

اثر آماده‌سازی بذر گندم با اسید جیبرلیک و براسینواستروئید بر شاخص‌های جوانه‌زنی و صفات فیزیولوژیک بذر در شرایط پیری تسریع شده

سعید موری^۱، حمیدرضا عیسوند^{۲*}، احمد اسماعیلی^۳ و شهریار ساسانی^۴

۱. دکترای فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان

۲. دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان

۳. دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان

۴. استادیار بخش تحقیقات زراعی باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی کرمانشاه، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمانشاه، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۲/۲۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۶/۱۹)

چکیده

جوانه‌زنی و تولید گیاهچه نقش مهمی در تولید گیاهان زراعی دارد. این مرحله به شدت تحت تأثیر کیفیت بذر قرار می‌گیرد. در این آزمایش اثر پیش‌تیمار بذر با اسید جیبرلیک و براسینواستروئید در بذرهای زوال یافته گندم (*Triticum aestivum* L.) مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۵ انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل پیری بذر (پیر نشده و پیر شده) و پیش‌تیمار بذر با اسید جیبرلیک و براسینواستروئید بود. از تیمارهای بدون پرایمینگ و هیدروپرایمینگ به‌عنوان شاهد استفاده شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل پیری تسریع شده در پرایمینگ بر درصد جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه، نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه، سرعت جوانه‌زنی، میانگین جوانه‌زنی روزانه و شاخص جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد و بر طول ریشه‌چه، سرعت جوانه‌زنی روزانه و ضریب سرعت جوانه‌زنی در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود ولی بر طول گیاهچه و میانگین زمان جوانه‌زنی معنی‌دار نبود. همچنین نتایج نشان داد که پیری تسریع شده به‌طور معنی‌داری پروتئین محلول گیاهچه را کاهش داده و در مقابل سبب افزایش معنی‌داری در محتوای مالون دی‌آلدهید، قند محلول و پرولین شد. در این پژوهش بهترین پیش‌تیمار برای بهبود ویژگی‌های جوانه‌زنی بذرهای پیر شده و پیر نشده گندم، استفاده از اسید جیبرلیک بود.

واژه‌های کلیدی: اسمولیت‌های سازگار، پرایمینگ، تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، زوال بذر

Effects of seed preparation with gibberellic acid and brassinosteroid on germination indices and physiological traits after accelerated aging

S. Moori¹, H.R. Eisvand^{2*}, A. Ismaili³ and Sh. Sasani⁴

1. PhD student of crop physiology, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Iran.

2. Associate professor, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Iran.

3. Associate professor, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Iran.

4. Assistant professor, Horticulture Crops Research Department, Kermanshah Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Kermanshah, Iran.

(Received: May. 15, 2017– Accepted: Sept. 10, 2017)

Abstract

Germination and seedling production have an important role in crop production. This stage is influenced by quality of the seed strongly. Seed priming with gibberellic (GA₃ 100 ppm) acid and brassinosteroid (BR 100 ppm) on deteriorated wheat (*Triticum aestivum* L) seeds were studied. A factorial experiment based on a completely randomized design with three replications was conducted in 2016. Treatments were seed aging (non-aged and accelerated aged) and seed pretreatment with GA₃ and BR. No priming and hydro priming also were used as controls. Analysis of variance showed that the interaction of accelerated aging and priming was significant for germination percentage, plumule length, R/P length, germination rate, MDG, and GI; and for radicle length, DGS and CVG at 5% level. However, on the seedling length and mean germination time was not significant. The results showed that accelerated aging significantly reduced the soluble protein in seedlings and in turn caused a significant increase in malondialdehyde, soluble sugar, and proline content. The results showed that, the germination characteristics were improved under GA₃ treatment.

Keywords: Compatible osmolyte, priming, plant growth regulators, seed deterioration

* Email: eisvand.hr@lu.ac.ir

توسط پرایمینگ با سرعت کمتر پراکسیداسیون لیپیدها همراه است (Rouhollah, 2013; Saglam *et al.*, 2010). محققان بسیاری بهبود جوانه‌زنی و سبز شدن در بذور پرایم شده را گزارش کرده‌اند (Nasri *et al.*, 2011; Nawaz *et al.*, 2012; Yuan *et al.*, 2010).

با توجه به اثرات مثبت تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، این پژوهش باهدف بررسی تأثیر اسید جیبرلیک و براسینواستروئید روی شاخص‌های جوانه‌زنی و صفات فیزیولوژیک بذور زوال یافته گندم به‌عنوان محصولی استراتژیک، انجام شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار در آزمایشگاه بذور دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان اجرا شد. بذور مورد استفاده گندم رقم پیشتاز بود که متحمل به خشکی، نسبتاً دیررس، تا حدودی حساس به خوابیدگی بوته و با عملکرد بالا است. بذرها با هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت ۳ دقیقه ضدعفونی شده و سپس به مدت ۳۰ ثانیه در الکل ۹۶ درصد قرار داده شدند.

پیری تسریع شده

برای اعمال پیری تسریع شده، مقدار ۲۰ گرم بذور در دمای 40 ± 1 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۱۰۰ درصد به مدت ۷۲ ساعت قرار گرفت (Delouche and Baskin, 1973).

پرایمینگ هورمونی

برای پیش‌تیمار بذرها با هورمون‌ها، ۲۵ گرم از بذرها در محلول‌هایی با غلظت ۳۵ میلی‌مولار از اسید جیبرلیک (GA3) و ۵۰ میلی‌مولار از براسینواستروئید (24-epi brassinolide) در دمای ۲۱ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۲ ساعت قرار داده شدند (Khan *et al.*, 2011). از هیدروپرایمینگ و تیمار بدون پرایمینگ نیز به‌عنوان

مقدمه

بذرها در طی دوره انبارداری زوال پیدا می‌کنند که در نهایت منجر به کاهش کیفیت آن‌ها می‌گردد (McDonald, 1999). زوال بذور قدرت بذور را که اولین جزء از کیفیت آن است کاهش می‌دهد و به دنبال آن ظرفیت جوانه‌زنی و قوه نامیه نیز کاهش نشان می‌دهد. فرسودگی یا پیری بذور به فرآیند از دست رفتن کیفیت بذور با گذشت زمان اطلاق می‌شود که توانایی بذور برای زنده ماندن را کاهش می‌دهد. پیری بذور یک خصوصیت ناخواسته در کشاورزی است و سبب کاهش محصول دانه و ضرر اقتصادی می‌شود. زوال بذور باعث کاهش درصد جوانه‌زنی، ظهور گیاهچه‌های ضعیف، از دست دادن قدرت بذور و نهایتاً مرگ بذور می‌گردد (Tilebeni and Golpayegani, 2011). آزمون پیری تسریع شده به‌عنوان یک آزمون مناسب جهت پیش‌بینی توان انبارداری و همچنین آزمون برای برآورد بنیه بذور غلات شناخته شده است. پیری بذور می‌تواند سبب کاهش قابلیت حیات و کاهش قدرت جوانه‌زنی بذور گردد (McDonald, 1999; Bewely, 2013).

پرایمینگ می‌تواند نرخ و درصد جوانه‌زنی را افزایش داده و حتی آن را تحت شرایط تنش‌ها بهبود بخشد. پرایمینگ بذور عمدتاً از طریق تأثیر بر متابولیسم، بیوشیمی و فعالیت‌های آنزیمی بذور می‌تواند سبب کارایی بهتر فرایندهای بیولوژیک بذور نظیر جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه گردد. تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی اثرات واضح و مشخصی بر جوانه‌زنی و مقاومت بذرها در برابر شرایط نامساعد محیطی دارند. تا به حال اثرات تیمار پرایمینگ بر جوانه‌زنی و مقاومت به شرایط نامساعد نظیر تنش اکسیداتیو در مطالعه بسیاری نشان داده شده است (Dashtman *et al.*, 2014; Hussain *et al.*, 2013).

پیش‌تیمار می‌تواند جوانه‌زنی بذور پیر شده را بهبود بخشد (Eisvan *et al.*, 2016). بهبود توانایی جوانه‌زنی بذرها

n_i = تعداد بذور جوانه‌زده در روز i ام

D_i = تعداد روز پس از آزمایش

$$MDG = \frac{GP}{D} \quad (۴) \quad \text{میانگین جوانه‌زنی روزانه}$$

D = طول دوره آزمایش

$$DGS = \frac{1}{MDG} \quad (۵) \quad \text{سرعت جوانه‌زنی روزانه}$$

$$GI = \sum(N_i \times T_i) / N \quad (۶) \quad \text{شاخص جوانه‌زنی}$$

N_i = تعداد بذرهاى جوانه‌زده در هر روز

T_i = شماره روز که از روز اول تا روز آخر جوانه‌زنی

ادامه دارد

N = تعداد کل بذرهاى جوانه‌زده

$$CVG = \frac{\sum n}{\sum (t \times n)} \times 100 \quad (۷) \quad \text{ضریب سرعت جوانه‌زنی}$$

n = تعداد بذور جوانه‌زده در روز

t = زمان

اندازه‌گیری‌های فیزیولوژیک

تعیین میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا به روش پیشنهاد شده توسط دی وس و همکاران (De Vos *et al.*, 1991) و از طریق اندازه‌گیری مالون دی آلدئید به‌عنوان فرآورده نهایی پراکسیداسیون لیپیدی انجام گرفت. جهت استخراج و اندازه‌گیری پروتئین‌های محلول و قندهای محلول نیز به ترتیب از روش‌های برادفورد (Bradford, 1976) و دبیوس و همکاران (Dubois *et al.*, 1956) استفاده شد. همچنین محتوای پروتئین از روش بیتز و همکاران (Bates *et al.*, 1973) اندازه‌گیری شد.

آنالیز آماری

محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 انجام شد و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد. میانگین‌ها نیز با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند.

شاهد استفاده شد. برای اعمال تیمار هیدروپرایمینگ بذرها به مدت ۱۲ ساعت در ظروف حاوی ۵۰۰ سانتیمتر مکعب آب مقطر قرار گرفتند. بذرها بعد از خروج از محلول‌های تیماری به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند تا به رطوبت اولیه خود بازگردند (Artola *et al.*, 2003).

شاخص‌های جوانه‌زنی

تعداد ۵۰ بذر از هر تیمار به پتری دیش‌هایی با قطر ۹ سانتیمتر منتقل شدند. آزمون جوانه‌زنی استاندارد در سه تکرار و در دمای 1 ± 21 درجه سانتی‌گراد به مدت هفت روز انجام شد (Khan *et al.*, 2011). بذرها به‌صورت روزانه شمارش و تعداد بذرهاى جوانه‌زده ثبت و در پایان روز آخر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، شاخص بینه گیاهچه، ضریب سرعت جوانه‌زنی، شاخص جوانه‌زنی و متوسط زمان جوانه‌زنی محاسبه شدند.

ظهور ریشه‌چه به طول دو میلی‌متر به‌عنوان معیار جوانه‌زنی بذر در نظر گرفته شد. پس از اتمام اجرای آزمون جوانه‌زنی، شاخص‌های جوانه‌زنی شامل درصد جوانه‌زنی (Ikic *et al.*, 2012)، سرعت جوانه‌زنی (Agrawal, 2004)، متوسط زمان جوانه‌زنی (Ellis and Roberts, 1981)، شاخص جوانه‌زنی (Ikic *et al.*, 2012)، سرعت جوانه‌زنی روزانه (Stephanie *et al.*, 2005)، میانگین جوانه‌زنی روزانه (Hoogenboom and Peterson, 1987) و ضریب سرعت جوانه‌زنی (Kotowski, 1926) محاسبه شد.

$$GP = \frac{\text{تعداد کل بذرهاى جوانه زده پس از هفت روز}}{\text{تعداد کل بذرها}} \quad (۱) \quad \text{درصد جوانه‌زنی}$$

$$MGT = \frac{\sum_{i=1}^k n_i t_i}{\sum_{i=1}^k n_i} \quad (۲) \quad \text{میانگین زمان جوانه‌زنی}$$

t = تعداد روز پس از کشت

k = آخرین روز جوانه‌زنی

n_i = تعداد بذور جوانه‌زده در روز i ام

$$GR = \sum_{i=1}^j \frac{n_i}{D_i} \quad (۳) \quad \text{سرعت جوانه‌زنی}$$

نتایج و بحث

شاخص‌های جوانه‌زنی

اثر پیری تسریع شده بر کلیه شاخص‌های جوانه‌زنی به جز طول ریشه‌چه، معنی‌دار بود ($P \leq 0/01$). همچنین اثر پرایمینگ نیز بر شاخص‌های ذکر شده (به جز طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، طول گیاهچه و شاخص وزنی بینه گیاهچه) در سطح احتمال یک درصد ($P < 0/01$) و بر میانگین زمان جوانه‌زنی در سطح پنج درصد ($P < 0/05$) معنی‌دار شد. اثر متقابل پیری تسریع شده در پرایمینگ بر همه شاخص‌های مورد مطالعه به جز طول گیاهچه و میانگین زمان جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد ($P < 0/01$) و بر طول ریشه‌چه، سرعت جوانه‌زنی روزانه و ضریب سرعت جوانه‌زنی در سطح احتمال پنج درصد ($P < 0/05$) معنی‌دار شد (جدول‌های ۱ و ۳). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در تیمار پیری تسریع شده و بدون پرایمینگ کمترین میزان شاخص‌های جوانه‌زنی وجود داشت. اما زمانی که بذرها پیر شده در شرایط پرایمینگ قرار داده شدند این شاخص‌ها افزایش پیدا کرد (جدول‌های ۲ و ۴). به طوری که درصد جوانه‌زنی در تیمار پرایمینگ با اسید جیبرلیک به ۹۸/۳۷ در شرایط نرمال و ۶۷/۲۲ درصد در شرایط زوال رسید (شکل ۱). در این پژوهش پیری تسریع شده به طور معنی‌داری شاخص‌های جوانه‌زنی را تحت تأثیر قرارداد و در مجموع باعث کاهش کیفیت بذور گردید. در عین حال تیمار پرایمینگ، کیفیت بذرها پیر شده را بهبود بخشید. کاهش جوانه‌زنی در بذرها پیر شده می‌تواند به دلیل کاهش فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیک و محتوای کربوهیدرات‌ها باشد. کاهش درصد جوانه‌زنی در بذرها زوال یافته گندم گزارش شده است (Eisvand *et al.*, 2016; Bailly *et al.*, 2002).

در مطالعات پیشین عیسوند و همکاران (Eisvand *et al.*, 2010) گزارش کردند که پرایمینگ هورمونی بذرها علف گندمی می‌تواند منجر به بهبود جوانه‌زنی بذر زوال یافته و متعاقباً استقرار بهتر گیاهچه

گردد. کاهش جوانه‌زنی، طول ریشه، طول ساقه، وزن خشک گیاهچه و شاخص بینه با زوال بذر ممکن است ناشی از آسیب به آنزیم‌ها، غشا، پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها و تغییرات مخرب این‌چنینی باشد که منتج اختلال غشاء و ارگان‌های سلول می‌شود. افزایش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه گندم و جو را در اثر پرایمینگ مشاهده شد این افزایش احتمالاً به علت تحریک فعالیت‌های متابولیک در داخل جنین است. برای مثال در هنگام پرایمینگ همانندسازی DNA، تحریک فعالیت RNA و در نتیجه پروتئین‌سازی، ترمیم غشای سلولی و افزایش غلظت هورمون‌های محرک جوانه‌زنی صورت می‌گیرد (Rouhollah, 2013).

کاهش در سرعت جوانه‌زنی به دلیل وقفه‌ای است که در شروع فرآیند جوانه‌زنی در بذرها پیر شده ایجاد می‌شود (Bailly *et al.*, 2002). علت وقفه ایجاد شده احتمالاً این است که بذرها برای ترمیم خسارت‌های وارد شده به غشاء و دیگر قسمت‌های سلول، همچنین آغاز مجدد فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانت و جلوگیری از بروز تنش اکسیداتیو نیاز به زمان دارد و ترمیم این خسارت‌ها فقط پس از جذب آب توسط بذر امکان‌پذیر است. افزایش مدت‌زمان جوانه‌زنی در بذرها فرسوده در تحقیقات دیگر نیز گزارش شده است (Verma *et al.*, 2003; Bailly *et al.*, 2000).

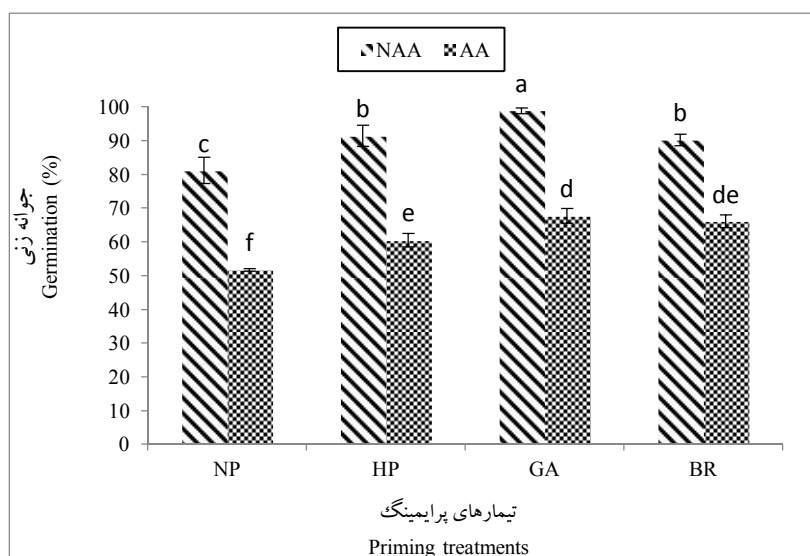
پیری بذر باعث کاهش جوانه‌زنی و افزایش متوسط زمان جوانه‌زنی بذور می‌گردد و پرایمینگ باعث کاهش اثر پیری می‌شود. پرایمینگ سبب افزایش ضریب سرعت جوانه‌زنی میانگین جوانه‌زنی روزانه، سرعت جوانه‌زنی روزانه و به طور کل شاخص جوانه‌زنی می‌شود. بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی بر اثر پرایمینگ در گیاهان مختلف گزارش شده است (Parmoon *et al.*, 2014; Farooq *et al.*, 2013).

جدول ۱- آنالیز واریانس مربعات آنالیز واریانس اثر پیری تسریع شده و پرایمینگ بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر و گیاهچه‌های گندم
Table 1- Analysis of variance (mean squares) of effect of accelerated aging and priming on wheat seed germination and seedling indices

منابع تغییر S.O.V.	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	طول ریشه‌چه Radicle L	طول ساقه‌چه Plumule L	طول گیاهچه Seedling L	نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه R/P
پیری تسریع شده Accelerated aging	1	188.70**	290.19 ^{ns}	1.005**	3.30**	303.18**
پرایمینگ Priming	5	5.71**	1271.36 ^{ns}	0.024 ^{ns}	0.05 ^{ns}	4.93**
پیری × پرایمینگ AA × P	5	7.02**	1253.32*	0.090**	0.03 ^{ns}	2.51**
خطا Error	22	1.77	451.64	0.021	0.09	0.81
ضریب تغییرات CV (%)		14.28	19.94	14.13	12.22	14.10

ns, **, *, indicating non-significant and significant at 1% and 5, respectively.

ns, **, *, indicating non-significant and significant at 1% and 5, respectively.



شکل ۱- اثر پرایمینگ بر درصد جوانه‌زنی بذرهای پیر نشده و پیر شده گندم.

ستون‌های دارای حرف یکسان براساس آزمون LSD اختلاف معنی داری باهم ندارند ($p < 0.05$). (NP، پرایم نشده؛ HP، هیدروپرایمینگ؛ GA، غلظت ۳۵ میلی مولار اسید جیبرلیک؛ BR، غلظت ۵۰ میلی مولار براسینواستروئید؛ NA، پیر نشده؛ AA، پیری تسریع شده).

Figure 1- Effect of priming treatments on aged and non-aged wheat seeds. Columns with same letter had not significant differences, according to LSD, $p < 0.05$. (NP, non-primed; HP, hydropriming; GA, priming with GA3 35 mM; BR, priming with brassinosteroid 50 mM; NA, non-aged seed; AA, accelerated aging seed).

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل پیری تسریع شده و پرایمینگ بر شاخص‌ها جوانه‌زنی و گیاهچه گندم

Table 2- Comparison the interaction of accelerated aging and priming on germination and seedling indices of wheat

پیری Accelerated aging	پرایمینگ Priming	طول ریشه‌چه Root L (cm)	طول ساقه‌چه Plumule L (cm)	طول گیاهچه Seedling L (cm)	نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه R/P
NAA	NP	10.4d	12.1cd	22.5bc	0.86bc
	HP	12.0b	13.5b	25.5b	0.88b
	GA	12.8a	14.5a	27.3a	0.88b
	BR	11.1c	13.9ab	25.0b	0.80c
AA	NP	7.8h	8.4f	16.2d	0.93a
	HP	9.7e	12.2cd	21.9bc	0.79c
	GA	8.7fg	11.3de	20.0c	0.77d
	BR	9.2ef	10.8e	20.0c	0.85bc

در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آماری بر اساس LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی داری ندارند.

In each column, means with a common letter are not statistically significant at the 5% level according to LSD.

جدول ۳- میانگین مربعات آنالیز واریانس اثر پیری تسریع شده و پرایمینگ بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر گندم

Table 3- Analysis of variance (mean squares) of effect of accelerated aging and priming on wheat seed germination indices

منابع تغییر S.O.V.	درجه آزادی Df	میانگین زمان جوانه‌زنی MTG	سرعت جوانه‌زنی GR	میانگین جوانه‌زنی روزانه MDG	سرعت جوانه‌زنی روزانه DGS	شاخص جوانه‌زنی GI	ضریب سرعت جوانه‌زنی CVG
پیری تسریع شده AA	1	150.36**	48.46**	57.28**	3.50**	472.27**	9795514.05**
پرایمینگ Priming	5	5.75*	7.66**	14.70**	0.06**	7.67**	219484.06**
پیری × پرایمینگ AA × Priming	5	3.18 ^{ns}	13.07	15.11**	0.02*	3.89**	68078.02*
خطا Error	22	150.36**	0.33	54.77	3.50**	472.27**	9795514.05**
ضریب تغییرات CV (%)		13.99	7.88	7.69	3.92	13.60	12.40

ns, **, *, indicating non-significant and significant at 1% and 5, respectively.

ns, **, *, indicating non-significant and significant at 1% and 5, respectively.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل پیری تسریع شده و پرایمینگ بر شاخص‌ها جوانه‌زنی بذر گندم

Table 4- Comparison of aging and priming interaction for wheat seed germination indices

پیری Aging	پرایمینگ P	میانگین زمان جوانه‌زنی MTG	سرعت جوانه‌زنی GR	میانگین جوانه‌زنی روزانه MDG	سرعت جوانه‌زنی روزانه DGS	شاخص جوانه‌زنی GI	ضریب سرعت جوانه‌زنی CVG
پیر نشده NAA	NP	2.5d	10.1d	10.1e	0.099f	22.7d	0.35d
	HP	2.3f	11.9c	11.7c	0.086h	27.9c	0.41b
	GA	2.1g	11.6c	12.3a	0.081i	32.6a	0.38c
	BR	2.3f	15.0a	11.9b	0.084h	29.4bc	0.42b
پیر شده AA	NP	2.9a	4.6h	7.5i	0.134a	11.6f	0.20g
	HP	2.9a	5.0gh	7.7h	0.130b	12.5f	0.21g
	GA	2.7c	6.0ef	8.5f	0.118e	15.7e	0.25e
	BR	2.8bc	6.4e	8.3fg	0.12cd	14.9e	0.24ef

در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آماری بر اساس LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی داری ندارند.

In each column, means with a common letter are not statistically significant at the 5% level according to LSD.

شاخص‌های فیزیولوژیک

اثر زوال بذر بر محتوای مالون دی آلدهید معنی دار بود ($P \leq 0/01$) (جدول ۵). محتوای مالون دی آلدهید در شرایط زوال بذر نسبت به تیمار شاهد بیشتر بود. بیشترین میزان محتوای مالون دی آلدهید در شرایط نرمال و زوال از تیمار بدون پرایمینگ گزارش شد و کمترین میزان محتوای مالون دی آلدهید نیز در شرایط نرمال و زوال به ترتیب در تیمارهای براسینو استروئید و اسید جیبرلیک بدست آمد (شکل ۲). در این پژوهش تنظیم کننده‌های رشد گیاهی باعث کاهش محتوای مالون دی آلدهید شد که به علت کاهش اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد و حفاظت از غشا توسط آن می‌باشد که بدین وسیله از صدمه اسیدهای چرب غیر اشباع و کاهش نفوذپذیری غشا جلوگیری می‌کنند (Qi et al., 2010). پراکسیداسیون لیپیدها با آزاد شدن رادیکال‌های آزاد اکسیژن آغاز می‌شود. تولید رادیکال‌های آزاد باعث خسارت به محتوای سلولی مانند غشاهای لیپیدی پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها در طی حالت سکون و جوانه‌زنی بذر می‌شوند (McDonald, 1999).

محتوای متابولیت پرولین در شرایط پیری به شکل معنی داری افزایش یافت ($P < 0/01$) (جدول ۵). بذره‌های پرایم شده کاهش معنی داری در محتوای پرولین خود در مقایسه با تیمار بدون پرایمینگ نشان دادند ($P < 0/01$) (شکل ۲). انباشتگی پرولین ممکن است برای تنظیم اسمزی در سطح سلولی ادامه پیدا کند. تجمع پرولین در شرایط تنش‌زا باعث افزایش فشار اسمزی درون سلولی می‌شود که خود یک از ساز و کارهای مقاومت به تنش‌های اکسیداتیو در گیاهان است. پرولین یک قسمت بسیار مهم در واکنش‌های محافظتی در گندم در پاسخ به استرس‌ها است که در کاهش اثرات مضر تنش‌ها شرکت می‌کند و فرایندهای ترمیمی را در طول دوره بروز تنش‌های اکسیداتیو تسریع می‌بخشد (Kuznetsov and Shevyakova, 1999).

محتوای پروتئین محلول به شکل معنی داری تحت

تأثیر اثرات متقابل پیری تسریع شده و پرایمینگ قرار گرفت ($P < 0/05$) (جدول ۵). زوال بذر باعث کاهش در محتوای پروتئین محلول گیاهچه‌های گندم گردید. بیشترین میزان محتوای پروتئین محلول در شرایط نرمال و زوال در تیمار پرایمینگ با اسید جیبرلیک مشاهده شد (شکل ۲). مطابق با پژوهش‌های پیشین اضمحلال پروتئین‌ها می‌تواند به دلیل افزایش فعالیت پروتئاز و یا دیگر آنزیم‌های کاتابولیک باشد که در شرایط تنش فعال می‌شوند و یا به دلیل تکه تکه شدن پروتئین‌ها به دلیل اثرات سمی رادیکال‌های آزاد اکسیژن باشد که نهایتاً منجر به کاهش محتوای پروتئین می‌شود (Ishimaru et al., 2001). کاهش غلظت پروتئین یک شاخص و نشانه معمول در تنش‌های اکسیداتیو است. محتوای پروتئین محلول یکی از مهمترین شاخص‌های خسارت به پروتئین‌ها در متابولیسم گیاهان، دنا توره شدن پروتئین‌ها و سایر فرآیندهای متابولیکی در گیاهان است (Shao et al., 2006).

محتوای قندهای محلول نیز به طور معنی داری تحت تأثیر زوال بذر و اثرات متقابل آن با پیش تیمار هورمونی قرار گرفت ($P < 0/01$) (جدول ۵). محتوای قندهای محلول با اعمال تیمار زوال بذر در بذره‌های پرایم شده و نشده افزایش یافت. بیشترین مقدار قندهای محلول در شرایط زوال و بدون زوال از تیمار بدون پرایمینگ گزارش شد. بذره‌های پرایم شده در مقایسه با بذره‌های پرایم نشده محتوای قندهای محلول کمتری را دارا بودند (شکل ۲). مهمترین عامل افزایش قندهای محلول می‌تواند تخریب کربوهیدرات‌های نامحلول می‌باشد که نهایتاً منجر به افزایش قندهای محلول می‌گردد. افزایش در قندهای محلول نظیر منوساکاریدها و دی ساکاریدها به‌عنوان ترکیبات اسمزی در شرایط تنش رخ می‌دهد و حفاظت از پروتئین‌ها در برابر خسارات تنش اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن در این شرایط مهم می‌باشد (Hamid et al., 2008; Ashraf and Harris, 2004).

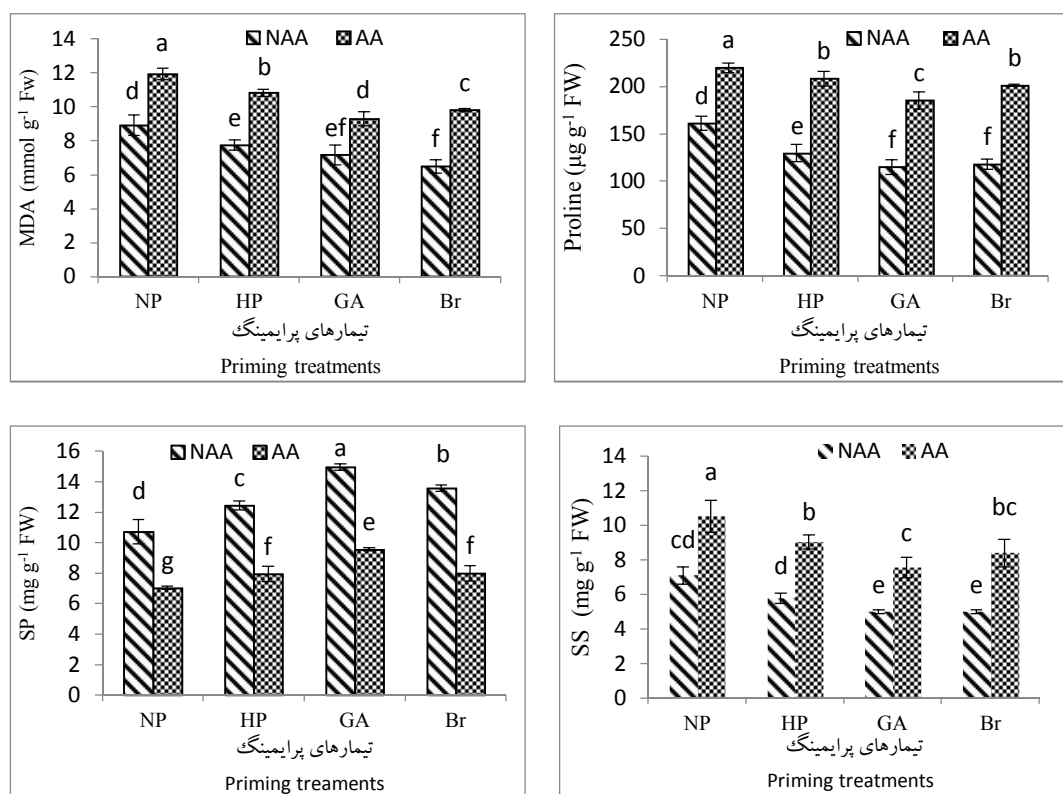
جدول ۵- میانگین مربعات آنالیز واریانس اثر پیری تسریع شده و پرایمینگ بر شاخص‌های فزیولوژیک گیاهچه‌های گندم

Table 5- Analysis of variance (mean squares) of accelerated aging and priming effects on wheat seedling physiological traits

منابع تغییر	درجه آزادی	مالون دی آلدئید	پرولین	پروتئین محلول	قند محلول
S.O.V.	df	Malondialdehyde	Proline	Soluble protein	Soluble sugar
پیری تسریع شده AA	1	1086.80**	323.44**	10377238.59**	1827.80**
پرایمینگ Priming	5	73.16**	4.97**	326569.38**	55.22**
پیری × پرایمینگ AA × Priming	5	39.56**	1.16*	170580.31*	24.13**
خطا Error	22	10.83	0.39	67080.51	4.30
ضریب تغییرات CV (%)		5.67	6.05	15.57	10.42

ns, **, *, indicating non-significant and significant at 1% and 5, respectively.

ns, **, *, indicating non-significant and significant at 1% and 5, respectively.



شکل ۲- اثر پیری و پرایمینگ بذر بر محتوای مالون دی آلدئید (MAD)، پرولین، پروتئین‌های محلول (SP) و قندهای محلول (SS) گیاهچه گندم ستون‌های دارای حرف یکسان براساس آزمون LSD اختلاف معنی داری باهم ندارند ($p < 0.05$). (NP، پرایم نشده؛ HP، هیدروپرایمینگ؛ GA، غلظت ۳۵ میلی مولار اسید جیبرلیک؛ BR، غلظت ۵۰ میلی مولار براسینواستروئید؛ NA، پیر نشده؛ AA، پیری تسریع شده).

Figure 2- Effect of aging and priming treatments on malondialdehyde (MDA), proline, soluble protein (SP) and soluble sugar (SS) of wheat seedling. Columns with common letter had not significant differences, according to LSD, $p < 0.05$. (NP, non-primed; HP, hydropriming; GA, priming with GA₃ 35 mM; BR, priming with brassinosteroid 50 mM; NA, non-aged seed; AA, accelerated aging seed).

نرمال و پیری تسریع شده استفاده از پیش‌ تیمار بذر ها با تنظیم‌کننده‌های رشد سبب افزایش جوانه‌زنی و بهبود کیفیت گیاهچه‌های گندم گردید. اعمال پرایمینگ به‌طور کلی بر تمامی شاخص‌های گیاهچه ای اندازه‌گیری شده در این پژوهش چه در شرایط زوال و چه عدم زوال بذر تأثیر مثبت داشت. اطلاعات حاضر نشان می‌دهد بذرهایی که پرایمینگ هورمونی روی آن‌ها انجام شد می‌تواند کیفیت فیزیولوژیک مناسب‌تری نیز داشته باشند. بهبود کیفیت بذر در شرایط پرایمینگ را می‌توان به کاهش پراکسیداسیون لیپیدها نسبت داد. پیش تیمار بذر با جیبرلیک اسید متابولیسم قندها را افزایش داده و سبب افزایش محتوای پرولین و پروتئین شده است. در مجموع می‌توان گفت در بذور زوال یافته گندم مناسب‌ترین پیش تیمار جهت بهبود راندمان بذر و گیاهچه، استفاده از جیبرلیک اسید است. اثرات مثبت پرایمینگ با جیبرلیک اسید می‌تواند به دلیل بهبود ساختار غشا، بهبود درصد و سرعت جوانه‌زنی در گیاهچه باشد.

جیبرلیک اسید یکی از مهم‌ترین مواد تنظیم‌کننده رشد در فرآیند جوانه‌زنی بذر ها می‌باشد. محل عمل جیبرلیک اسید در فرآیند جوانه‌زنی بذر ها، اندوسپرم یا لپه می‌باشد. براسینواستروئید نیز با کاهش اثرات سوء رادیکال‌های آزاد در بذر نقش مؤثری در بهبود جوانه‌زنی ایفا می‌کند. بهبود شرایط جوانه‌زنی و رشد بهتر گیاهچه پس از پیش تیمار با براسینواستروئیدها می‌تواند به دلیل تقسیم سلولی بهتر و همچنین طول شدن سلولی پس از کاربرد آن‌ها باشد (Sharma *et al.*, 2015; Xie and Wang, 2011). به طور کلی پرایمینگ بذور باعث بهبود سرعت جوانه‌زنی و یکنواختی جوانه‌زنی و کاهش حساسیت بذور به عوامل محیطی می‌گردد. پرایمینگ با توسعه فاز دو از سه فاز جوانه‌زنی یا از طریق کوتاه نمودن مدت زمان سوخت‌وساز باعث تسریع جوانه‌زنی می‌شود و سنتز پروتئین و DNA افزایش یافته و هم‌چنین برفسفولیپیدهای سلول غشایی تأثیرگذار می‌باشد (Bradford, 1995).

به‌عنوان نتیجه نهایی می‌توان اشاره نمود که در شرایط

References

منابع

- Agrawal, O.P. 2004. A general formulation and solution scheme for fractional optimal control problems. *Nonlinear Dyn.* 38: 323-337.
- Artola, A.G., G.D. Carrillo-Castaneda, and L. Santos. 2003. Hydropriming: a Strategy to increase *Lotus corniculatus* L. seed vigor. *Seed Sci. Technol.* 31: 455-463.
- Ashraf, M. and P. Harris. 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Sci.* 166: 3-16.
- Bailly, C., R. Bogatek-Leszczynska, D. Come, and F. Corbineau. 2002. Changes in activities of antioxidant enzymes and lipoxygenase during growth of sunflower seedlings from seeds of different vigour. *Seed Sci. Res.* 12: 47-55.
- Bates, L.S., R.P. Walderd, and I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil.* 39: 205-208.
- Bewley, J.D., K. Bradford., H. Hilhorst, and H. Nonogaki. 2013. *Seeds: physiology of development, germination and dormancy.* New York, NY, USA: Springer.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein-dye binding. *Annu. Rev. Biochem.* 72: 248-254.
- Bradford, K.J. 1995. Water relations in seed germination. *Seed Dev. Germination.* 1: 351-396.

- Dashtmian, F., P. Hosseini, M.K., and M. Esfahani. 2014.** Improving rice seedling physiological and biochemical processes under low temperature by seed priming with salicylic. *International J. Plant. Animal. Environ. Sci.* 4: 565–572.
- Delouche, J.C, and C.C. Baskin. 1973.** Accelerated ageing technique for predicting relative storability of seed lots. *Seed Sci. Technol.* 1: 427-452.
- De Vos, C., H. Schat, M. De Waal, R.Vooijs, and W. Ernst. 1991.** Increased to copper-induced damage of the root plasma membrane in copper tolerant *Silene cucubalus*. *Plant Physiol.* 82:523-528.
- Dubois, M., K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P. Rebers, and F. Smith. 1956.** Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28: 350-356.
- Eisvand, H.R., R. Tavakkol-Afshari, F. Sharifzadeh, H. Maddah Arefi, and S. Hesamzadeh Hejazi. 2010.** Effects of hormonal priming and drought stress on activity and isozyme profiles of antioxidant enzymes in deteriorated seed of tall wheatgrass (*Agropyron elongatum* Host). *Seed. Sci. Technol.* 38: 280-297.
- Eisvand, H.R., S. Moori, A. Ismaili, and S. Sasani. 2016.** Effects of late-season drought stress on physiology of wheat seed deterioration: changes in antioxidant enzymes and compounds. *Seed Sci. Technol.* 44(2): 1-15.
- Ellis, R., and E. Roberts. 1981.** The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. *Seed. Sci. Technol.* 9: 373-409.
- Farooq, M., M. Irfan, T. Aziz, I. Ahmad, and S.A. Cheema. 2013.** Seed priming with ascorbic acid improves drought resistance of wheat. *J. Agron. Crop. Sci.* 199: 12–22.
- Goel, A., A.K. Goel, and I.S. Sheoran. 2003.** Changes in oxidative stress enzymes during artificial aging in Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) seeds. *Plant Physiol.* 160:1093-1100.
- Hamid, M., M.Y. Ashraf, and M. Arashad. 2008.** Influence of salicylic acid seed priming on growth and some biochemical attributes in wheat grown under saline conditions. *Pak. J. Bot.* 40(1): 361-367.
- Hoogenboom, G., and C.M. Peterson. 1987.** Shoot growth rate of soybean as affected by drought stress. *Agron. J.* 79(4): 598-607.
- Hsu, C.C., C.L. Chen, J.J. Chen, and J.M. Sung. 2003.** Accelerated aging enhanced lipid peroxidation in bitter gourd seeds and effects of priming and hot water soaking treatments. *Sci. Hort.* 98: 201-212.
- Hussain, I., R. Ahmad, M. Farooq, and A. Wahid. 2013.** Seed priming improves the performance of poor quality wheat seed. *Int. J. Agric. Biol.* 15: 1343–1348.
- Ikic, I., M. Maricevic, S. Tomasovic, J. Gunjaca., Z. Satovic, and H. Sarcevic. 2012.** The effect of germination temperature on seed dormancy in Croatian-grown winter wheats. *Euphytica*, 188: 25-34.
- Ishimaru, K., N. Kobayashi, K. Ono, M. Yano, and R. Ohsugi. 2001.** Are contents of rubisco, soluble protein and nitrogen in flag leaves of rice controlled by the same genetics? *J. Exp. Bot.* 52: 1827-1833.
- ISTA. 2013.** International Rules for Seed Testing (Bassersdorf, Zurich).
- Khan, M.B., M.A. Gurchani, M. Hussain, S. Freed, and K. Mahmood. 2011.** Wheat seed enhancement by vitamin and hormonal priming. *Pak. J. Bot.* 43: 1495-1499.
- Kotowski, F. 1926.** Temperature relation to germination of vegetable seed. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 23: 179–184.
- Kuznetsov, V.V, and N.I. Shevyakova. 1999.** Proline under stress: Biological role, metabolism and regulation. *Rus. J. Plant. Physiol.* 46: 274-287.
- McDonald, M.B. 1999.** Seed deterioration: physiology, repair and assessment. *Seed Sci. Technol.* 27: 177-237.
- Nasri, N., R. Kaddour, H. Mahmoudi, O. Baatour, N. Bouraoui, and M. Lachaâl. 2011.** The effect of osmopriming on germination, seedling growth and phosphatase activities of lettuce under saline condition. *Afr. J. Biotechnol.* 10, 14366–14372.
- Nawaz, A., M. Amjad, M.M. Jahangir, S.M. Khan, H. Cui, and J. Hu. 2012.** Induction of salt tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds through sand priming. *Aust. J. Crop Sci.* 6: 1199–1203.

- Parmoon, Gh., A. Ebadi, S. Jahanbakhsh, and M. Davari. 2014.** Effect of seed priming by salicylic acid on the physiological and biochemical traits of aging milk thistle (*Silybum marianum*) seeds. *Electrical J. Crop. Prod.* 7(4): 223-234.
- Qi, F.G., H., Wang, and X. Liu. 2010.** Effect of MeJA on Contents of endogenous hormones in wheat seedling under cold stress. *Plant Physiol. Commun.* 46: 1155- 1158.
- Rouhollah, A. 2013.** Drought stress tolerance of barley (*Hordeum vulgare* L.) affected by priming with PEG. *Int. J. Farm. Allied Sci.* 2 (20): 803–808.
- Saglam, S., S. Day, G. Kaya, and A. Gürbüz. 2010.** Hydropriming increases germination of lentil (*Lens culinaris* Medik.) under water stress. *Not. Sci. Biolog.* 2 (2): 103–106.
- Shao, H.B., L.Y. Chu, M.A. Shao, C. Abdul Jaleel, and M. Hong-Mei. 2008.** Higher plant antioxidants and redox signaling under environmental stresses. *Com. Ren. Biol.* 331: 433-441.
- Sharma, I., J.R. Bhardwaand, and P.K. Pati. 2015.** Exogenous application of 28-homobrassinolide modulates the dynamics of salt and pesticides induced stress responses in a neliterice variety PusaBasmati-1. *J. Plant Growth Regul.* 34: 509–518.
- Stephanie, E.B., V.P. Svoboda. A.T. Paul, and W.V.I. Marc. 2005.** Controlled drought affects morphology and anatomy of *Salvia solendens*. *Hort. Society.* 130(5): 775-781.
- Tilebeni, H., and A. Golpayegani. 2011.** Effect of seed ageing on physiological and biochemical changes in rice seed (*Oryza sativa* L.). *Int. J. Agric. Sci.* 1: 138-143.
- Verma, S., U. Verma, and R. Tomer. 2003.** Studies on seed quality parameters in deteriorating seeds in Brassica (*Brassica campestris*). *Seed Sci. Technol.* 31: 389-396.
- Xie, L., C. Yang and X. Wang. 2011.** Brassinosteroids can regulate cellulose biosynthesis by controlling the expression of CESA genes in Arabidopsis. *J. Exp. Bot.* 62: 495–506.
- Yuan-Yuan, S., S. Yong-Jian, W. Ming-Tian, L. Xu-Yi, G. Xiang, H. Rong, and M. Jun. 2010.** Effects of seed priming on germination and seedling growth under water stress in rice. *Acta Agron. Sci.* 36 (11): 1931–1940.
- Zeng, Y., J. Yu, J. Cang, L. Liu, Y. Mu, J. Wang, and D. Zhang. 2011.** Detection of sugar accumulation and expression levels of correlative key enzymes in winter wheat (*Triticum aestivum*) at low temperatures. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 75: 681-687.

