان میانگین و درصد جوانه‌زنی در تیمار شاهد و کم‌ترین آن در ۱۴۴ ساعت پیری مشاهده شد (Soltani et al., 2008). نتایج حاصل

$$MG = \frac{\sum D_n}{\sum n} \quad [2]$$

در این فرمول D تعداد روزها پس از شروع آزمون جوانه‌زنی و n تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز D است (Ghanbari and Karamnia, 2016).

$$PG = N_i/N \times 100 \quad [3]$$

که در آن N_i تعداد بذر جوانه‌زده شده تا روز هشتم و N تعداد کل بذر است (Fallah and Babaei, 2006). طول ریشه‌چه و ساقه‌چه با خط‌کش اندازه‌گیری شد. ساقه‌چه و ریشه‌چه پس از تفکیک به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۲ درجه سلسیوس در آون قرار داده شدند و وزن خشک آن‌ها با ترازوی حساس (Sartorius research (R300S)) با دقت ۰/۱ میلی‌گرم تعیین شد. ضریب آلومتریک، درصد آب بافت گیاهچه و شاخص بنیه بذر به ترتیب بر اساس رابطه ۴، ۵ و ۶ محاسبه شدند (Ghanbari et al., 2016; Hoseini et al., 2011; Agrawal, 2003).

$$[4] \quad \text{وزن خشک ریشه‌چه} / \text{وزن خشک ساقه‌چه} = \text{ضریب آلومتریک}$$

$$[5] \quad = \text{درصد آب بافت گیاهچه} \times 100 \left(\frac{\text{میانگین وزن خشک گیاهچه} - \text{میانگین وزن تر گیاهچه}}{\text{میانگین وزن تر گیاهچه}} \right)$$

$$[6] \quad \text{طول گیاهچه} \times \text{درصد نهایی جوانه زنی} = \text{شاخص بنیه بذر}$$

جهت تعیین فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی، نمونه‌های منجمد شده در (بافر سدیم فسفات ۰/۰۲ مولار، pH=۶/۹ و ۰/۰۰۶ مولار برای آلفا آمیلاز)، (بافر سدیم استات ۰/۰۱۶ مولار، pH=۴/۸ برای بتا آمیلاز) در هاون چینی ساییده و سپس در ۱۲۰۰۰ دور در دمای ۴-۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ می‌شوند. پس از سانتریفیوژ، برای اطمینان از عدم وجود ذرات معلق از کاغذ صافی عبور داده و از محلول صاف‌شده برای سنجش آنزیم α و β آمیلاز استفاده می‌شود. در هر لوله‌آزمایش مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی ریخته و سپس به هر کدام ۰/۵ میلی‌لیتر نشاسته یک درصد افزوده می‌شود. محیط واکنش دقیقاً به مدت سه دقیقه برای انجام واکنش بین مواد مختلف، رها می‌شود. سپس یک میلی‌لیتر معرف DNS به هر یک افزوده می‌گردد. برای تهیه نمونه شاهد عصاره‌ی آنزیمی حذف می‌شود. لوله‌ها به مدت

بیشتر در بافت ریشه‌چه و ساقه‌چه بوده که در نتیجه آن جذب آب توسط ریشه‌چه افزایش یافته و موجب کاهش در وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه گردید (Khalero and Aghaalkhani, 2007). پژوهشگران در بررسی اثر زوال بذر گندم بر تخلیه اندوخته غذایی بذر و رشد هتروتروفیک گزارش کردند که با افزایش دوره فرسودگی وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه به‌طور معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد کاهش یافت و بیشترین میزان وزن خشک به تیمار شاهد و کم‌ترین آن به تیمار ۲۴ روز پیری تعلق داشت (Soltani et al., 2008). آقا براتی و مارالیان (Aghabarati and Maralian, 2011) در بررسی تأثیر زوال بذر بر جوانه‌زنی و بنیه بذر افرا گزارش کردند که با افزایش دوره زوال بذر از رشد گیاهچه و طول ریشه‌چه و ساقه‌چه کاسته شده و بیشترین وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه در ۴۸ ساعت پیری بذر و کم‌ترین آن‌ها در ۱۴۴ ساعت پیری مشاهده گردید. این کاهش وزن ممکن است به دلیل بالا رفتن رطوبت نسبی و دما در بذرها و مرگ گیاهچه تحت پیری بذر رخ داده باشد (Maqsood, 2000). همچنین سایر پژوهش‌ها علت کاهش وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه در اثر پیری بذر را در کاهش میزان پویایی اندوخته غذایی بذر و یا کاهش کارایی تبدیل اندوخته غذایی پویا شده بذر در زمان جوانه‌زنی نسبت داده است (Soltani et al., 2006).

از تحقیقات پژوهشگران کاهش میانگین و درصد جوانه‌زنی بذور پیر شده را ناشی از تغییرات در فیزیولوژی سلولی بذر از جمله کاهش انتقال مواد تجزیه‌شده از بافت ذخیره‌ای بذر به محور جنین و کند شدن سنتز ترکیبات شیمیایی در جنین دانسته است (Ahmadloo et al., 2012).

وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه از نظر پیری بذر، تنش شوری و برهمکنش پیری بذر × تنش شوری در سطح احتمال یک درصد ($P < 0.01$) معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین برهمکنش پیری بذر × تنش شوری (جدول ۲) نشان داد که بیشترین میزان وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه در برهمکنش پیری بذر × تنش شوری، در تیمار شاهد (آب مقطر) به ترتیب (۰/۷۲ گرم) و (۴/۰۰ گرم) و کم‌ترین مقدار آن در ۷۲ ساعت پیری بذر و شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب (۰/۰۱ گرم) و (۰/۱۵ گرم) مشاهده شد. پژوهشگران در بررسی اثر تنش شوری و اندازه بذر بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه نخود، علت کاهش وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه را به علت کاهش استفاده از اندوخته غذایی دانه مانند آندوسپرم در شرایط شور عنوان کرده‌اند (Soltani et al., 2001). همچنین، نتایج تحقیقات محققین نشان داد که این امر به دلیل تجمع املاح

جدول ۱. تجزیه واریانس تأثیر مقادیر مختلف شوری بر ویژگی‌های جوانه‌زنی بذور پیر شده لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) رقم صدری

Table 1. Analysis of variance of values for the effect of salinity on aged seed germination characteristics of dry bean (*Phaseolus vulgaris* L. cv. sadri)

Source of Variation	df	متوسط زمان جوانه‌زنی Average time of germination	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	وزن خشک ریشه‌چه Radicle dry weight	وزن خشک ساقه‌چه Plumule dry weight	ضریب آلومتریک Allometric index	درصد آب بافت گیاهچه Seedling tissue water percentage	بنیه بذر Seed vigor	آلفا آمیلاز α -Amylase
پیری بذر Seed Aging (SA)	3	66.9**	6697.9**	0.76**	23.96**	0.09**	424.8**	7036825**	0.67**
تنش شوری Salt Stress (S)	4	51.9**	5195.6**	0.25**	5.97**	0.001**	129.6**	4392314**	0.19**
پیری بذر × تنش شوری SA × S	12	2.1**	207.3**	0.01**	0.34**	0.01**	16.4**	284289**	0.006**
خطای آزمایش Error	60	0.78	78.7	0.001	0.03	0.0002	3.8	30355	0.001
ضریب تغییرات CV (%)	-	7.88	7.88	11.05	10.63	8.99	2.29	14.68	6.72

* و ** به ترتیب در سطح ۰/۰۵ و ۰/۰۱ معنی‌دار است. ns غیر معنی‌دار است.

* and** Significant at 0.05 and 0.01 respectively, ns; Non-Significant

ضریب آلومتریک

تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که ضریب آلومتریک در پیری بذر، تنش شوری و برهمکنش پیری بذر × تنش شوری در سطح احتمال یک درصد ($P < 0.01$) معنی‌دار است. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین میزان ضریب آلومتریک در برهمکنش پیری بذر × تنش شوری (جدول ۳)، در تیمار ۲۴ ساعت پیری و ۸ دسی‌زیمنس بر متر تنش شوری (۰/۳۷) و کم‌ترین میزان آن در تیمار ۷۲ ساعت پیری و شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر (۰/۰۹) مشاهده شد که با تیمار ۴۸ ساعت پیری و شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر تفاوت معنی‌داری نداشت. ماشی و گالشی (Mashi and Galeshi, 2007) در بررسی اثر تنش شوری بر جوانه‌زنی ۴ ژنوتیپ جوی بدون پوشینه گزارش کردند که تأثیر تنش شوری بر ضریب آلومتریک در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بوده و ساقچه در مقایسه با ریشه‌چه به افزایش سطوح تنش شوری حساس‌تر است.

سطوح بالای تنش شوری انتقال مواد غذایی از لپه به محور جنینی را تحت تأثیر قرار داده و با کاهش سرعت رشد محور جنین از رشد ریشه‌چه و ساقچه جلوگیری کرده و از میزان ضریب آلومتریک می‌کاهد (Soltani et al., 2006). آقابراتی و مارالیان (Aghabarati and Maralian, 2011) در بررسی‌های خود روی تأثیر زوال بذر بر جوانه‌زنی بذر افرا گزارش دادند که اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال خطای یک درصد بین تیمارهای مختلف زوال بذر وجود داشته و با افزایش سطوح پیری وزن خشک گیاهچه کاهش یافت که این کاهش وزن خشک در ریشه‌چه بیشتر از ساقچه‌چه بوده و ضریب آلومتریک را کاهش می‌دهد. برنال و همکاران (Bernal et al., 2000) با بررسی زوال بذر در گیاهچه ذرت، علت کاهش وزن خشک گیاهچه در اثر افزایش سطوح پیری و به دنبال آن کاهش ضریب آلومتریک گیاهچه را کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در محوره‌های جنینی بذور پیر شده دانسته که این امر منجر به تجمع پراکسید هیدروژن در گیاهچه شده و از طریق تشکیل رادیکال‌های آزاد منجر به تخریب بافت در گیاهچه می‌گردد.

درصد آب بافت گیاهچه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که درصد آب بافت گیاهچه از نظر پیری بذر، تنش شوری و برهمکنش پیری بذر × تنش شوری در سطح یک درصد ($P < 0.01$) معنی‌دار است

(جدول ۱). مقایسه میانگین برهمکنش پیری بذر × تنش شوری بیان‌گر این مطلب بود که در برهمکنش پیری بذر × تنش شوری (جدول ۳)، بیشترین مقدار (۹۴/۲۱ درصد) درصد آب بافت گیاهچه در ۷۲ ساعت پیری و تیمار ۸ دسی‌زیمنس بر متر و کم‌ترین مقدار (۷۶/۲۷ درصد) آن در ۲۴ ساعت پیری و تیمار شاهد (آب مقطر) است. مونس و همکاران (Munns et al., 2006) در بررسی مقاومت به تنش شوری در گندم و سایر غلات گزارش کردند که هرچند تنش شوری پتانسیل آماس سلول را تغییر نداده ولی با افزایش سطوح تنش شوری محتوای آب نسبی گیاهچه کاهش یافت. پژوهشگران افزایش تجمع یون‌های سدیم و کلر در بافت گیاهچه در اثر افزایش مقادیر تنش شوری را عامل کاهش محتوای آب نسبی گیاهچه عنوان کردند (Munns, 2005). با توجه به اینکه در شرایط پیری، میزان رطوبت محیط و دما بالا بوده، این عوامل سبب جذب بیشتر رطوبت توسط بذرها شده و میزان محتوای رطوبت نسبی بذر با افزایش دوره پیری افزایش یافت (Nelson navamaniraj et al., 2008). از این‌رو، افزایش میزان هدایت الکتریکی در اثر افزایش دوره زوال بذر ناشی از افزایش نفوذپذیری غشای سلولی، تراوش مواد الکترولیت محلول از سلول‌های گیاهچه را تسریع کرده و نفوذ آب به درون بافت‌های گیاهچه را تحریک نموده و درصد محتوای آب نسبی گیاهچه را افزایش داده است (Soltani et al., 2006).

بنیه بذر

بر اساس جدول تجزیه واریانس بنیه بذر از نظر پیری بذر، تنش شوری و برهمکنش پیری بذر × تنش شوری در سطح یک درصد ($P < 0.01$) معنی‌دار است (جدول ۱). در برهمکنش پیری بذر × تنش شوری (جدول ۳)، بیشترین مقدار بنیه بذر (۲۷۴۸/۷۵) در تیمار شاهد (آب مقطر) و کم‌ترین مقدار آن (۲۲/۲۵) در ۷۲ ساعت پیری و شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد. غلامی و همکاران (Gholami et al., 2010) نیز در بررسی تأثیر تنش شوری و خشکی بر جوانه‌زنی ماشک گزارش دادند که بین سطوح مختلف تنش شوری اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال خطای یک درصد وجود داشته و با افزایش سطوح تنش شوری میزان بنیه بذر کاهش یافت. از عوامل مهم کاهش بنیه بذر در اثر افزایش سطوح تنش شوری می‌توان به کاهش میزان آب بافت گیاهچه ناشی از محدودیت فشار تورگر و همچنین تجمع ماده خشک در بافت‌های

نفوذپذیری و کاهش خاصیت تراوایی غشاهای سلولی و کاهش میزان تنفس (Zia and Khan, 2004) اشاره کرد.

فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز

بر اساس جدول ۱ فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز از نظر پیری بذر، تنش شوری و برهمکنش پیری بذر × تنش شوری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین مقدار فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز در تیمار شاهد (آب مقطر) به ترتیب (۰/۸۳ و ۰/۷۲ میکرو مول بر میلی‌لیتر بر دقیقه) و کمترین میزان فعالیت در ۷۲ ساعت پیری و شوری

ذخیره‌های ریشه‌چه (Sharma et al., 2004) اشاره کرد. محسن نسب و همکاران (Mohsen Nasab et al., 2010) در بررسی جوانه‌زنی و رشد گیاهچه ارقام گندم تحت شرایط فرسودگی بذر دریافتند که زوال بذر موجب کاهش بنیه بذر می‌گردد.

در مورد کاهش میزان بنیه بذر طی افزایش دوره پیری دلایل متعددی عنوان شده که از این موارد می‌توان به تخریب ساختمان غشای سلولی در اثر حمله رادیکال‌های آزاد تولیدشده ناشی از پراکسیداسیون چربی طی دوره زوال (Bailly, 2004) و افزایش نشت محلول‌های الکترولیت از سلول‌ها و افزایش میزان هدایت الکتریکی ناشی از افزایش

جدول ۲. مقایسه میانگین برهمکنش پیری بذر × تنش شوری بر صفات مختلف جوانه‌زنی بذر لوبیا رقم صدی

Table 2. Mean comparison effect of interaction salinity stress × seed aging on germination traits, in aged seeds of dry bean (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Sadri)

تیمار Treatment		صفات مورد ارزیابی				
		متوسط زمان جوانه‌زنی (روز) Germination Average Time (Day)	جوانه‌زنی (درصد) Germination Percent (%)	وزن خشک ریشه‌چه (گرم) Radicle Dry Weight (g)	وزن خشک ساقه‌چه (گرم) Plumule Dry Weight (g)	ضریب آلومتریک Allometric Index
شاهد Control	شاهد (EC=0)	1.00±0.00	100.00±0.00	0.72±0.03	4.00±0.16	0.18±0.00
	۲ ds/m (EC=2)	1.50±0.57	80.00±8.16	0.60±0.02	3.50±0.11	0.17±0.00
	۴ ds/m (EC=4)	2.50±0.57	72.50±9.57	0.49±0.02	3.26±0.06	0.15±0.00
	۶ ds/m (EC=6)	3.50±0.57	50.00±8.16	0.41±0.02	2.84±0.14	0.14±0.01
	۸ ds/m (EC=8)	4.25±0.95	32.50±9.57	0.28±0.04	2.30±0.10	0.12±0.01
۲۴ ساعت 24 hour	شاهد (EC=0)	2.75±0.95	82.50±9.57	0.61±0.03	3.05±0.24	0.19±0.00
	۲ ds/m (EC=2)	4.50±0.57	75.00±12.90	0.52±0.03	2.32±0.22	0.22±0.01
	۴ ds/m (EC=4)	4.00±0.81	60.00±8.16	0.43±0.03	1.71±0.24	0.25±0.01
	۶ ds/m (EC=6)	5.50±1.29	50.00±11.54	0.31±0.02	1.03±0.05	0.30±0.01
	۸ ds/m (EC=8)	6.25±1.50	32.50±5.00	0.27±0.05	0.72±0.16	0.37±0.01
۴۸ ساعت 48 hour	شاهد (EC=0)	3.25±0.50	62.50±15.00	0.42±0.06	2.22±0.41	0.19±0.02
	۲ ds/m (EC=2)	5.00±1.15	55.00±12.90	0.29±0.02	1.46±0.11	0.20±0.02
	۴ ds/m (EC=4)	6.00±0.81	40.00±8.16	0.23±0.06	1.05±0.31	0.22±0.01
	۶ ds/m (EC=6)	7.50±1.29	45.00±5.77	0.10±0.01	0.96±0.06	0.10±0.01
	۸ ds/m (EC=8)	8.25±0.95	27.50±9.57	0.07±0.00	0.74±0.05	0.09±0.00
۷۲ ساعت 72 hour	شاهد (EC=0)	3.25±0.95	42.50±9.57	0.15±0.02	0.94±0.20	0.16±0.00
	۲ ds/m (EC=2)	5.00±0.81	35.00±5.77	0.09±0.00	0.76±0.13	0.12±0.01
	۴ ds/m (EC=4)	7.25±0.95	25.00±5.77	0.06±0.00	0.66±0.05	0.10±0.01
	۶ ds/m (EC=6)	8.00±0.81	15.00±5.77	0.04±0.01	0.44±0.15	0.10±0.02
	۸ ds/m (EC=8)	10.00±0.00	10.00±0.00	0.01±0.00	0.15±0.02	0.09±0.02

جدول ۲. ادامه Table 2. Continued

Treatment	تیمار	Traits Assessment		صفات مورد ارزیابی	
Seed Aging	تنش شوری Salinity Stress	درصد آب بافت گیاهچه Seedling Tissue Water Percentage	بنیه بذر Seed Vigor	آلفا آمیلاز α -Amylase (μ moles/ml/min)	بتا آمیلاز β -Amylase (μ moles/ml/min)
پیری بذر Seed Aging	شاهد (EC=0)	76.27±0.62	2748.75±65.69	0.83±0.03	0.72±0.04
	۲ ds/m (EC=2)	78.18±0.49	2103.40±232.12	0.73±0.03	0.64±0.03
	۴ ds/m (EC=4)	78.86±0.28	1733.72±224.98	0.65±0.05	0.52±0.03
	۶ ds/m (EC=6)	79.11±0.70	1091.15±198.50	0.52±0.03	0.43±0.04
	۸ ds/m (EC=8)	81.85±0.62	594.22±164.69	0.43±0.02	0.33±0.03
شاهد Control	شاهد (EC=0)	78.82±1.33	1951.30±201.97	0.78±0.05	0.68±0.02
	۲ ds/m (EC=2)	81.57±2.16	1495.97±279.65	0.73±0.03	0.64±0.03
	۴ ds/m (EC=4)	84.67±1.84	1020.17±129.37	0.67±0.03	0.58±0.02
	۶ ds/m (EC=6)	89.20±0.94	740.95±164.63	0.58±0.02	0.49±0.01
	۸ ds/m (EC=8)	90.76±1.99	387.07±100.99	0.49±0.03	0.42±0.02
۲۴ ساعت 24 hour	شاهد (EC=0)	82.77±2.45	1198.40±346.85	0.53±0.03	0.44±0.02
	۲ ds/m (EC=2)	87.04±1.20	929.77±271.65	0.43±0.04	0.39±0.02
	۴ ds/m (EC=4)	87.04±3.65	567.85±154.63	0.40±0.01	0.35±0.01
	۶ ds/m (EC=6)	88.90±0.99	534.50±110.13	0.38±0.01	0.32±0.02
	۸ ds/m (EC=8)	90.36±0.52	199.05±70.30	0.32±0.02	0.28±0.02
۴۸ ساعت 48 hour	شاهد (EC=0)	89.19±2.01	641.15±129.40	0.38±0.02	0.29±0.02
	۲ ds/m (EC=2)	88.02±2.20	437.00±66.71	0.32±0.02	0.27±0.02
	۴ ds/m (EC=4)	87.65±1.04	195.20±38.17	0.27±0.02	0.25±0.02
	۶ ds/m (EC=6)	88.42±5.01	54.12±30.98	0.20±0.02	0.17±0.02
	۸ ds/m (EC=8)	94.21±1.60	22.25±2.61	0.16±0.02	0.14±0.02
۷۲ ساعت 72 hour	شاهد (EC=0)	89.19±2.01	641.15±129.40	0.38±0.02	0.29±0.02
	۲ ds/m (EC=2)	88.02±2.20	437.00±66.71	0.32±0.02	0.27±0.02
	۴ ds/m (EC=4)	87.65±1.04	195.20±38.17	0.27±0.02	0.25±0.02
	۶ ds/m (EC=6)	88.42±5.01	54.12±30.98	0.20±0.02	0.17±0.02
	۸ ds/m (EC=8)	94.21±1.60	22.25±2.61	0.16±0.02	0.14±0.02

*میانگین صفات در هر سطح برهمکنش \pm انحراف استاندارد*Mean of traits in each of interaction level \pm Standard Division

۸ دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب (۰/۱۶ و ۰/۱۴ میکرو مول بر میلی‌لیتر بر دقیقه) دیده شد (جدول ۳). پژوهشگران در بررسی اثرات تنش شوری بر شاخص‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های آلفا آمیلاز و پراکسیداز بذر گیاه دارویی ماریتیغال دریافتند که با افزایش میزان شوری، میزان فعالیت آلفا و آمیلاز و پراکسیداز بذور در روزهای مختلف کاهش یافت، به طوری که کمترین میزان صفات اندازه‌گیری شده مربوط به سطح سوم شوری و بیشترین میزان آن مربوط به شاهد بود (Masumi Zavvarian et al., 2013). محققین دلیل این امر را کمبود یون کلسیم در شرایط تنش شوری حاصل از NaCl به‌منظور فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز عنوان کرده‌اند که منجر به کاهش هیدرولیز نشاسته به گلوکز و کاهش میزان جوانه‌زنی می‌گردد (Jaleel et al., 2008).

محققین در بررسی بذرهای ذرت را تحت شرایط پیری تسریع شده بذرها را در دمای ۴۰ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۹۰ درصد به مدت صفر، ۲، ۴، ۶ و ۸ ساعت قرار دادند و کاهش درصد جوانه‌زنی نهایی و درصد گیاهچه‌های عادی و افزایش متوسط زمان جوانه‌زنی را مشاهده کردند که توأم با کاهش فعالیت‌های آنزیم‌های جوانه‌زنی، کاتالاز و آسکوربیک اکسیداز بود (Kapilan, 2015). فرسودگی بذر موجب تخریب DNA شده و اختلال در فرآیند نسخه‌برداری و در نهایت عدم سنتز آنزیم‌های ضروری (آلفا و بتا آمیلاز) موردنیاز برای مراحل اولیه جوانه‌زنی بذر می‌گردد. با کاهش فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز تحت شرایط زوال بذر، اندوخته غذایی بذر هیدرولیز نشده و سرانجام مولکول‌های

بذر افزایش از خود نشان داده، کاهش یافتند. تیمارهای تنش شوری، موجب افت شاخص‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی بذور انبارداری شده لوبیا گشته و در مجموع عامل مخربی برای کاهش متوسط زمان و درصد جوانه‌زنی، سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی، سبز شدن بذرها و کاهش کمی و کیفی آنزیم‌های جوانه‌زنی تحت شرایط نامساعد محیطی شناخته می‌شود.

لازم برای سنتز حامل‌های انرژی نظیر ATP قابل‌دسترس نخواهند بود (McDonald, 1999).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش سطوح تنش شوری و انبارداری بذور تمام شاخص‌های جوانه‌زنی به‌جز درصد آب بافت گیاهچه که با افزایش سطوح شوری و افزایش دوره زوال

منابع

- Agah, F., Nabavi Kalat, S.M., 2013. Study of seed priming on improvement seed germination indicators of Lentil (*Lens culinaris* Medik.) under salinity stress. Journal of Seed Science and Technology. 3(2), 53-61. [In Persian with English Summary].
- Aghabarati, A., Maralian, H., 2011. The effect of seed deterioration on germination and vigor of maple *Acer cineracens* Boiss. Quarterly Journal of Natural Ecosystems Iran. 2(2), 25-35. [In Persian with English Summary].
- Agrawal, R., 2003. Seed Technology. Pub. Co. PVT, LTD, New Delhi, India.
- Ahmadloo, F., M. Tabari., Behtari, B., 2012. Effect of water stress and accelerated ageing on some physiological characteristics of *Pinus brutia* Ten. Seeds. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research. 19 (2), 345-358. [In Persian with English Summary].
- Bailly, C., 2004. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. Seed Science Research. 14, 93-107.
- Basra, S.M.A., Ahmad, N., Khan, M.M., Iqbal, N., Cheema, M.A., 2003. Assessment of cotton seed deterioration during accelerated ageing. Seed Science and Technology. 31, 373-409.
- Balouchi, H.R., Bagheri, F., Kaid Nezami, R., Movahedi Dehnavi, M., Yadavi, A., 2013. Effect of seed aging on germination and seedling growth indices in three cultivars of *Brassica napus* L. Journal of Plant Research. 26(4), 397-411. [In Persian with English Summary].
- Bernal, L., Kamacho, A., Carballo, A., 2000. Effect of seed aging on the enzymic antioxidant system of maize cultivars (abstract). In: Black, M., Bradford, K.J., Vazquez-Ramos, J., (Eds). Seed Biology. CABI Publishing., United Kingdom. p. 157-160.
- Bernfeld, P., 1955. Amylase α and β . Methods in Enzymology. 1, 149-158.
- Bonner, F.T., 1998. Testing tree seed for vigor. A review. Seed Technology. 20, 5-17.
- Dehghanshoar, M., Hamidi, A., Mobasser, S., 2005. Methods of strength evaluation seed. Agricultural Research and Education Organization, the Training and Equipping Deputy of Human Resources, Dissemination of Agricultural Education, Tehran. P. 193. [In Persian].
- Eisvand, H.R., Arefi, H.M., 2007. Effects of some plant growth regulators on physiological quality of Bromus aged seed. Iranian Journal of Rangelands and Forest Plant Breeding and Genetic Research. 15(2), 159-171. [In Persian with English Summary].
- Fallah, A., Babaei, M., 2006. The assessment of salinity stress on germination of rice. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources. 4, 12-18. [In Persian with English Summary].
- Gama, P.B.S., Inanana, S., Tanaka, K., Nakazawa, R., 2007. Physiological response of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings to salinity stress. African Journal of Biotechnology. 6, 79-88.
- Ghanbari, M., Karamnia, S., 2016. Evaluation of the effect of seed aging on some characteristics of bean germination (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces of Guilan province under salinity stress conditions. The 6th Iranian Pulse Crops Symposium, 4 May, Khoram-Abad. [In Persian with English Summary].
- Ghanbari, M., Mansour Ghanaei Pashaki, K., Safaei Abdolmanaf, S., Aziz Ali-abadi, K., 2016. Effect of salt stress and hydropriming on

- germination characteristics of mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). Iranian Journal of Pulses Research, 7(1), 65-80. [In Persian with English Summary].
- Gholami, P., Ghorbani, J., Ghaderi, S., Salarian, F., Karimzadeh, A., 2010. Assessment of germination indices for *Vicia monantha* under salinity and drought stress. Scientific Journal of Grassland. 4(1), 1-11. [In Persian with English Summary].
- Hoseini, F., Siadat, S.A., Bakhshandeh, A.M., Chab, A.N., 2011. Evaluate the effect of oxygen tension on germination and seedling growth of five components of wheat. Iranian Journal of Field Crops Research. 9(4), 631-638. [In Persian with English Summary].
- ISTA. 2004. International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association. Zurich, Switzerland.
- Jaleel, C.A., Kishorekumar, A., Manivannan, P., Sankar, B., Gomathinayagam, M., Panneerselvam, R., 2008. Salt stress mitigation by calcium chloride in *Phyllanthus amarus*. Acta Botanica Croatica. 67(1), 53-62.
- Kapilan, R., 2015. Accelerated aging declines the germination characteristics of the maize seeds. Scholars Academic Journal of Biosciences. 3(8), 708-711.
- Khalesro, S., Aghaalkhani, M., 2007. Effect of salinity and water deficit stress on seed germination. Pajouhesh & Sazandegi. 77, 153-163. [In Persian with English Summary].
- Khazaei, H.R., Nezami, A., Dashti, M., Mehrabadi, H.R., 2010. Effect of seed priming on seed germination characteristics of triticale under salinity stress condition. New Findings of Agriculture. 4(4), 303-318. [In Persian with English Summary].
- Machado Neto, N.B., Custodio, C.C., Takaki, M., 2001. Evaluation of naturally and artificially aged seeds of (*Phaseolus vulgaris* L.). Seed Science and Technology. 29, 137-149.
- Mahdavi, B., Modarres-Sanavy, S.A.M., 2007. Germination and seedling growth in grasspea (*Lathyrus stivus*) cultivars under salinity condition. Pakistan Journal of Biological Sciences. 10(2), 273-279. [In Persian with English Summary].
- Mashi, A., Galeshi, S., 2007. The effect of salinity on germination indexes of four Hull-less barley genotypes. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources. 13(6), 45-57. [In Persian with English Summary].
- Masumi Zavvarian, A., Yousefi Rad, M., Moghaddasi, M.S., 2013. Effects of salinity stress on germination indices and the activity of alpha-amylase and peroxidase Milk Thistle seed (*Silybum marianum* L.). In: Abstract Book of The Second National Congress of Organic and Conventional Agriculture Symposium, May 14-15, 2013. Mohaghegh Ardebili University. P. 274. [In Persian with English Summary].
- McDonald, M.B., 1999. Seed deterioration: Physiology, repair and assessment. Seed Science and Technology. 27, 177-237.
- Mohsen Nasab, F., Sharafi Zadeh, M., Siyadat, A., 2010. The study of effect of seed aging (accelerated aging) on germination and seedling growth of wheat varieties in vitro condition. Scientific Research Quarterly Journal Crop Physiology. 2(3), 59-71. [In Persian with English Summary].
- Munns, R., James, R.A., Läuchli, A., 2006. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. Journal of Experimental Botany. 57, 1025-1043.
- Munnus, R., 2005. Genes and salt tolerance: Bringing them together. New Physiology. 167, 645-663.
- Nelson navamaniraj, K., Srimathi, P., Ponnuswamy, A.S., Sudhagar, R.J., 2008. Performance of scarified and nonscarified seed of *Bixa orellana* to accelerated aging test for the prediction of seed storability. Journal of Agriculture and Biological Sciences. 4(5), 591-594.
- Rahimian Mashhadi, H., A. Bagheri Kazemabad and A. Paryab. 1991. Effects of PEG and NaCl induced water potential and different temperatures on germination and seedling vigor of several wheat (*Triticum* spp) populations. Agricultural Science and Technology Journal. 5(1), 37-46. [In Persian with English Summary].
- Sharma, A.D., Thakur, M., Rana, M., Singh, K., 2004. Effect of plant growth hormones and abiotic stresses on germination, growth and phosphates activities in *Sorghum bicolor* L. Moench seeds. African Journal of Biotechnology. 3, 308-312.
- Soltani, A., Gholipoor, M., Zeinali, E., 2006. Seed reserve utilization and seedling growth of wheat as affected by drought and salinity.

- Environment and Experiment Botany. 55, 195-200.
- Soltani, A., Galeshi, S., Zenali, E., Latifi, N., 2001. Germination seed reserve utilization and growth of chickpea as affected by salinity and seed size. *Seed Science and Technology*. 30, 51-60. [In Persian with English Summary].
- Soltani, E., Kamkar, B., Galeshi, S., Akram Ghaderi, F., 2008. The effect of seed deterioration on seed reserves depletion and heterotrophic seedling growth of wheat. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*. 15(1), 182-193. [In Persian with English Summary].
- Tajbakhsh, M., 1996. Seed, (cognition - Certification and control it). Ahrar Tabriz Press. P. 131. [In Persian].