"نشریه علوم و فناوری بذر ایران"
جلد ششم، شماره ۲، پاییز و زمستان ۹۶
(ص ۲۲۸-۲۱۳)

Iranian Journal of
Seed Science and Technology
Vol.: 6, No.: 2, Autumn and Winter 2018
(pp: 213-228)
DOI: 10.22034/ijsst.2018.116773

# بررسی تأثیر پیش‌تیمار بذر با آب و پلی‌آمین‌ها بر بنیه و مقاومت به سرمای جو رقم یوسف برداشت شده با رطوبت‌های مختلف

**لیلا یاری[1*]، محمد صدقی[2]، آیدین حمیدی[3]، رئوف سید شریفی[4]**

۱- دانش آموخته مقطع دکتری رشته علوم و تکنولوژ ی بذر دانشگاه محقق اردبیلی
۲- استادگروه زرا عت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی
۳- دانشیار پژوهش، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات و ثبت و گواهی بذر و نهال، کرج
۴- استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۸/۰۳ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۲/۲۶)

**چکیده**

به منظور بررسی تأثیر رطوبت زمان برداشت و تیمارهای بذری بر وضعیت بنیه بذر و مقاومت به سرمای گیاهچه جو در شرایط کنترل شده، آزمایشی در مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال کرج بصورت فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی با چهار تکرار در سال ۹۳-۱۳۹۲ انجام گرفت. تیمارها عبارت بودند از رطوبت بذر در زمان برداشت در سه سطح ۱۴، ۱۶ و ۱۸٪ و پیش تیمار بذر در پنج سطح شامل سه نوع محلول پلی آمین پوترسین، اسپرمیدین، اسپرمین، آب وعدم پیش تیمار بذر به عنوان شاهد بودند. براساس نتایج پیش تیمارکردن بذرها با پلی‌آمین‌ها موجب بهبود بنیه بذر، کاهش نشت الکترولیت، افزایش محتوای پرولین گیاهچه‌ها و افزایش رشد گیاهچه‌های حاصل از بذرهای برداشت شده در هر سه سطح رطوبتی ۱۴، ۱۶ و ۱۸ ٪ در مقایسه با شاهد (عدم پیش تیمار) گردید. بعلاوه تیمار پرایمینگ بذرها با آب نیز باعث کاهش در نشت الکترولیت‌ها، افزایش وزن خشک بخش هوایی گاهچه‌ها، وزن خشک ریشه و طول ساقه بعد از شرایط تنش سرما گردید. حداکثر میزان پرولین و وزن خشک بخش هوایی گیاهچه‌ها بعد از شرایط تنش سرما، از تیمار پوترسین (Put) و حداقل نشت الکترولیت‌ها نیز برای تیمار Put ثبت گردید. همچنین بذرهایی که زودتر برداشت شده بودند (با رطوبت ۱۸ درصد) از بنیه بهتر، وزن خشک اندام هوایی بالاتر و نشت الکترولیت کمتر درشرایط سرما برخوردار بودند. به طورکلی برداشت بذرها بارطوبت در محدوده ۱۷٪ تا۱۸٪، انبار نمودن آنها در شرایط مناسب و سپس استفاده از تیمارهای بذری آب و PAs (یک ماه قبل از کاشت)، بویژه Put برای بهبود در بنیه بذر و مقابله گیاهچه‌ها با شرایط تنش سرما قابل توصیه است.

**کلمات کلیدی:** آب، پرولین، پلی‌آمین، رشد گیاهچه، رطوبت زمان برداشت، نشت الکترولیت

# Effect of water and Poly Amines treatment on barley (*Hordeum vulgare* L.) c.v Usef seedling vigour and chilling tolerance at harvesting in different seed moisture content

**L. Yari[1]*, M. Sedghi[2], A. Hamidi[3], R. Seyed Sharife[4]**

1- Ph.D., graduated in Seed Science and Technology, University of Mohaghegh Ardabili
2- Prof., University of Mohaghegh Ardabili
3- Assoc. Prof., Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Seed and Plant Certification and Registration Institute (SPCRI), Karaj, Iran.
4- Prof., University of Mohaghegh Ardabili

(Received: Oct. 24, 2016 – Accepted: May. 16, 2017)

**Abstract**

This study was conducted to investigate the role of water and polyamines (PAs) as priming agents on improving seed vigour and chilling tolerance with different moisture content (Mc)(14.0,16.0,18.0%) under chilling conditions in barley (*Hordeum vulgare* L.) c.v Usef. Experiments were conducted at the seed and Plant certification and Registration Research Institute in 2013 -2014. The seeds were hand harvested at three initial moisture contents including 18, 16, and 14% wet weight basis .The seed samples then were sealed in polythene bags and stored in conditioned storage and equilibrium for 8 months. After that for seed priming, seeds were soaked in 20mg/$L^{-1}$ (w/v) aerated solution of spermine (Spm), Puterscine (Put), and Spermidine (Spd) and distilled water (W) for 16h at 20±2C°. After each treatment, Seeds dried to original moisture level in forced air and sealed in polythene bags, stored in a conditioned storage again until one month. Experimental units were arranged as factorial in a completely randomized design with four replications after treat. The results indicated that Mc18% improved the germination percentage (GP) and seedling vigour compared to Mc 16 and 14%. The electrolyte leakage decreased in seeds harvested by Mc 18% when compared with Mc16 and Mc 14.0%. Also seed treatments significantly increased the seed viability. Likewise, in chilling stress condition maximum proline content and areal dry weight were obtained from Put treat, whereas the lowest electrolyte leakage was recorded for Put treat. Meanwhile, interaction between seed moisture content ×PAs treatment in cold condition significantly affected on plumule length and radicle dry weight, statistically maximum plumule length and radicle dry weight were recorded from Put ×18.0% mc. Also seed priming with water had positive effect on seedling growth after chilling stress. Generally, the effectiveness of PAs on improving chilling tolerance and increasing seedling vigor was more pronounced in Put treatment along with sample with 18.0% mc.

**Key word**: electrolyte leakage, Moicture Content at harvesting, Poly amine, proline, Seedling growth, water

* Email: lielayari@gmail.com

## مقدمه

جوانه زنی بذر و استقرار گیاهچه‌های نرمال، تعیین کننده وضعیت گسترش گونه‌های گیاهی می‌باشد، بطوریکه از لحاظ اقتصادی و اکولویکی دارای اهمیت فراوانی است. بعلت آسیب پذیری بالا در این مرحله در اثر تنش‌های محیطی و عوامل بیماری‌زا، جوانه زنی به عنوان بحرانی‌ترین مرحله از چرخه زندگی گیاه مورد توجه است (Rajjou *et al*., 2012). بنیه بذر نیز وضعیت پیچیده‌ای از بذر است که پتانسیل و قابلیت بذر را از لحاظ سرعت و یکنواختی در سبز شدن (ظاهر شدن) و نمو گیاهچه‌ها در شرایط وسیعی از مزرعه بیان می‌نماید (Rajjou *et al*., 2012).

بر اساس اظهار برخی از محققان، بذرها حداکثر قابلیت جوانه‌زنی را در پایان مرحله پر شدن به دست می‌آورند و پس از آن با از دست دادن آب بیشتر بر روی گیاه مادری بنیه آن‌ها کاهش می‌یابد و فرسوده می‌گردند (Harrington, 1972; Tekrony and Egli, 1997; Bailly *et al*., 2001). قابلیت انبارداری بذر[1] که به عنوان شاخصی از بنیه بذر مورد توجه است، بستگی به دوره بلوغ بذر[2] دارد، به طوری که رخدادهای سلولی و بیوشیمیایی مختلفی همراه با به دست آوردن مقاومت به خشک شدن در بذرهای ارتودکس (در این مرحله) رخ می‌دهد (Bailly *et al*., 2001). چنانچه بذرها در زمان مناسب برداشت شوند از کیفیت و بنیه بالاتر و در نتیجه، قابلیت انبارداری مناسبی برخوردار و در موقع کاشت نیز گیاهچه‌های حاصل از آن‌ها قادر به تحمل شرایط نامساعد محیطی خواهند بود.

سرما[3] (دمای پایین، ولی نه دمای یخ زدگی) یکی از مهم‌ترین فاکتورهای تنشی غیرزنده سخت است که رشد گیاه و تولید جهانی آن‌ها را محدود می‌کند. آسیب‌هایی که به وسیله تنش سرما ایجاد می‌شود، اغلب شامل محدودیت‌های مکانیکی فوری، فعال شدن تغییرات در ماکرومولکول‌ها و کاهش پتانسیل اسمزی در محیط سلولی (Xiong *et al*., 2002) و تغییرات معنی‌داری در سایر اجزای سلولی (Lee *et al*., 2002) است. سرما نه تنها بر رشد گیاهان مؤثر است، بلکه تأثیر معنی‌داری بر کمیت و کیفیت عملکرد دارد (Prosad *et al*., 1994). میزان آسیب حاصل از سرما بستگی به شدت کاهش دما و مدت زمانی که گیاه در معرض آن قرار می‌گیرد، دارد. واکنش ارقام به تنش‌های ناشی از دمای پایین، تغییرات مولکولی و بیوشیمیایی مهمی را درگیر می‌کند (Janská *et al*., 2010).

از موفقیت‌آمیزترین راهکارها این است که گیاهان سازگاری به تنش سرما را از طریق تحریک بیان بعضی از ژن‌های تنظیم کننده سرما، گسترش داده‌اند (Chinnusamy, *et al*., 2007)، به طوری که الگوهای نسخه برداری آن‌ها در بین ارقام مختلف متغیر است (Monroy *et al*., 2007). مطالعات نشان داده است که سازگاری به سرما می‌تواند با کاربرد خارجی فیتوهورمون‌ها از قبیل ABA و پلی‌آمین‌ها (PAS) به دست آید (Xiong *et al*., 2002; Groppa and Benavides, 2008). بنیه بذر را می‌توان با تکنیک‌هایی از قبیل پرایمینگ بذر (آبگیری و خشک کردن) بهبود بخشید، بطوریکه این تکنیک باعث بهبود در کارآئی بنیه بذرهای ضعیف می‌گردد (Walters *et al*., 2010). در دو دهه اخیر این تکنیک به عنوان یک روش کاربردی رایج برای افزایش در سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی و ظهور گیاهچه در بسیاری از گیاهان زراعی مهم، در هر دو شرایط تنش و بدون تنش به کار می‌رود. از مواد مختلفی جهت پیش تیمار استفاده می‌شود که از جمله آن‌ها می‌توان به پلی‌آمین‌ها (PAS) اشاره کرد. پلی‌آمین‌های پوترسین (Putrescine)، اسپرمیدین (spermidine)، اسپرمین (spermine) و کاداورین (cadaverine)، پلی‌کاتیون‌های آلی با وزن مولکولی پایین هستند که فعالیت بیولوژیکی بالایی دارند. پلی‌آمین‌ها در همه اجزای گیاهی موجود

[1] Seed strobility
[2] During maturation
[3] Chiling

هستند که نشان دهنده تنوع سهم آن‌ها در فرآیندهای اساسی سلول است (Kuzenetsov *et al*., 2007). نتایج پیش‌تیمار بذر با PAS بر روی محصولات مختلف از جمله گندم، پیاز، توتون، ذرت، برنج، آفتابگردان و خیار که دارای اثرات مفیدی به ویژه در شرایط تنش بوده است، توسط محققان گزارش شده است (Basra *et al*., 1994; Farooq *et al*., 2008; Cao *et al*., 2008; Zhang *et al*., 2009; Xu *et al*., 2011; Farooq *et al*., 2011).

جو چهارمین غله مهم دنیا است که به عنوان غذای دام و در صنایع تخمیری به کار می‌رود و در تهیه نان نیز ممکن است که به طور مستقیم مصرف شود (Hosseini, 2006). جو از گیاهان تا حدودی حساس به سرما است، به طوری که از لحاظ مقاومت به سرما در مقایسه با گندم در ردیف پایین‌تری قرار می‌گیرد. در ایران جو در حدود ۱/۶ میلیون هکتار با تولید سالیانه ۳/۲ میلیون تن کشت می‌گردد (FAO ,2013). بنابراین، در همین راستا تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر رطوبت بذر در زمان برداشت و تیمارهای PAs بر بنیه بذر و مقاومت به سرمای جو رقم یوسف در مراحل اولیه نمو (۲-۳ برگی) بعد از یک دوره مشخص انبارداری انجام گرفته است.

## مواد و روش‌ها

آزمایشی در مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال کرج بصورت فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی با چهار تکرار در سال۹۳-۱۳۹۲ انجام گرفت. تیمارها شامل تیمار اول: رطوبت بذر در زمان برداشت در سه سطح ۱۴، ۱۶ و ۱۸درصد و تیمار دوم: پیش تیمار بذر در پنج سطح شامل سه نوع محلول پلی آمین پوترسین، اسپرمیدین، اسپرمین ، آب وعدم پیش تیمار بذر به عنوان شاهد بودند.

**کاشت در مزرعه**

این آزمایش در مزرعه پژوهشی مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال کرج واقع در ۳۵ درجه و ۴۸ دقیقه شمالی و ۵۰ درجه و ۵۸ دقیقه شرقی اجرا گردید. رقم جو که برای کاشت در مزرعه انتخاب گردید، از مهم‌ترین ارقام مورد کشت در منطقه معتدله کشور به نام یوسف است که بذر آن از طبقه مادری که در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران در ورامین در سال ۱۳۹۱ تولید شده بود. این رقم دارای تیپ رشد بهاره، زودرس، نیمه حساس به سرما و در شرایط بدون تنش دارای عملکرد۶/۱ تن در هکتار است. کاشت در مزرعه همزمان با تاریخ کاشت جو در منطقه مورد آزمایش، اواخر مهرماه سال ۱۳۹۲ بود. بعد از مرحله رسیدگی فیزیولوژیکی، با استفاده از رطوبت سنج الکتریکی قابل حمل (مدل Dickey-john mini GAC)، رطوبت بذرها ارزیابی و با رسیدن میزان رطوبت بذر به سطح رطوبتی مورد نظر(۱۴، ۱۶و ۱۸ درصد) بوته‌هایی از خطوط میانی با دست برداشت و بذرها پس از خارج کردن از سنبله‌ها درون ظرف‌های نفوذ ناپذیر قرار گرفتند. پس از انتقال بذرها به آزمایشگاه میزان دقیق رطوبت بذر به روش استاندارد دمای بالا و ثابت به وسیله آون[1] بر مبنای معیارهای انجمن بین‌المللی آزمون بذر (ISTA, 2013) اندازه‌گیری گردید.

برای تعیین رطوبت بذرها در آزمایشگاه، بذرها با استفاده از آسیاب خرد[2] و سپس، به مدت ۲ ساعت در دمای ۱۳۰ درجه سانتی گراد درون آون خشک قرار گرفتند و میزان رطوبت بذر با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$(M_2-M_3)\times 100/(M_2-M_1)$$

که در آن $M_1$ وزن ظرف و درپوش آن بر حسب گرم، $M_2$ وزن ظرف، درپوش و بذرهای خرد شده قبل از خشک کردن بر حسب گرم و $M_3$ وزن ظرف، درپوش و بذرهای خرد شده بعد از خشک کردن بر حسب گرم است. تاریخ برداشت اوایل خرداد ماه ۱۳۹۳ بود. پس از جدا کردن بذرها از سنبله (خرمنکوبی) و رسیدن رطوبت بذرها به تعادل رطوبتی محیط، بذرها در انبار سرد در دمای ۵- ۴ درجه سانتی گراد قرار گرفتند.

[1] High constant temperature oven method
[2] Grinding

**۱- تیمار بذرها با PAS بعد از هشت ماه انبارداری**

بعد از هشت ماه انبارکردن در انبار سرد مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال در دمای ثابت ۵-۴ درجه سانتی‌گراد بذرها با محلول پلی آمین (PAs) پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین به مدت ۱۶ ساعت تیمار شدند. غلظت محلول، ۲۰ میلی‌گرم از هر نوع پلی آمین در یک لیتر و با نسبت ۱:۵ (یک گرم بذر در ۵ میلی لیتر محلول)، یعنی ۲۰۰ گرم بذر در یک لیتر محلول بود. بعد از تیمار شدن، بذرها در دمای اتاق خشک شدند تا به رطوبت اولیه خود رسیدند، سپس بذرهای پیش تیمار شده دوباره در انبار به مدت یک ماه با دمای ۵-۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند (Farooq *et al.*,2011). پس از گذشت یک ماه، بذرها از انبار خارج و بخشی از بذرها به روش حوله کاغذی به منظور تعیین درصد جوانه‌زنی، متوسط زمان جوانه‌زنی و بنیه بذر کشت گردیدند و بخشی نیز در سینی‌های کاشت حاوی خاک مزرعه جهت ارزیابی مقاومت به تنش سرما کشت شدند.

**۲- آزمایش تنش سرما، کاشت بذرها در سینی کشت بعد از یک ماه از پیش تیمار باPAs**

بخشی از بذرهای پیش تیمار شده در سینی‌های پلاستیکی کوچک، کشت شدند. سینی‌های کاشت با خاک مزرعه پر شد و سپس، در هر چاهک سینی، ۳ عدد بذر کشت گردید. هر سینی کاشت (با ابعاد۳۱ ×۵۲ سانتی‌متر) و تعداد ۴۵ چاهک، به عنوان یک تکرار در نظر گرفته شد، به طوری که برای هر تیمار چهار تکرار در نظر گرفته شد. سینی‌های کاشت در اتاق رشد با شرایط ۱۶ ساعت روشنایی، رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد و شدت نور ۱۵۰- ۲۰۰ $\mu mol\ m^2.s^{-1}$ و دمای ۱±۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از این که گیاهچه‌ها به مرحله ۳-۲ برگی رسیدند، در معرض تنش سرما (۵- ۴ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۳ روز قرار گرفتند. سپس، سینی‌های کشت در شرایط عادی قبلی (اتاق رشد با شرایط ۱۶ ساعت روشنایی، رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد و شدت نور ۱۵۰-۲۰۰ $\mu mol\ .m^2.s^{-1}$ و دمای۱±۲۰ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند و به مدت ۴ روز در این شرایط اتاق رشد باقی ماندند. بعد از اتمام دوره آزمایش، گیاهچه‌ها از سینی‌های کشت خارج و تعدادی جهت ارزیابی بنیه بذر، تعدادی نیز جهت اندازه‌گیری نشت الکترولیت‌ها، میزان پرولین و ارزیابی میزان مقاومت به سرما انتخاب گردیدند. لازم به ذکر است که نمونه‌های انتخاب شده جهت اندازه‌گیری محتوای پرولین تا مهیا شدن زمان مناسب جهت اندازه‌گیری، در فریزر با دمای ۸۰ - درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند، ولی نشت الکترولیت‌ها بلافاصله در همان روز به روش لیو و همکاران (Liu *et al.*, 2000) تعیین گردید.

محتوای پرولین نیز با استفاده از پرولین آزاد به عنوان استاندارد، با روش باتس و همکاران (Bates *et al.*,1973) و اندکی تغییر تعیین گردید.

## تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه وتحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده ازآزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ انجام گرفت.

## نتایج

**الف- نتایج آزمون جوانه‌زنی استاندارد**

**درصد جوانه‌زنی**: درصد جوانه‌زنی نهایی تحت تأثیر اثرات اصلی رطوبت بذر و تیمارهای بذری در سطح ۱٪ قرار گرفت، ولی اثر متقابل آن‌ها معنی‌دار نبود (جدول ۱). در مقایسه بین سطوح رطوبتی بذر در زمان برداشت، بیشترین درصد جوانه‌زنی (۸۹/۴٪) نهایی در بذرهای با رطوبت ۱۸٪ مشاهده گردید. ولی، بین بذرهایی که با رطوبت ۱۴ و ۱۶٪ برداشت شده بودند، از نظر درصد جوانه‌زنی نهایی، تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول ۲).

در مقایسه بین تیمارهای PAs کلیه تیمارهای بذری موجب افزایش درصد جوانه‌زنی نهایی در مقایسه با شاهد شدند، به طوری که بیشترین درصد جوانه‌زنی نهایی

(۹۲/۰۸٪) در تیمار بذری با اسپرمین مشاهده گردید که ۱۸/۸۱ درصد نسبت به شاهد (با میانگین ۷۷/۵ ٪) افزایش داشت. بین پوترسین و اسپرمین از نظر تأثیر بر درصد جوانه‌زنی نهایی تفاوت آماری معنی‌داری وجود نداشت، پرایمینگ بذرها با آب نیز از نظر تأثیر بر درصد جوانه زنی نهایی، تفاوت آماری معنی‌داری با بذرهای شاهد (عدم تیمار) نداشت (جدول ۳).

**متوسط زمان جوانه‌زنی**: متوسط زمان جوانه‌زنی (MGT) تحت تأثیر رطوبت در زمان برداشت در سطح ۵٪ و تیمارهای بذری PAs در سطح ۱٪ به قرار گرفت، ولی اثر متقابل آن‌ها معنی‌دار نبود. بذرهایی که با رطوبت ۱۸٪ برداشت شده بودند، در مقایسه با سایر سطوح رطوبتی سریعتر جوانه زدند (متوسط ۲/۱۳ روز) که به ترتیب در مقایسه با سطح رطوبتی ۱۴٪ و ۱۶٪، ۵/۶٪ و ۳/۲ ٪ تسریع در جوانه‌زنی را نشان داد. کمترین سرعت جوانه‌زنی در بذرهایی که با رطوبت ۱۴٪ برداشت شده بودند، مشاهده شد (جدول ۲).

در مقایسه بین تیمارهای PAs کلیه تیمارهای بذری موجب افزایش سرعت جوانه‌زنی (عکس متوسط زمان جوانه‌زنی) در مقایسه با شاهد شدند و تفاوت آماری معنی‌داری با بذرهای شاهد (عدم تیمار) نشان دادند. بیشترین سرعت جوانه‌زنی در تیمار بذری با اسپرمین با میانگین ۲/۰۵ روز مشاهده گردید که ۱۶/۰۹ درصد نسبت به شاهد (با میانگین ۲/۳۸) افزایش در سرعت جوانه‌زنی را نشان داد. تیمارهای پوترسین و اسپرمیدین نیز در مقایسه با شاهد به ترتیب موجب افزایش ۱۳/۳۳ ٪ و ۱۰/۱۸٪ در سرعت جوانه‌زنی شدند. بین تیمارهای PAs از نظر تأثیر بر سرعت جوانه‌زنی تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نگردید. تیمار آب نیز موجب افزایش در سرعت جوانه‌زنی گردید، ولی با بذرهای شاهد (عدم تیمار) از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۳).

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) درصد جوانه‌زنی و متوسط زمان جوانه زنی بعد از تیماربذر با پلی آمین و آب

Table1- Analyzes of variance (mean squares) of germination percentage and MGT after seed treatments with PAs and water

| منبع تغییر S.O.V. | **در جه آزادی** Df | متوسط زمان جوانه‌زنی Mean germination time | درصد جوانه‌زنی نهایی Final germination percentage |
|---|---|---|---|
| رطوبت بذر در برداشت Seed Moisture Level (SM) | 2 | 0.065* | 577.85** |
| تیمار بذر Seed treatments (ST) | 4 | 0.221** | 391.16** |
| تیمار بذر × سطوح رطوبت SM x (ST) | 8 | 0.022ns | 27.76ns |
| خطا Error | 45 | 0.022 | 23.75 |
| ضریب تغییر (٪) c.v. (%) | | 6.89 | 5.85 |

ns، * و** به ترتیب: غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال خطای آماری ۵ و ۱ درصد

ns: not significant * and **: significant at the 5% and1% probability levels, respectively

جدول۲- مقایسه میانگین صفات درصد جوانه‌زنی نهایی و متوسط زمان جوانه‌زنی بعد از پیش تیمار بذر با پلی آمین و آب تحت تأثیر سطوح اولیه رطوبت بذر

Table 2- Comparison of means for germination percentage (%) and MGT (day) after seed treatments with PAs and water as affected by seed initial moisture level

| رطوبت بذر<br>Seed Moisture Level (SM) | متوسط زمان جوانه‌زنی(روز)<br>Mean germination time (day) | درصد جوانه‌زنی نهایی<br>Final germination percentage (%) |
|---|---|---|
| 18 | 2.13 b | 89.40 a |
| 16 | 2.20 ab | 80.90 b |
| 14 | 2.25 a | 79.45 b |

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

In each column, means with at least one same letter has no significant difference.

جدول۳- مقایسه میانگین صفات درصد جوانه‌زنی نهایی و متوسط زمان جوانه‌زنی بعد از پیش تیمار بذر با پلی آمین و آب تحت تحت تأثیر تیمارهای بذری

Table 3- Comparison of means for germination percentage (%) and MGT (day) after seed treatments with PAs and water as affected by seed treatment

| تیمار بذر<br>Seed treatments | متوسط زمان جوانه‌زنی (روز)<br>Mean germination time (day) | جوانه‌زنی نهایی(٪)<br>Final germination percentage(٪) |
|---|---|---|
| شاهد<br>Control | 2.38 a | 77.5 d |
| آب<br>Water | 2.27 ab | 79.5 dc |
| اسپرمین<br>Spm | 2.05 c | 92.08 a |
| پوترسین<br>Put | 2.10 c | 85.16 b |
| اسپرمیدین<br>Spd | 2.16 bc | 82.00 bc |

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

In each column, means with at least one same letter has no significant difference.

**ب- نتایج آزمایش تنش سرما**

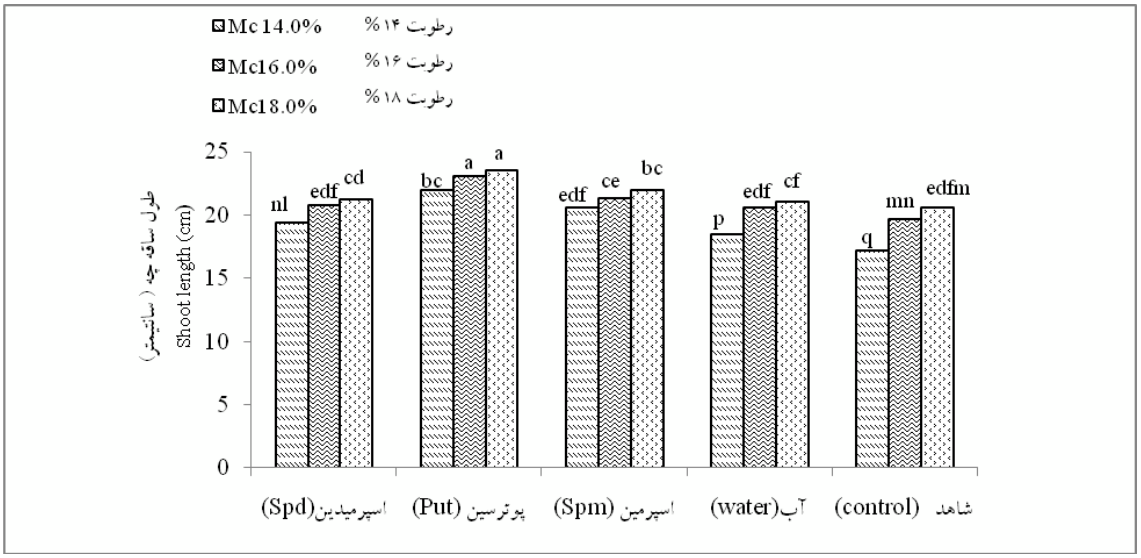
اثر متقابل رطوبت بذر در هنگام برداشت و تیمارهای PAs بر طول ساقه‌چه و وزن خشک ریشه‌چه در سطح ۱٪ معنی‌دار گردید، ولی سایر صفات از قبیل میزان پرولین در گیاهچه‌ها، نشت الکترولیت و وزن خشک بخش هوایی تحت تأثیر اثرات متقابل رطوبت × تیمارهای PAs قرار نگرفتند (جدول ۴).

**میزان پرولین:** میزان پرولین تنها تحت تأثیر اثر اصلی تیمارهای PAsدر سطح ۱٪ قرار گرفت. میزان پرولین در گیاهچه‌های حاصل از بذرهای برداشت شده با سطوح رطوبتی ۱۸،۱۶ و ۱۴ درصد تفاوت آماری معنی‌داری با هم نداشتند (جدول ۵)، در حالی که تیمارهای PAs بر میزان پرولین تأثیر معنی‌داری داشت و موجب افزایش میزان پرولین گیاهچه‌ها در مقایسه با شاهد شد، به طوری که بیشترین میزان پرولین در گیاهچه‌های حاصل از تیمار با Put (۱۲/۹۴ µmol/g fresh weight) به دست آمد که افزایش

معنی‌داری در مقایسه با شاهد را نشان داد. تیمارهای Spm و Spd نیز دارای تأثیر معنی‌داری بر افزایش میزان پرولین در مقایسه با شاهد شدند. بین Spm و Spd تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نگردید.پرایمینگ بذرها با آب نیز از نظر تأثیر بر محتوای پرولین گیاهچه‌ها تفاوت آماری معنی‌داری با شاهد (عدم تیمار) نداشت. به طور کلی، بیشترین تأثیر مثبت تیمارهای PAs بر میزان پرولین گیاهچه-ها به ترتیب مربوط به Put، Spm وSpd بود (جدول ۶).

**نشت الکترولیت‌ها:** نشت الکترولیت درگیاهچه‌ها تحت تأثیر اثرات اصلی رطوبت بذر در زمان برداشت و تیمارهای بذری قرار گرفت، ولی اثرات متقابل آن‌ها معنی‌دار نبود. بین هر سه سطح رطوبتی از نظر میزان نشت الکترولیت تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده گردید (جدول ۴). کمترین نشت الکترولیت درگیاهچه‌های حاصل از بذرهای برداشت شده با رطوبت ۱۸٪ با میانگین ۲۴/۵۲ ٪ مشاهده گردید که در مقایسه با سطوح رطوبتی ۱۴٪ و ۱۶٪ به ترتیب ۱۳٪ و ۵/۴٪ کاهش نشان داد (جدول ۵). کلیه تیمارهای بذری PAs و پرایمنگ با آب موجب کاهش نشت الکترولیت‌ها گردیدند. اثر مثبت تیمار Put با میانگین ۱۸/۴۲ ٪ در مقایسه با سایر تیمارها بیشتر بود. اسپرمیدین، در مقایسه با Put و Spm دارای تأثیر مثبت کمتری بود. تیمار پرایمینگ با آب نیز موجب کاهش معنی‌داری در میزان نشت الکترولیت‌ها در مقایسه با شاهد گردید. به نظر می‌رسد که تحت تنش سرما در رقم مورد آزمایش، Put در مقایسه با سایر تیمارها از نظر تأثیر بر پایداری غشای سلول‌ها موثرتر بوده است. حداکثر نشت الکترولیت‌ها در گیاهچه‌های حاصل از بذرهای بدون تیمار (شاهد) با میانگین ۲۷/۷۱ ٪ مشاهده گردید که بیانگر پایین بودن بنیه بذرهای اولیه شاهد (بدون پیش تیمار) در هنگام کاشت است (جدول ۶).

**طول ساقه چه:** اثر متقابل رطوبت بذر در هنگام برداشت و تیمارهای بذری بر روی طول ساقه‌چه در سطح ۱٪ معنی‌دار شد (جدول ۴). بیشترین طول ساقه‌چه با میانگین ۲۳/۵ سانتی متر در گیاهچه‌های حاصل از بذرهای برداشت شده با رطوبت ۱۸٪ و تیمار شده با Put به دست آمد که در مقایسه با شاهد ۱۴/۲۸٪ افزایش را نشان داد. کمترین طول ساقه‌چه نیز از بذرهای شاهد (بدون تیمار) و برداشت شده با رطوبت ۱۴٪ به دست آمد (شکل ۱).




شکل۱- اثرات تیمارهای PAsوآب بر طول ساقه‌چه تحت رطوبت‌های مختلف بذرجو

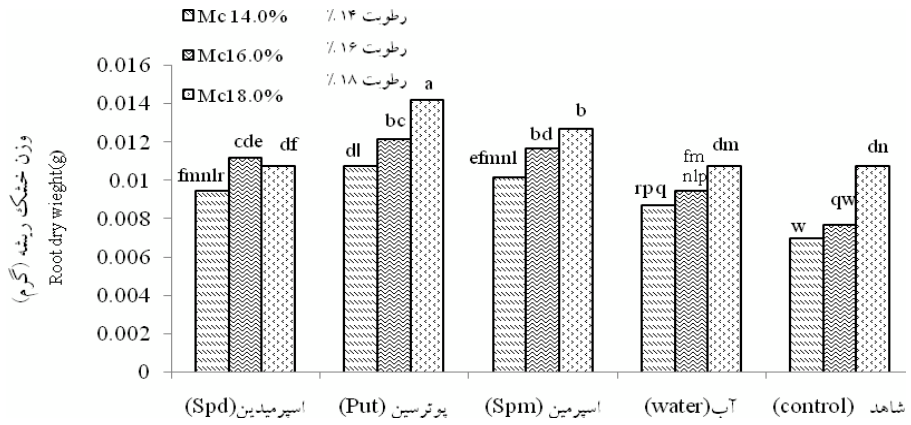
Fig. 1- Effects of exogenous PAs treatments and water on plumule length under different barley seed moisture content

بیشترین طول ساقه‌چه در سطح رطوبت ۱۴٪، ۱۶٪ و ۱۸٪ در تیمار با Put و به ترتیب با میانگین ۲۱/۹۷، ۲۳/۰۷ و ۲۳/۵۲ سانتی متر به دست آمد که به ترتیب نسبت به شاهد در سطوح رطوبتی ۱۴٪، ۱۶٪ و ۱۸٪، ۲۷/۶۵٪، ۱۷/۳۴٪ و ۱۴/۲۸ ٪ افزایش نشان داد.بعلاوه پرایمینگ بذرها با آب باعث افزایش معنی‌داری در طول ساقه چه در دوسطح رطوبتی ۱۴٪ و ۱۶٪ در مقایسه با شاهد (عدم تیمار) گردید، اما در سطح رطوبتی ۱۸٪ افزایش معنی‌داری در مقایسه با شاهد (عدم تیمار) مشاهده نگردید. در هر سه سطح رطوبت بیشترین تأثیر مثبت به ترتیب مربوط به تیمارهای Put، Spm و Spd بود. به طور کلی، بیشترین تأثیر مثبت تیمارهای PAs و پرا یمینگ با آب بر بذرهای برداشت شده با سطح رطوبتی ۱۴٪ بود که بیانگر آن است که تیمارهای PAs بر بذرهای با بنیه پایین تأثیر مثبت بیشتری داشتند و موجب بهبودی و افزایش در کیفیت بذر و در نتیجه رشد ساقه‌چه گیاهچه‌ها شده‌اند، در حالی که تیمارها بر طول ساقه‌چه حاصل از بذرهایی که با رطوبت ۱۸٪ برداشت و بنیه بالاتری نیز داشتند، در مقایسه با دو سطح رطوبتی ۱۴٪ و ۱۶٪ کمتر تأثیرگذار بودند (شکل ۱).

**وزن خشک بخش هوایی گیاهچه‌ها:** وزن خشک بخش هوایی گیاهچه‌ها تحت تأثیر اثرات اصلی رطوبت و تیمارهای PAs قرار گرفت، در حالی که اثرات متقابل رطوبت × تیمارهای PAs بر این صفت معنی‌دار نشد (جدول ۴). بیشترین وزن خشک اندام هوایی با میانگین ۰/۰۲۴۵ گرم از گیاهچه‌های حاصل از بذرهای برداشت شده با رطوبت ۱۸٪ به دست آمد و کمترین وزن خشک اندام هوایی گیاهچه‌ها نیز با میانگین ۰/۰۲۱۵ گرم مربوط به گیاهچه‌های حاصل از بذرهای برداشت شده با رطوبت ۱۴٪ بود. بین گیاهچه‌های حاصل از برداشت با رطوبت ۱۸٪ و ۱۶٪ تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد و گیاهچه‌های حاصل از دو سطح رطوبت ۱۸٪ و ۱۶٪ در مقایسه با بذرهای برداشت شده با رطوبت ۱۴٪، افزایش در وزن خشک اندام هوایی را نشان دادند (جدول ۵). از نظر بررسی اثرات اصلی تیمارهای PAs و پرایمینگ آب بر وزن خشک اندام هوایی نیز، بیشترین وزن خشک اندام هوایی گیاهچه‌ها مربوط به تیمار Put با میانگین ۰/۰۲۸۷ گرم بود. کلیه تیمارهای بذری PAs و تیمار آب موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی گیاهچه‌ها در مقایسه با گیاهچه‌های حاصل از بذرهای شاهد (عدم تیمار) شدند. تیمارهای Put، Spm و Spd نیز از نظر تأثیر بر وزن خشک اندام هوایی با هم تفاوت آماری معنی‌داری را نشان دادند، به طوری که بیشترین تأثیر مثبت به ترتیب مربوط به Put، Spm و Spd بود، تیمار بذرها با آب نیز باعث افزایش معنی‌داری (۱۶/۶٪) در وزن خشک بخش هوایی گیاهچه‌ها در مقایسه با شاهد (عدم تیمار) گردید (جدول ۶).

**وزن خشک ریشه:** اثرات متقابل رطوبت× تیمارهای PAs بر وزن خشک ریشه در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. بیشترین وزن خشک ریشه از گیاهچه‌های حاصل از بذرهای برداشت شده با رطوبت ۱۸٪ و تیمار شده با Put با میانگین ۰/۰۱۴۲ گرم به دست آمد که نسبت به شاهد ۳۲/۷۱٪ افزایش نشان داد. کمترین وزن خشک ریشه‌نیز از گیاهچه‌های حاصل از بذرهای برداشت شده با رطوبت ۱۴٪ و بدون پیش تیمار (شاهد) با میانگین ۰/۰۰۷ گرم به دست آمد (شکل ۲).

بیشترین وزن خشک ریشه در سطوح رطوبتی ۱۴٪، ۱۶٪، و ۱۸٪ در تیمار با Put و به ترتیب با میانگین ۰/۰۱۰۷، ۰/۰۱۲۳ و ۰/۰۱۴۲ گرم به دست آمد که به ترتیب نسبت به بذرهای شاهد (عدم تیمار) در سطوح رطوبتی مورد نظر، ۵۲/۸٪، ۵۸/۴۴٪ و ۳۲/۷۱٪ افزایش نشان داد. در سطح رطوبتی ۱۴٪ و ۱۶٪ آب نیز در مقایسه با شاهد موجب افزایش معنی‌داری در وزن خشک ریشه‌گردید. تیمارهای Put، Spm و Spd به ترتیب دارای بیشترین تأثیر مثبت بر وزن خشک ریشه در هر سه سطح رطوبتی مورد مطالعه بودند. به طور کلی، تیمارهای PAs و پرایمینگ با آب از نظر تأثیر بر وزن خشک ریشه، به ترتیب بیشترین تأثیر مثبت بر گیاهچه‌های حاصل از برداشت با سطوح رطوبتی ۱۶٪، ۱۴٪ و ۱۸٪ را داشتند و تأثیر آن‌ها بر وزن خشک ریشه حاصل از بذرهای با بنیه بالاتر، کمتر بود (شکل ۲).




شکل۲- اثرات تیمارهای PAs و آب بر وزن خشک ریشه تحت رطوبت‌های مختلف بذرجو

Fig.1- Effects of exogenous PAs and water treatments on radicle dry weight under different barley seed moisture content

جدول ۴- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات مورد مطالعه بعد از تیماربذر با پلی آمین ،آب و تنش سرما

Table 4- Analyzes of variance (mean squares) of studied characteristics after seed treatments with PAs and chilling stress

| منبع تغییر S.O.V. | درجه آزادی df | پرولین Prolin | نشت الکترولیت Leakage of electrolyte | طول ساقه Plumule length | وزن خشک اندام هوایی Aerial dry weight | وزن خشک ریشه Radicle dry weight |
|---|---|---|---|---|---|---|
| سطوح رطوبت بذر Seed Moisture Levels (SM) | 2 | $0.379^{ns}$ | $51.22^{**}$ | $24.46^{**}$ | $0.00049^{**}$ | $0.00033^{**}$ |
| تیمار بذر Seed Treatment(ST) | 4 | $47.05^{**}$ | $569.1^{**}$ | $23.50^{**}$ | $0.002^{**}$ | $0.00028^{**}$ |
| تیمار بذر × سطوح رطوبت SM x ST | 8 | $0.229^{ns}$ | $5.76^{ns}$ | $0.824^{**}$ | $0.00006^{ns}$ | $0.00001^{**}$ |
| خطا Error | 45 | 0.272 | 3.35 | 0.242 | 0.000049 | 0.000005 |
| ضریب تغییر (%) c.v. (%) | | 4.82 | 7.00 | 2.37 | 9.51 | 6.78 |

ns، * و** به ترتیب: غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال خطای آماری ۵ و ۱ درصد

ns: not significant * and **: significant at the 5% and1% probability levels, respectively

جدول ۵- مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه بعد از پیش تیمار با پلی آمین ، آب و تنش سرما تحت تأثیر رطوبت اولیه بذر

Table 5- Comparison of means for studied characteristics after seed treatments with PAs, water and chilling stress as affected by seed initial moisture level

| سطوح رطوبت بذر<br>Seed Moisture Level (SM) | نشت الکترولیت<br>Leakage of electrolyte (%) | وزن خشک اندام هوایی (گرم )<br>Aerial dry weight (g) |
|---|---|---|
| 18 | 24.52 c | 0.0245 a |
| 16 | 26.27 b | 0.0240 a |
| 14 | 27.71 a | 0.0215 b |

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

In each column, means with at least one same letter has no significant difference.

جدول۶- مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه بعد از پیش تیمار با پلی آمین و تنش سرما تحت تأثیر تیمار بذری

Table 6- Comparison of means for studied characteristics after seed treatments with PAs and chilling stress as affected by seed treatments

| تیمار بذر<br>Seed treatments | پرولین<br>(میکرو مول بر گرم وزن تازه)<br>Prolin (µ mol/g fresh weight) | نشت الکترولیت<br>Leakage of electrolyte (%) | وزن خشک اندام هوایی (گرم )<br>dry weight Aerial (g) |
|---|---|---|---|
| شاهد<br>Control | 8.51 c | 35.73 a | 0.0181 d |
| آب<br>Water | 8.89 c | 29.96 b | 0.0213 c |
| اسپرمین<br>Spm | 11.98 b | 21.35 d | 0.0258 b |
| پوترسین<br>Put | 12.94 a | 18.42 e | 0.0287 a |
| اسپرمیدین<br>Spd | 11.72 b | 25.37 c | 0.0226 c |

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

In each column, means with at least one same letter has no significant difference.

## بحث و نتیجه‌گیری

در این تحقیق بذرهایی که با رطوبت ۱۸٪ برداشت و سپس، در شرایط انبار سرد ذخیره شده بودند، در مقایسه با سایر سطوح رطوبتی از درصد جوانه‌زنی و بنیه بالاتری برخوردار بودند. گستره زیستی (life span) بذر جزو مهمی از بنیه بذر است که بستگی به وضعیت فیزیولوژیکی بذر، پتانسیل ژنتیکی آن و شرایط دوره انبار دارد. بطوریکه بذرهایی که با رطوبت اولیه ۱۸٪ از گیاه مادری برداشت گردیدند، بنیه خود را بهتر حفظ کردند که این امر ممکن است که مرتبط با افزایش توانایی در مقاومت به خشک شدن از طریق تجمع پروتئین‌های LEA، الیگوساکاریدها و دی ساکاریدها باشد. نتیجه این امر حفاظت از ماکرومولکول‌ها و حالت غشای شیشه‌ای بذر، در مرحله پس از رسیدگی فیزیولوژیکی تا خشک شدن بذر است که در نهایت منجر به بنیه بالاتر بذر می‌گردد

(Leprince *et al*., 2000; Bailly *et al*., 2001; Bailly, 2004)

نتایج حاصله دراین تحقیق مطابق با فرضیه هارینگتون (Harrington, 1972) می‌باشد که با توجه به فرضیه هارینگتون رسیدگی فیزیولوژیکی، مرحله‌ای از نمو بذر است که بذر به حداکثر وزن خشک خود رسیده است (پایان مرحله پر شدن بذر) و مرحله‌ای ازنمو است که بذرها بالاترین قوه زیست و بنیه را دارا هستند و بعد از آن بذرها شروع به فرسوده شدن می‌نمایند. که این نظریه بطور گسترده‌ای پذیرفته شده است (Delouche,1980; Powel *et al*,1984).

در حالی که الیس و رابرتس (Ellis and Roberts,1981) گزارش نمودند که شواهدی از کاهش معنی‌دار درپتانسیل طول عمر و قوه زیست بذرهای جو که بعد از رسیدگی فیزیولوژیکی با فاصله ۷روز برداشت شده بودند، مشاهده نگردید.

بعلاوه در این تحقیق سرعت جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی نهایی بذرهای تیمار شده با PAs، در شرایط نرمال (دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد) در اتاق رشد قبل از تنش سرما نیز به طور معنی‌داری افزایش یافت که بیانگر تأثیر مثبت PAs بر بهبود کیفیت بذر از طریق ترمیم بافت‌های فرسوده و آسیب دیده است، به طوری که منجر به افزایش در بنیه بذر و درصد جوانه‌زنی نهایی آن‌ها گردیده است. پرایمینگ بذر نه تنها از طریق آغاز کردن فرآیندهای مرتبط با جوانه‌زنی، بلکه از طریق تقویت ظرفیت گیاهچه‌ها در سازگاری و پاسخ مناسب به تنش‌های محیطی طی دوره استقرار گیاهچه، بر رشد آن‌ها تأثیرگذار است که این امر مرتبط با پروتئین‌های ذخیره‌ای و mRNAs است که نقش خود را قبل از خروج ریشه‌چه و در مرحله جذب آب توسط بذر (lag fase,II) نشان داده‌اند. با توجه به این امر، پایداری mRNAs ذخیره‌ای مهم‌ترین عامل تعیین‌کننده بنیه بذر است، به طوری که مکانیسم ترمیم زود هنگام مهم‌ترین احتمال برای شرح اثرات مفید حاصل از تیمارهای پرایمینگ بذر است (Rajjou *et al*.,2012). تنش سرما طی دوره جوانه‌زنی و نمو گیاهچه‌ها سرعت رشد گیاهچه را محدود می‌کند. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که پیش تیمار بذرهای ذرت با Put موجب بهبود مقاومت به سرمای بذرها و گیاهچه‌های حاصل از آن‌ها گردیده است (Cao *et al*., 2008).

در تحقیق حاضر رشد گیاهچه‌ها، وزن خشک بخش هوایی و همچنین وزن خشک ریشه‌چه در شرایط سرما به وسیله تیمارهای PAs به ویژه Put و پرایمینگ با آب بهبود یافت. به علاوه، وزن خشک بخش هوایی گیاهچه‌ها به وسیله تیمارهای PAs به ویژه Put در مقایسه با سایر صفات از جمله طول گیاهچه و وزن خشک ریشه‌چه در شرایط تنش، بیشتر افزایش یافت. در شرایط تنش سرما وزن خشک اندام هوایی گیاهچه‌ها بیشتر تحت تأثیر تیمارهای PAs به ویژه Put طی دوره رشد بوده است و بعد از آن، به ترتیب رشد ریشه‌چه و طول گیاهچه بیشترین تأثیرپذیری را از تیمارهای PAs داشتند.

ورما و میشرا (Verma and Mishra, 2005) طی تحقیقی بر نوعی کلزا (*Brassica juncea* L.) بیان نمودند، که Put موجب افزایش درفعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و بهبود در وضعیت کاراتنوئیدها درشرایط تنش شوری گردید، که از این طریق ازپراکسیداسیون غشاء وتغییرماهیت بایومولکول‌ها[1] جلوگیری می‌شود. که نتیجه آن بهبود در رشد گیاهچه تحت شرایط تنش شوری بوده است. نتایج مشابهی توسط Todorova و همکاران (Todorova *et al*., 2012) نیزگزارش شده است، که اثرات منفی ناشی از سرما بر رشد گیاهچه‌های گندم بوسیله پلی‌آمین‌ها بویژهDETA و Spm کاهش یافت.

کاربرد تیمارپوترسین منجربه ترمیم و قابلیت رشد مجدد در ریشه‌های برنج، تحت تنش سرما گردید (Lee *et al*.,1997). یافته‌های مشابهی بیشتری برای تأثیر مثبت پلی‌آمین‌ها برمحصولات مختلف در شرایط تنش سرما گزارش گردیده است که مؤید نتایج این تحقیق است (Nadeau, 1987; Alexieva, 1994 a,b;

[1] biomolecules

(Rácz *et al*.,1996; Nayyar, 2005; Zhang *et al*., 2009).

تجمع پرولین آزاد به طور مکرر در گیاهانی که در معرض تنش‌های محیطی بوده‌اند، مشاهده گردیده است که با افزایش مقاومت به سرما (سخت شدن[1]) در گیاهان همراه است (Rai, 2002; Sãules and Braun, 2001; Todorova *et al*., 2012). نقش‌های احتمالی پیشنهاد شده برای پرولین آزاد در مقاومت به سرما در گیاه، از حفاظت از غشای سلولی (Parvanova *et al*., 2004; Todorova *et al*., 2012) تا تنظیمات آنزیمی بیان شده است (Stefl *et al*., 1987).

نتایج به دست آمده در این تحقیق بیانگر این است که تیمارهای PAs موجب افزایش محتوای پرولین و کاهش نشت الکترولیت گیاهچه‌های جو در شرایط تنش سرما شدند که تأثیر مثبت آن‌ها بر محتوای پرولین و کاهش نشت الکترولیت‌ها، به ویژه در تیمار Put نمایان‌تر بود. بیشترین تأثیر مثبت تیمارهای PAs بر میزان پرولین گیاهچه‌ها به ترتیب مربوط به Put، Spm و Spd بود. بعلاوه تیمار پرامینگ با آ ب نیز باعث کاهش در نشت الکترولیت‌ها بعد از تنش سرما گردید، که بیانگر تأثیر مثبت آب در بهبود بنیه، وضعیت غشاء سلولی و حفاظت از گیاهچه‌ها می‌باشد.

اسیدهای آمینه آزاد و پلی آمین‌ها در چندین فرآیند متابولیکی مهم سهم دارند، همچنین در حفاظت در مقابل تنش‌های غیر زنده دخیل هستند (Kocsy *et al*., 2011b). بطوریکه در این تحقیق گیاهانی که میزان پرولین بالاتری داشتند، از رشد و بنیه بالاتری نیز برخوردار بودند که به اثرات حفاظتی و اسمزی این اسید آمینه در شرایط تنش سرما بر می‌گردد.

ازتورک و دمیر (Öztürk and Demir, 2003) گزارش کردند که کاربرد خارجی پلی آمین‌ها موجب افزایش میزان پرولین، به عنوان یک تنظیم کننده مهم اسمزی گردید که موافق با نتایج به دست آمده در این تحقیق است.

نشت الکترولیت‌ها نیز به طور گسترده‌ای به عنوان شاخصی از آسیب غشایی بعد از تنش‌های مختلف از جمله سرما و یخزدگی، مورد استفاده قرار می‌گیرد (Parvanova *et al*.,2004). در مطالعه حاضر، حداکثر نشت الکترولیت‌ها در گیاهچه‌های حاصل از بذرهای بدون تیمار (شاهد) و برداشت شده با رطوبت ۱۴ درصد و با میانگین ۲۷/۷۱٪ مشاهده گردید که بیانگر این امر است که بذرهای اولیه در هنگام کاشت از بنیه پایین‌تری برخوردار بوده‌اند.

کلیه تیمارهای بذری PAs و آب موجب کاهش نشت الکترولیت‌ها گردیدند. اثر مثبت تیمار Put در مقایسه با سایر تیمارها بیشتر بود. اسپرمیدین، در مقایسه با Put و Spm دارای تأثیر مثبت کمتری بود. به نظر می‌رسد که تحت تنش سرما در رقم مورد آزمایش، Put در مقایسه با سایر تیمارها از نظر تأثیر بر پایداری غشای سلول‌ها مؤثرتر بوده است ونشان‌دهنده این امر است که غشاهای سلولی گیاهچه‌های جو حاصل از بذرهای تیمار شده با پلی آمین ، به وسیله تنش سرما آسیب جدی و عمده‌ای ندیده‌اند. این اثر شاید ناشی از ثبات غشاها و اجزای سازنده سلولی به موجب ترکیب پلی آمین‌ها با گروه‌های با بار منفی از فسفولیپیدهای غشا باشد. ویژگی زدایندگی رادیکال‌های آزاد در پلی آمین‌ها می‌تواند درحفاظت در مقابل سرما موثر باشد (Ha *et al*., 1998; Zhang *et al*., 2009).

تودوروا و همکاران (Todorova *et al*., 2012) گزارش کردند که کاربرد پلی‌آمین‌ها موجب کاهش نشت الکترولیت‌ها در گندم گردید که بیانگر آن است که همه ترکیبات پلی آمینی (Spm, Put, Spd, DETA) یکنواختی غشا را در گندم تحت تنش سرما حفظ و موجب کاهش نشت الکترولیت شده است. کاربرد خارجی PAs می‌تواند به طور مؤثری نشت الکترولیت‌ها و افزایش محتوای MDA را فرو نشانند (Zhang *et al*., 2009). همچنین، نقش تنظیم‌کننده پلی آمین‌ها از طریق بیان ژنی که آنزیم آرژینین دی‌کربوکسیلاز (ADC) را کد می‌کند، گزارش شده

[1] Hardening

است. نتیجه این امر افزایش غلظت پوترسین و تنظیم چندین ژن است که فاکتورهای نسخه‌برداری مرتبط با تنش‌های غیر زیستی را کد می‌کنند (Alcázar *et al*., 2005). با توجه به تغییر سطوح نسخه‌برداری، ممکن است که ADC نقش غالب را در سنتز پوترسین در دمای پایین ایفا کند (Kocsy *et al*., 2011). بیشترین پاسخ معمول مرتبط با متابولیسم PAs در شرایط تنش سرما افزایش تدریجی Put است که با یافته‌های این پژوهش مطابقت دارد (Guye *et al*., 1986; Nadeau *et al*., 1987; Rácz *et al*., 1996; Szalai *et al*., 1997, 2009; Kim *et al*., 2002; Németh *et al*., 2002; Oufir *et al*., 2008). ولی، شدت این پاسخ مرتبط با شدت تنش است، به طوری که تغییر سطوح PAs بستگی به زمینه ژنتیکی گیاهانی دارد که در معرض تیمار سرما قرار می‌گیرند (Szalai *et al*., 2009; Oufir *et al*., 2008; Guye *et al*., 1986; Pillai and Akiyama, 2004).

## نتیجه کلی

این آزمایش نشان داد که پلی آمین‌ها و پرایمینگ با آب قادر هستند که از گیاهچه‌های جو در مقابل تنش سرما حمایت کنند و مانع از دست رفتن وزن و رشد گیاه شوند و بقای گیاه را تحت شرایط سرما موجب گردند. تیمار با پلی آمین منجر به رشد بیشتر و نسبت بقای بیشتر در مقایسه با گیاهان شاهد (عدم پیش تیمار بذر) گردید. به طور کلی، کارآمدترین ترکیب Put بود که نقش آن در بیشتر صفات مورد مطالعه قابل توجه بود. بذرهای جو که با رطوبت ۱۷-۱۸٪ برداشت می‌شوند، اگر در انبار با فضا و تهویه مناسب ذخیره شوند، بعد از یک دوره انبارداری کوتاه مدت به تعادل رطوبتی با محیط انبار می‌رسند و درانبارداری بلند مدت (۹-۱۲) کاهش معنی‌داری در بنیه آن‌ها رخ نخواهد داد، بطوریکه برداشت در این محدوده رطوبتی برای بذرهایی‌که در حجم (تناژ) کم تولید و فضای کافی برای انبارداری دارند، بویژه در طبقات پرورشی و مادری که در ایستگاهای تحقیقاتی کشور تولید می‌شوند، قابل توصیه است. چراکه اگر تناژ بذر بالا و فضای انبار ناکافی و فاقد تهویه مناسب باشد، بذرها بعلت گرمای بالا ایجاد شده در فضای انبار و رطوبت، دچار کپک زدگی و بنیه آنها کاهش می‌یابد. بعلاوه پیش تیمار بذر نیز بهتر است که در اواخر دوره انبارداری و حداقل یک ماه قبل از اتمام دوره انبارداری صورت گیرد تا با تأثیر مثبت و کارآمد بر سرعت، بنیه و همزمانی جوانه‌زنی بذرها بر شرایط نامساعد مزرعه به ویژه سرما، خشکی و شوری فایق آید.

## منابع

## References

**Alcázar, R., J.L. García-Martínez, J.C. Cuevas, A.F. Tiburico, and T.Altabella. 2005.** Overexpression of ADC2in Arabidopsis induces dwarfism and late flowering through GA deficiency. Plant .J. 43:425-436.

**Alexieva, V.1994a.** Chemical structure-plant growth regulation activity of some naturally occurring and synthetic aliphatic amines.Compt.Rend.Acad.Bulg.Sci. 47:79-82.

**Alexieva, V.1994b.** Effect of exogenous Putrescine and its synthetic structural analogues on leaf senescence.Compt. Rend.Acad. Bulg. Sci. 47:57-60.

**Bailly, C. 2004.** Active oxygen species and antioxidants in seed biology. Seed Sci. Res. 14:93-107.

**Bailly, C., C. Audigier, F. Ladonne, M.H. Wagner, F. Coste, F. Corbineau, and D. Côme. 2001.** Changesin oligosaccharide content and antioxidant enzyme activities in developing bean seeds as related to acquisition of drying tolerance and seed quality. Journal of Experimental Botany. 52: 701-708.

**Bates, L. S., R. P. Waldren, and I. D.Teare. 1973.** Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil .39: 205-207

**Basra, A.S., B. Singh, and C.P. Malik, 1994.** Priming-in duced changes in polyamine levels in relation to vigor of aged onion seeds. Bot. Bull. Academia Sinica. 35:19-23.

**Cao, D.D., J. Hu, C.H. Gao, Y.J.Guan, S. Zhang, and J.F. Xiao. 2008.** Chilling tolerance of maize (*Zea mays* L.) can be improved by seed soaking in Putrescine.Seed Sci. Technol. 36:191-197.

**Chinnusamy, V., J. Zhu, and J.K. Zhu. 2007.** Cold stress regulation of gene expression in plants. Trends Plant Sci. 12:444-451.

**Delouche, J.C.1980.** Environment effects on seed development and seed quality. Hort Sci. 15:775-780.

**Ellis, R.H. and E.H. Roberts.1981.** An investigation into the possible effects of ripeness and repeated threshing on barley seed longevity under six different storage environments. Ann. Bot. 48:93-96.

**FAO. FAOSTAT. 2013.** Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available from: http://faostat.fao.org/faostat, 2013.

**Farooq, M., M. Shahzad, A.Basra, H. Rehman, and M. Hussain. 2008.** Seed Priming with Polyamines Improves the Germination and Early Seedling Growth in Fine Rice. Journal of New Seeds. 9: 145-155

**Farooq, M., T. Aziz, and H.U. Rehman. 2011.** Evaluation surface drying and re-drying for wheat seed priming with polyamines: effects on emergence,early seedling growth and starch metabolism. Acta Physiol Plant. 33:1707-1713.

**Groppa, M.D., and M.P Benavides. 2008.** Polyamines and abiotic stress: recent advance. Amino Acids. 34:35-45.

**Guye, M.G., L.Vigh, and J.M.Wilson.1986.** Polyamines titer in relation to chilling sensitivity in Phaseolus sp.J. Exp. Bot. 37:1036-1043.

**Ha, H.C., Sirisoma, N.S. Kuppusamy, P. Zweller, J.L. Woster, P.M. Casero, and R.A.Jr.1998.** The natural polyamine spermine functions as a free radical scavenger. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95:11140-11145.

**Harrington, J.F. 1972.** Seed storage and longevity. Pp.145-245. In T.T. Kozlowski. (ed). Seed biology.Vol.III. New York, Academic Press.

**Hosseini, N.M. 2006.** Cereals Production, 1rd Edition. Nakshe meher, Tehran. (In Persian).

**ISTA. 2013.** ISTA Handbook on Seedling Evaluation, 3rd Ed. Int. Seed Testing Association, Zurich, Switzerland.

**Kasinathan, V. and Wingler, A. 2004.**Effect of reduced arginine decarboxylase activity on salt tolerance and on polyamine formation during salt stress in *Arabidopsis thaliana*. Physiol. Plantarum 121:101-107.

**Janská, A., P. Maršík, S. Zelenková, and J. Ovesná. 2010.** Cold stress and acclimation-what is important for metabolic adjustment. Plant Biol .12:395-405.

**Kim, T.E., S.K. Kim, T.J. Han, J.S. Lee, and S.C. Chang. 2002.** ABA and polyamines act independently in primary leaves of cold–stressed tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). Physiologia Plantarum.115:370-376.

**Kocsy, G., M. Pal, A. Soltész, G. Szalai, Á. Boldizsár, and V. Kovács. 2011.** (a) Low temperature and oxidative stress in cereals. Acta Agronomic Hungarica. 59: 169-189

**Kocsy, G., L. SimonSarkadi, Z. Kovács, Á. Boldizsár, C. Sovány, K. Kirch, and aG. Galiba. 2011.** (b) Regulation of free amino acid and polyamine levels during cold acclimation in wheat. Acta Biologica Szegediensis. 55:91-93.

**Kuzenetsov, V.V., and N.I. Shevyakova. 2007.** Polyamines and Stress Tolerance of Plants. Plant Stress. 1:50-71.

**Lee, S.H., A.P. Singh, G.C. Chung, Y.S.Kim, and I.B. Kong. 2002.** Chilling root temperature causes rapid ultra structural changes in cortical cells of cucumber (*Cucumis sativus* L.) root tips.J. Exp. Bot. 53:2225-2237.

**Lee, T.M., H.S. Lur, and C. Chu. 1997.** Role of abscisic acid in chilling tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) seedling.II. Moudulation of free polyamine levels. Plant Sci. 126:1-10.

**Leprince, O., F.J.M. Harren, J. Buitink, M. Alberda, and F.A. Hoekstra. 2000.** Metabolic dysfunction and unabated respiration precede the loss of membrane integrity during dehydration of germination radicles. Plant Physiol.122:597-608.

**Liu, N., Y.B. Gao, C.X. Jia, and A.Z. Ren. 2000.** Changes in POD Activity,free proline content and cytomembrane permeability of Loium multiflorum leaves under different levels of osmotic stress. Plant Physiol. Commun. 36:11-14.

**Monroy, A.F., A. Dryanova, B. Malette, D.H. Oren, F.M. Ridha, W. Liu, J.Danyluk, L.W. Ubayasena, K. Kane, G.J. Scoles, F. Sarhan, and P.J. Gulick. 2007.** Regulatory gene candidates and gene expression analysis of cold acclimation in winter and spring wheat. Plant Mol. Biol. 64:409-423.

**Nadeau, P., S. Delaney,and L. Chouinard. 1987.** Effects of cold hardening on the regulation of polyamine levels in wheat (*Tritcum aestivum* L.) and alfalfa (*Medicago sativa* L.). Plant Physiol. 84:73-77.

**Nayyar, H. 2005.** Putrescine increases floral retention,pod set and seed yield in cold stressed chickpea. J. Agron. Crop Sci. 191:340-345.

**Németh, M., T. Janda, E. Horváth, E. Páldi, and G. Szalai. 2002.** Exogenous salicylic acid increases polyamine content but may decrease drought tolerance in maize. Plant Sci. 162:569-574.

**Oufir, M., S. Legay, N. Nicot, K.Van Moer, L. Hoffmann, J. Renaut, J.F. Hausman, and D. Evers. 2008.** Gene expression in potato during cold exposure: Changes in carbohydrate and polyamine metabolisms. Plant Sci. 175:839-852.

**Öztürk, L., and Y. Demir. 2003.** Effects of Putrescine and ethephon on some oxidative stress enzyme activities and proline content in salt stressed spinach leaves. Plant Growth Regul. 40:89-95.

**Parvanova, D., S. Ivanov, T. Konstantinova, E. Karanov, A. Atanassov, T. Tsvetkov, V. Alexieva, and D. Djilianov. 2004.** Transgenic tobacco plants accumulating osmolytes show reduced oxidative damage under freezing stress, Plant Physiol. Biochem. 42:57-63.

**Pillai, M.A., and T. Akiyama.2004.** Differential expression of an S-adenosyl-L-methionone decarboxylase gene involved in polyamine biosynthesis under low temperature stress in japonica and indica rice genotypes. Mol. Genetics and Genomics. 271:141-149.

**Powell, A.A., S. Matthews, and M. De A. Oliveira.1984.** Seed quality in grain legumes. Advances in Appl. Biol.10:217-285.

**Prasad, T.K., M.D. Anderson, B.A. Martin, and C.R. Stewart. 1994.** Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedling and a regulatory role for hydrogen peroxide. Plant Cell, 6:65-74.

**Rai,V.K. 2002.** Role of amino acids in plant responses to stresses. Biol. Plant. 45:481-487.

**Rácz, I., M. Kovács, D. Lásztity, O.Veisz, G.Szalai, and E. Páldi. 1996.** Effect of short-term and long-term low temperature stress on polyamine biosynthesis in wheat genotypes with varying degrees of frost tolerance.J. Plant Physiol. 148:368-373.

**Rajjou, L., M. Duval, K. Gallardo, J. Catusse, J. Bally, C. Job, and D. Job. 2012.** Seed Germination and Vigor. Annu. Rev. plant Biol. 63:507-33.

**Sãulescu, N.N., and H.J.Braun. 2001.** Coldtolerance. pp.111_123.In: Reynolds, M.P., Ortiz Monasterio, J.I., McNab, A (eds.), Application of physiology in wheat Breeding. CIMIT, Mexico D.F., Mexico.

**Stefl, M., I. Trcka, and P.Vratny. 1978.** Proline biosynthesis in winter plants due to exposure to low temperatures. Biol. Plant. (Prague) 20:119-128.

**Szalai, G., T. Janda, T. Bartók, and E. Páldi. 1997.** Role of light in changes in free amino acid and polyamine contents at chilling temperature in maize (*Zea mays*).Physiol. Plant. 101:434-438.

**Szalai, G., M. Pap, and T. Janda, 2009.** Light-induced frost tolerance differs in winter and spring wheat plants. J. plant Physiol. 166:1826-1831.

**Tekrony, D.M., and D.B. Egli 1997.** Accumulation of seed vigour during development and maturation. In: Ellis RH, Black M, Murdoch AJ, Hong TD, eds. Basic and applied aspects of seed biology. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.30:369-384.

**Todorova, D., I. Sergiev, and V. Alexieva. 2012.** Application of natural and synthetic polyamines as growth regulators to improve the freezing tolerance of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) Acta Agronomica Hungarica. 60: 1-10.

**Verma, S. and S.N. Mishra. 2005.** Putrescine alleviation of growth in salt stressed *Brassica juncea* by inducing antioxidative defense System. J. Plant Physiol. 162:669-77.

**Xiong, L., K.S. Schumaker, and J.K. Zhu. 2002.** Cell signaling during cold, drought, and salt stress. Plant Cell. 14: S165-S183.

**Xu, S., J.Hu, Y. Li, W. Ma, Y. Zheng, and S. Zhu. 2011.** Chilling tolerance in Nicotiana tabacum induced by seed priming with Putrescine.Plant Growth Regul., 63: 279-290.

**Walters, C., D. Ballesteros, and V.A. Vertucci. 2010.** Structural mechanics of seed deterioration: standing the test of time. Plant Sci.179:565-73.

**Zhang, W., B. Jiang, W. Li, H. Song, Y.Yu, and J. Chen. 2009.** Polyamines enhance chilling tolerance of cucumber (*Cucumis sativus* L.) through modulating antioxidative system. Sci. Hortic. 122:200-208.