"نشریه علوم و فناوری بذر ایران"
جلد نهم، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹
(ص ۱۷-۱)
مقاله پژوهشی

Iranian Journal of
Seed Science and Technology
Vol.: 9, No.: 2, Summer 2020
(pp: 1-17)
DOI: 10.22034/ijsst.2019.121357.1187
Research Article

پاسخ‌های فیزیولوژیکی-بیوشیمیایی بذور زوال یافته بادام زمینی به پیش‌تیمار پراکسیدهیدروژن تحت تنش خشکی

حسین رضا روحی[1]، علی سپهری[2*]

۱. دانش آموخته دکتری زراعت، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا ، همدان
۲. دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان
(تاریخ دریافت:۱۳۹۷/۰۱/۲۲؛ تاریخ پذیرش:۱۳۹۷/۱۲/۱۴)

چکیده

زوال بذر یکی از عوامل مهم کاهنده کیفیت فیزیولوژیکی بذراست که در شرایط نامساعد محیطی خسارت آن شدت می‌یابد. اثر پراکسیدهیدروژن در بهبود وضعیت فیزیولوژیکی و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان بذور زوال یافته بادام زمینی تحت تنش خشکی طی آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار بررسی شد. پیش‌تیمار پراکسید هیدروژن در غلظت‌های صفر(هیدروپرایمینگ)، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومولار و سطوح خشکی صفر، ۰/۴-، ۰/۶- و ۰/۸- مگاپاسکال مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که پیش‌تیمار بذور با پراکسیدهیدروژن در سطوح مختلف خشکی موجب افزایش درصد جوانه زنی، سرعت جوانه‌زنی، بنیه بذر، طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، کربوهیدرات‌های محلول، پروتئین‌های محلول و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز و کاهش متوسط زمان جوانه‌زنی، هدایت الکتریکی ومحتوای مالون دی‌آلدهیدشد. در پتانسیل ۰/۸- مگاپاسکال، پیش‌تیمار بذور با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن سبب افزایش سرعت جوانه زنی، شاخص بنیه بذر، کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌های محلول به‌ترتیب به‌میزان ۲۷/۸۹، ۹۳/۲۴، ۱۲/۴۲، ۴۶/۷۱و۲۷/۰۶، ۷۶/۷۳، ۰۴/۲۶، ۵۱/۳۰ درصد و همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز به‌ترتیب به میزان ۲۶/۳۷، ۳۹/۰۷،۸/۷۹ و ۱۵/۴۳، ۵/۲۸، ۲۲/۵۱ درصد شد. بنابراین استفاده از ۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن جهت کاهش اثرات منفی ناشی از زوال در تنش خشکی قابل توصیه است.

کلمات کلیدی: بادام زمینی، پراکسیدهیدروژن، تنش خشکی، زوال بذر

Physiological-biochemical responses of aged groundnut seeds to hydrogen peroxide priming during drought stress

H.R. Rouhi[1], A. Sepehri[2*]

1. Ph.D in Agronomy, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan.
2. Associate professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan.
(Received: Apr. 11, 2018 – Accepted: Mar. 05, 2019)

Abstract

Seed deterioration is an important factor in reducing of physiological seed quality that it increased the severity of damage in adverse environmental conditions.The effects of hydrogen peroxide to improve physiological and antioxidant enzyme activities in aged groundnut seeds under drought stress were studied. A factorial experiment based on completely randomized design with three replications was done. Priming of different concentrations of hydrogen peroxide (0, 50, 100 and 150 µM) under 0, -0.4, -0.6 and -0.8 MPa drought stress levels were evaluated. The results showed that seed priming with hydrogen peroxide in different drought levels increased some traits such as germination percentage, germination rate, vigour index, plumule and radicle length, soluble carbohydrates and protein contents and antioxidant enzymes activities (catalase, ascorbate peroxidase and superoxide dismutase). While it decreased mean germination time, electrical conductivity and malondialdehyde content in comparison to nonprime seeds. So seed priming with 50 and 100µM of hydrogen peroxide in -0.8 MPa level increased germination rate, vigor index , soluble carbohydrates and proteins, respectively by 27.89, 93.24, 71.42, 46.12, 27.06, 76.73, 30.26 and 51.04% compared to nonprimed seeds. Also, it increased activity of catalase, superoxide dismutase and ascorbate peroxidase, respectively by 26.37, 8.79, 39.07, 15.43, 5.28 and 21.51% compared to non-primed seeds. Therefore, the use of 50 mM hydrogen peroxide to reduce the negative effects caused by deterioration in drought stress is recommended.

Key words: Groundnut, hydrogen peroxide, drought stress, seed deterioration

* Email: a_sepehri@basu.ac.ir

مقدمه

بادام زمینی (*Arachis hypogaea* L.) گیاهی است بوته‌ای و یکساله که متعلق به خانواده لگوم‌ها می‌باشد. بذر بادام زمینی به دلیل داشتن پروتئین، روغن و ویتامین‌های مختلف، منبعی غنی جهت تغذیه انسان محسوب می‌شود (Nautiyal, 2009). بذر بادام زمینی دارای ۴۰ تا ۵۰ درصد روغن بوده واز اسیدهای چرب اشباع مانند استئاریک، پالمتیک و اسیدهای چرب غیراشباع مانند لینوئیک تشکیل شده است (Nautiyal, 2009). اکسیداسیون سریع اسیدهای چرب ماندگاری بذرها را به‌شدت کاهش داده و منجربه زوال سریع بذر در شرایط انبار می‌گردد (Nautiyal, 2009; Hou *et al.*, 2014). زوال بذر کیفیت فیزیولوژیکی بذر را تحت تاثیر قرار داده و افت قوه نامیه و بنیه بذر از پیامدهای بعدی آن محسوب می‌گردد (Hou *et al.*, 2014). از سوی دیگر خشکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزنده است که فرآیندهای جوانه‌زنی، رشد و عملکرد گیاهان را به‌میزان قابل توجهی کاهش می‌دهد (Jisha *et al.*, 2013). خشکی با ایجاد تنش اکسیداتیو در سلول‌های گیاهی سبب افزایش گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species) می‌گردد (Sharma *et al.*, 2013). گونه‌های فعال اکسیژن در هر دو فُرم رادیکالی و غیر رادیکالی سبب آسیب به اندامک‌های سلولی،پروتئین‌ها، چربی‌ها،کربوهیدرات‌ها، اسیدهای نوکلئیک و غشای سلول شده که در نهایت منجربه مرگ سلول‌های گیاه می‌شوند (Sharma *et al.*, 2013). پراکسیدهیدروژن (H_2O_2) به‌عنوان مولکولی پیام‌رسان در پاسخ به محرک‌های محیطی در سلول‌های گیاهی شناخته شده که به‌طور طبیعی در کلروپلاست، میتوکندری و پراکسیزوم‌ها تولید می‌شود و نقشی پیچیده و انکارناپذیر در حفظ هموستازی سلول دارد (Qiao *et al.*, 2014). پراکسیدهیدروژن قادراست به‌طورمستقیم ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش‌های زنده و غیرزنده را فعال نموده و دامنه وسیعی از پاسخ‌های مولکولی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیک را به‌عنوان یک واسطه در مسیرهای سیگنالی القا نماید (Moller and Sweetlove, 2010; Qiao *et al.*, 2014). لو و همکاران (Lu *et al.*,2009) گزارش کردند بهبود سیستم آنتی اکسیدانی مرغ (*Cynodon dactylon*) درنتیجه کاربرد اسید آبسیزیک، ناشی از القای ژن‌های بیان کننده آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز توسط پراکسیدهیدروژن است. باربا-اسپین و همکاران (Barba-Espin *et al.*, 2011) اظهار داشتند پراکسیدهیدروژن به‌عنوان یک مولکول سیگنالی نقش حیاتی درآغاز فرآیند جوانه‌زنی نخود فرنگی (*Pisum sativum*) برعهده دارد زیرا سبب ایجاد تغییراتی ویژه در سطوح هورمون‌ها، پروتئوم‌ها و رونویسی ژن‌ها می‌شود. از این‌رو، پراکسیدهیدروژن یک مولکول مهم پیام‌رسان درافزایش تحمل به تنش‌های محیطی از طریق افزایش بیان ژن‌های دفاعی گیاهان شناخته شده که از گیاهان در برابر بسیاری از تنش‌ها محافظت می‌نماید. کاربرد مقادیرخارجی پراکسیدهیدروژن در بهبود رشد و نموگیاه پنبه(*Gossypium hirsutum*) تحت تنش خشکی گزارش شده است (Santhy *et al.*, 2014). هی و همکاران(He *et al.*, 2009) اظهار داشتند پیش‌تیمار بذور گندم با پراکسیدهیدروژن سبب بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و بنیه گندم (*Triticum aestivum*) در شرایط خشکی و تنش اکسیداتیو شده است. آن‌ها همچنین اذعان داشتند ترکیب مذکور در مسیر آبشارهای سیگنالی سلول در نقش پیام‌رسان ثانویه ظاهر شده و افزایش تحمل به تنش خشکی را درنتیجه بهبود پروتئین‌های دفاعی، فاکتورهای رونویسی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سبب می‌شود. باربا-اسپین و همکاران (Barba-Espin *et al.*, 2012) بیان داشتند پیش‌تیمار بذور نخود فرنگی با پراکسیدهیدروژن، باعث بهبود درصد جوانه‌زنی، طول گیاهچه و وزن تر گیاهچه شده است. این آزمایش به بررسی اثر پراکسیدهیدروژن در تقویت جوانه‌زنی، بنیه بذر و سایر خصوصیات فیزیولوژیکی-بیوشیمیایی بذرهای زوال یافته بادام زمینی در شرایط تنش خشکی پرداخته است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا انجام شد. بذر بادام زمینی مورد استفاده در این تحقیق، رقم کارولینا شمالی۲ (North Carolina 2) بود و قوه نامیه آن‌ها طبق آزمون جوانه‌زنی استاندارد ۹۵ درصد تعیین شد. پیر کردن بذرها با استفاده از آزمون پیری زودرس (Accelerated Aging Test) انجام گرفت. به این منظور بذرها به‌مدت ۹۶ ساعت روی توری‌های فلزی در ظروف مخصوص قرار گرفتند و به ژرمیناتور با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی حدود ۱۰۰درصد انتقال داده شدند تا زوال یابند (Delouche and Baskin, 1973). سپس بذرهای پیرشده در غلظت‌های صفر (هیدروپرایمینگ)، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومولار از پراکسیدهیدروژن به‌مدت ۱۸ ساعت درون پتری دیش (با قطر ۱۵سانتی‌متر) قرار گرفتند. بدنبال آن بذرها از پتری خارج و پس از شستشو باآب مقطر به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق خشک شدند. سپس مقداری از بذرها جهت آزمون هدایت الکتریکی وبقیه برای آزمون جوانه‌زنی استاندارد به روش بین کاغذ (Between paper) مورد استفاده قرار گرفتند. اندازه‌گیری هدایت الکتریکی به روش (Hampton and TeKrony, 1995) صورت گرفت. برای این کار از ۵۰ بذر در چهار تکرار برای هر تیمار استفاده گردید. ابتدا وزن خشک بذرها با ترازوی یک‌صدم گرم (Sartorius BA310S) اندازه‌گیری شد. سپس بذرها به ارلن‌های حاوی ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر منتقل و توسط پلاستیک تیره پوشانده و در ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت ظروف حاوی آب و توده بذر از ژرمیناتور خارج و محلول به آرامی به‌مدت ۱۰ تا۱۵ ثانیه همزده شد، دمای محلول زمان اندازه‌گیری هدایت الکتریکی ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود. هدایت الکتریکی آب مقطر (شاهد) نیز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تعیین و از مقدار هدایت الکتریکی حاصل از هر تیمار کسر شد. جهت تعیین هدایت الکتریکی از دستگاه هدایت سنج الکتریکی (CyberScan PC 510) استفاده شد و میزان هدایت الکتریکی برحسب وزن بذر مربوط برای هر نمونه با استفاده از رابطه (۱) تعیین گردید:

رابطه (۱)

$$\text{هدایت‌الکتریکی } (\mu S.cm^{-1}g^{-1}) = \frac{\text{هدایت‌الکتریکی آب‌مقطر } (\mu S.cm^{-1}) - \text{هدایت‌الکتریکی محلول بذر } (\mu S.cm^{-1})}{\text{وزن‌بذر (g)}}$$

از محلول پلی اتیلن گلایکول ۶۰۰۰ در غلظت‌های صفر (آب مقطر)، ۰/۴-، ۰/۶- و ۰/۸- مگاپاسکال (MPa) جهت اِعمال تنش خشکی استفاده شد (Michel and Kaufmann, 1973). معیار جوانه‌زنی بذور خروج ۵ میلی‌متر ریشه‌چه بود. جوانه‌زنی بذرها هر روز شمارش و در پایان آزمایش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه اندازه‌گیری و نمونه‌گیری به منظور تعیین پارامترهای بیوشیمیایی مورد نظر انجام گرفت.

درصد جوانه‌زنی نهایی از رابطه (۲) محاسبه شد (Sepehri and Rouhi, 2016):

$$FGP = \left(\frac{Ni}{N}\right) \times 100 \qquad \text{(رابطه ۲)}$$

Ni: تعداد کل بذرهای جوانه‌زده در روز آخر شمارش

N: تعداد کل بذرها

متوسط زمان جوانه‌زنی(MGT) از رابطه (۳) محاسبه شد (Ellis and Roberts, 1981) :

$$MGT = \sum Dn/n \qquad \text{(رابطه ۳)}$$

در رابطه فوق، n تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز Dاُم و D تعداد روزهای شمارش از آغاز جوانه‌زنی می باشد سرعت جوانه‌زنی با استفاده رابطه (۴) محاسبه شد:

$$GR = 1/MGT \qquad \text{(رابطه ۴)}$$

شاخص بنیه بذر (VI) نیز از رابطه (۵) محاسبه شد (ISTA, 2007):

$$VI = \left(\frac{FGP}{SL}\right) \times 100 \qquad \text{(رابطه ۵)}$$

FGP: درصد جوانه‌زنی نهایی؛ SL: طول گیاهچه

اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول به‌روش آنترون (Irigoyen *et al*., 1992) انجام شد و از گلوکز جهت تهیه استانداردا استفاده شد. پروتئین‌های محلول به روش برادفورد (Bradford, 1976) تعیین و از سرم آلبومین گاوی (BSA) به‌عنوان استاندارد استفاده شد. اندازه‌گیری پراکسیداسیون چربی به‌روش کاوال‌کانتی (Cavalcanti *et al*., 2004)از طریق آزمون تیوباربیتوریک اسید و تعیین محتوای مالون دی‌آلدهید به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون چربی صورت گرفت. فعالیت آنزیم کاتالاز (با ضریب خاموشی ۳۹/۴ میلی مول بر سا نتی‌متر) به روش اسپکتروفتومتری و بر اساس میزان مصرف پراکسیدهیدروژن در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و به‌صورت واحد آنزیم (یک میکرومول پراکسیدهیدروژن تجزیه شده در دقیقه) بر میلی‌گرم پروتئین گزارش شد (Cakmak and Horst, 1991). فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز نیز به روش اسپکتروفتومتری و بر اساس میزان توانایی آنزیم در ممانعت از احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم درطول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و به‌صورت واحد آنزیم (یک واحد سوپراکسیددیسموتاز در ممانعت از احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم در دقیقه) بر میلی‌گرم پروتئین گزارش شد (Giannopolitis and Ries, 1977). فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (با ضریب خاموشی ۲/۸ میلی مول بر سا نتی‌متر) به روش اسپکتروفتومتری و بر اساس میزان اکسیداسیون آسکوربات درطول موج ۲۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و به‌صورت واحد آنزیم (یک میکرومول آسکوربات اکسید شده در دقیقه) بر میلی‌گرم پروتئین گزارش شد (Nakano and Asada, 1981). آزمایش به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. فاکتورها شامل پرایمینگ در پنج سطح (عدم پرایم، هیدروپرایمینگ و پرایمینگ پراکسیدهیدروژن در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومولار) و تنش خشکی در چهار سطح (صفر، ۰/۴-، ۰/۶- و ۰/۸- مگاپاسکال) بود. جهت نرمال کردن داده‌های درصد جوانه‌زنی از تبدیل آرک‌سینوس (arcsin) استفاده شد. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS,9.1 صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون LSD درسطوح احتمال پنج و یک درصد انجام شد.

نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی

اثر اصلی تنش خشکی و پرایمینگ به‌همراه اثرمتقابل آن‌ها بر درصد جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). در شرایط بدون تنش، بیشترین درصد جوانه‌زنی به بذور پیش‌تیمار شده تعلق داشت وکمترین آن متعلق به بذور پیش‌تیمار نشده (۴۷درصد) بود، هرچندکه بین مقادیر حاصل از غلظت ۱۵۰میکرومولار پراکسیدهیدروژن و بذور پیش‌تیمار نشده اختلافی مشاهده نشد (جدول ۲). تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی در بذور پیش‌تیمار شده و پیش‌تیمار نشده گردید و با افزایش شدت تنش درصد جوانه‌زنی کاهش بیشتری یافت اما روند افت درصد جوانه‌زنی بذور پیش‌تیمار شده (به استثنای غلظت ۱۵۰ میکرومولار) نسبت به بذور پیش‌تیمار نشده کمتر بود (جدول ۲). درپتانسیل ۰/۴- مگاپاسکال، بیشترین درصدجوانه‌زنی در غلظت ۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن مشاهده شد، هرچند که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها نداشت اما اختلاف معنی‌داری با بذور پرایم نشده داشت (جدول ۲). درپتانسیل ۰/۶- مگاپاسکال، بین سطوح ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن و همچنین بین هیدروپرایمینگ و سطح ۱۰۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن و بین سطح ۱۵۰

میکرومولار پراکسیدهیدروژن و عدم پیش‌تیمار شاهد تفاوت آماری مشاهده نشد (جدول ۲). درپتانسیل ۰/۸- مگاپاسکال، بین سطوح ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن با هیدروپرایمینگ تفاوتی به لحاظ آماری مشاهده نشد، ضمن آن‌که بین سطح ۱۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن و عدم پیش‌تیمار نیز اختلافی دیده نشد (جدول ۲). سپهری و روحی (Sepehri and Rouhi, 2016) گزارش کردند، یکی از علائم زوال در بذرهای پیرشده کاهش قوه نامیه وکیفیت فیزیویوژیک است به‌خصوص هنگامی‌که بذرها در معرض تنش‌هایی مانند خشکی قرار گیرند. از آنجا که پراکسیدهیدروژن نقش واسط در مسیرهای سیگنالی به تنش را در سلول به‌عهده دارد، افزایش درصد جوانه‌زنی بذور پیرشده ناشی ازکاربرد پراکسیدهیدروژن، می تواند به‌دلیل افزایش پاسخ‌های مولکولی و بیوشیمیایی در سطح سلول باشد که سبب القای سنتز هورمون‌های محرک جوانه‌زنی می‌شوند.

در این راستا، باربا-اسپین و همکاران (Barba-Espin *et al*., 2012) افزایش درصد جوانه‌زنی بذور نخود فرنگی در نتیجه پیش‌تیمار با غلظت ۵ میلی‌مولار پراکسیدهیدروژن را به علت نقش پراکسیدهیدروژن در تحریک مسیر سیگنالی هورمون اتیلن ذکر کردند که سبب القای افزایش تولید پیش‌ساز هورمون اتیلن (1-aminocyclopropane carboxylic acid) شده و به تبع آن جوانه‌زنی تحت شرایط تنش افزایش می‌یابد. همچنین یاداف و همکاران (Yadav *et al*., 2011) اظهار داشتند پیش‌تیمار پراکسیدهیدروژن در بذرهای فلفل (*Capsicum annum* L.) قادر است صدمات ناشی از تنش اکسیداتیو را تحت شرایط تنش بهبود دهد و درصد جوانه‌زنی را به علت فعال‌سازی سیستم آنتی اکسیدانی افزایش دهد.

جدول ۱- جدول تجزیه واریانس خصوصیات جوانه‌زنی بذور زوال یافته بادام زمینی

Table 1- The ANOVA table of germination characteristics of aged groundnut seeds

		میانگین مربعات Mean Squares													
منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	GP	MGT	GR	PL	RL	SL	VI	EC	Car	Pr	MDA	CAT	SOD	APX
پرایمینگ Priming	4	593.05**	15.73**	0.004**	0.809**	0.916**	3.21**	3.15**	25.47**	346.15**	14.49**	551.94**	0.006**	18.63**	0.014**
تنش Stress	3	4833.20**	82.02**	0.038**	13.92**	11.19**	49.98**	38.14**	160.63**	4169.18**	156.87**	4174.29**	0.167**	229.32**	0.045**
پرایمینگ * تنش Priming* Stress	12	66.15**	0.46**	0.0009**	0.29**	0.44**	1.45**	1.59**	6.27**	237.66**	2.01**	48.24**	0.0001**	7.04**	0.0021**
خطا Error	40	5.16	0.071	0.00002	0.046	0.027	0.069	0.025	0.038	1.92	0.054	1.95	0.0001	0.143	0.00009
ضریب تغییرات CV(٪)	-	6.24	3.13	4.18	8.97	13.44	7.20	10.05	1.48	9.38	6.38	2.49	6.54	1.93	3.44

*,**,ns به ترتیب ، معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد، یک درصد و بدون اختلاف معنی‌دار

درصد جوانه‌زنی، GP: متوسط زمان جوانه‌زنی، MGT: سرعت جوانه‌زنی، GR:طول ساقه‌چه،PL: طول ریشه‌چه، RL: طول گیاهچه، SL: شاخص بنیه، VI: هدایت الکتریکی، EC: قندهای محلول، Car: پروتئین‌های محلول، Pr: مالون دی‌آلدهیدMDA: کاتالاز، CAT: سوپراکسیددیسموتاز، SOD: آسکوربات پراکسیداز، APX:

ns,**,* Respectively non-significant and significant of 1 and 5 percent of probability

S.O.V: Source of Variation, df: degree of freedom, CV: Coefficient of Variation, GP: Germination Percentage, MGT: Mean Germination Time, GR: Germination Rate, SL: Seedling Length, VI: Vigor Index, EC: Electrical conductivity, Car:Carbohydrate content, Pr: Protein content, MDA: Malondialdehyde content, CAT: Catalase, SOD: Superoxide dismutase, APX: Ascorbate peroxidase

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر پیش‌تیمار پراکسیدهیدروژن بر خصوصیات جوانه‌زنی بذور زوال یافته بادام زمینی تحت شرایط تنش خشکی

Table 2- Mean comparison of H_2O_2 priming effect on germination characteristics of aged groundnut seed under drought stress conditions

صفات Traits								
تیمارها Treatments	تنش خشکی Drought Stress (MPa)	درصد جوانه زنی Germination Percentage	متوسط زمان جوانه زنی Mean Germination Time (day)	سرعت جوانه زنی Germination Rate (1/day)	طول ساقه‌چه Plumule Length (cm)	طول ریشه‌چه Radicle Length (cm)	طول گیاهچه Seedling Length (cm)	شاخص بنیه Vigor Index
	0	74.33 a	4.12 l	0.244 a	3.93 b	2.26 b	6.20 b	4.61 b
پراکسیدهیدروژن ۵۰ میکرومولار	-0.4	37.66 c	7.75 j	0.129 de	2.50 e	1.13 c	3.63 e	1.37 e
H2O2 (50µM)	-0.6	34.33 cde	8.35 hi	0.119 ef	2.13 efg	0.80 c-h	2.93 fgh	1.00 fgh
	-0.8	29 fgh	9.20 g	0.108 fg	1.73 g-j	0.63 gh	2.36 h-k	0.68 hij
	0	70.33 a	4.20 l	0.237 ab	3.62 bc	2.20 b	5.83 bc	4.10 c
پراکسیدهیدروژن ۱۰۰ میکرومولار	-0.4	35.66 cd	7.81 ij	0.128 de	2.33 ef	1.06 cde	3.40 ef	1.21 ef
H2O2 (100µM)	-0.6	32.33 d-g	8.41 h	0.119 ef	2.10 e-h	0.73 e-h	2.83 f-i	0.91 f-i
	-0.8	27.33 ghi	9.26 g	0.108 fg	1.63 hij	0.66 fgh	2.30 ijk	0.61 ij
	0	45.33 b	5.58 k	0.179 c	3.40 cd	2.10 b	5.50 cd	2.50 d
پراکسیدهیدروژن ۱۵۰ میکرومولار	-0.4	27.33 ghi	9.51 fg	0.105 gh	2.16 efg	1.00 c-f	3.16 ef	0.87 f-i
H2O2 (150µM)	-0.6	23.33 ij	10.31 cde	0.097 ghi	1.90 g-j	0.66 fgh	2.56 g-j	0.60 j
	-0.8	17.66 k	10.85 bc	0.092 ij	1.53 ij	0.50 h	2.03 jk	0.35 j
	0	69.33 a	4.41 l	0.227 b	4.91 a	4.00 a	8.93 a	6.19 a
هیدروپرایمینگ	-0.4	32.66 c-f	9.50 fg	0.105 gh	2.30 ef	1.10 cd	3.40 ef	1.11 efg
Hydropriming	-0.6	29.33 efg	10.20 de	0.098 ghi	2.00 f-i	0.96 c-g	2.96 fg	0.86 f-i
	-0.8	24.00 hi	10.66 bcd	0.093 hij	1.70 g-j	0.76 d-h	2.46 g-k	0.59 ij
	0	47.00 b	7.30 j	0.137 d	3.10 d	1.93 b	5.03 d	2.36 d
شاهد	-0.4	28.66 fgh	10.06 ef	0.099 ghi	2.00 f-i	0.96 c-g	2.96 fg	0.85 ghi
nonprimed	-0.6	24.00 hi	11.06 b	0.090 ij	1.76 g-j	0.66 fgh	2.43 g-k	0.58 ij
	-0.8	18.33 jk	11.76 a	0.084 j	1.43 j	0.50 h	1.93 k	0.35 j

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد ندارند

In each column means followed by the same letter are not significantly different at the $P < 0.01$ level

متوسط زمان جوانه‌زنی

نتایج نشان داد که اثرات اصلی و اثرمتقابل خشکی و پرایمینگ در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد (جدول ۱). در شرایط بدون تنش، بیشترین متوسط زمان جوانه‌زنی متعلق به بذور پیش‌تیمار نشده(۷/۳۰) و سپس متعلق به بذور پیش‌تیمار شده با غلظت ۱۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن (۵/۵۸)، هیدروپرایمینگ (۴/۴۰)، غلظت ۱۰۰ و ۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن (به‌ترتیب به میزان ۴/۲۰، ۴/۱۰) بود، هرچندکه بین مقادیر بدست آمده از هیدروپرایمینگ و غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن اختلافی مشاهده نشد (جدول ۲). با تشدید تنش خشکی از ۰/۴- به ۰/۸- مگاپاسکال متوسط زمان جوانه‌زنی نیز افزایش یافت، چنین روندی در بذور پیش‌تیمار شده و پیش‌تیمار نشده مشهود بود. به‌طوری که بیشترین متوسط زمان جوانه‌زنی در بذور پیش‌تیمار نشده در پتانسیل ۰/۸- مگاپاسکال و سپس در غلظت ۱۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن، هیدروپرایمینگ وغلظت‌های ۱۰۰ و۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن مشاهده شد (جدول ۲). مطالعات نشان داده پراکسیدهیدروژن از طریق ایجاد تغییرات ویژه در

الگوی کربونیلاسیونی، سبب سنتز برخی آنزیم‌های گلیکولیتیکی موثر در راه‌اندازی چرخه پنتوز فسفات شده و به‌صورت غیرمستقیم منجربه تولید NADPH بیشتر و درنتیجه تسریع در فرآیند جوانه‌زنی و کاهش متوسط زمان جوانه‌زنی می‌گردد، در عین حال غلظت‌های بالای این ترکیب به‌دلیل عدم تولید ترکیبات مذکور و آسیب به ساختارها و اندامک‌های سلولی، نه تنها زمان جوانه‌زنی را کاهش نمی‌دهد بلکه امکان افزایش در متوسط زمان جوانه‌زنی نیز محتمل می‌باشد. مانیش و همکاران (Manish*et al.*, 2010) گزارش کردند کاربرد غلظت‌های ۱۵و ۲۰ میلی‌مولار پراکسیدهیدروژن سبب کاهش متوسط زمان جوانه‌زنی بذور خردل هندی(*Brassica juncea*) تحت شرایط تنش خشکی گردید. یکی از دلایل افزایش متوسط زمان جوانه‌زنی همزمان با افزایش شدت تنش می‌تواند ناشی از عدم توانایی در جذب آب توسط بذر باشد، زیرا فعال شدن آنزیم‌های موثر بر فرآیند جوانه‌زنی و به تبع آن شکسته شدن پلی ساکاریدها مستلزم جذب آب کافی توسط بذر است. بذور پرایم شده به‌دلیل فعال شدن آنزیم‌های دخیل در جوانه‌زنی و همچنین افزایش در مقادیر دی‌ساکاریدها و منوساکاریدها قادرند با مکش بیشتری‌آب را جذب نمایند، درنتیجه با سرعت بیشتر و زمان کمتری جوانه خواهند زد (Jisha *et al.*,2013).

سرعت جوانه‌زنی

اثر اصلی تنش خشکی و پرایمینگ به‌همراه اثرمتقابل آن‌ها بر سرعت جوانه‌زنی در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). در شرایط بدون تنش، بالاترین سرعت جوانه‌زنی به‌ترتیب در غلظت‌های ۵۰ و۱۰۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن، هیدروپرایمینگ و غلظت۱۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن حاصل گردید به طوری‌که سرعت جوانه‌زنی به‌ترتیب۷۷، ۷۳، ۶۶ و ۳۱ درصد نسبت به عدم پیش‌تیمار افزایش یافت (جدول ۲). این در حالی بود که بین غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار سرعت جوانه‌زنی بذور مورد بررسی شد (جدول ۲). درپتانسیل ۰/۴- مگاپاسکال، بین سطوح ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن و همچنین بین هیدروپرایمینگ و سطح ۱۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن و بذور پیش‌تیمار نشده اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲). در پتانسیل‌های ۰/۶- و ۰/۸- مگاپاسکال نیز وضعیت مشابه پتانسیل ۰/۴- مگاپاسکال بود (جدول ۲). سرعت جوانه‌زنی بذر از پارامترهایی است که شدیدا تحت تاثیر شرایط نامساعد محیطی قرار می‌گیرد لذا می‌توان به‌عنوان شاخصی موثر در جهت ارزیابی و شناسایی اثرات مفید یا مضر عوامل محیطی از آن استفاده نمود(Jisha *et al.*,2013). سانتی و همکاران (Santhy *et al.*, 2014) گزارش کردند پیش‌تیمار پراکسیدهیدروژن با غلظت ۸۰ میلی‌مولار سبب بهبود سرعت جوانه‌زنی بذرهای پنبه در مقایسه با بذرهای پرایم نشده گردید. همچنین افزایش سرعت جوانه‌زنی تحت تنش خشکی در بذور ذرت پیش‌تیمار شده با ۱۴۰ میلی‌مولار پراکسیدهیدروژن گزارش شده است (Ashraf *et al.*, 2015). رحمان و همکاران (Rehman *et al.*, 2015) کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی بذرهای پیرشده ذرت را ناشی از کاهش در فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز دانستند. باربا-اسپین و همکاران (Barba-Espin *et al.*, 2012) بهبود سرعت جوانه‌زنی بذور نخود فرنگی در نتیجه پیش‌تیمار با پراکسیدهیدروژن را ناشی از القای سنتز پروتئین‌های مرتبط با مسیر سیگنالی هورمون‌های رشد نظیر جیبرلین و اتیلن دانستند. به‌نظر می‌رسد بهبود سرعت جوانه زنی بذور پیش‌تیمار شده به دلیل افزایش در سنتزهورمون جیبرلین باشد زیرا با افزایش محتوای جیبرلین، فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و به تبع آن سرعت تجزیه پلی ساکاریدها افزایش یافته که نتیجه آن تسریع در انتقال قندهای محلول به جنین در حال رشد می‌باشد. در این راستا باربا-اسپین و همکاران (Barba-Espin *et al.*, 2011) افزایش در سرعت جوانه‌زنی بذرهای نخود فرنگی را ناشی از افزایش در محتوای

هورمون اتیلن عنوان کردند.

طول ساقه‌چه

با توجه به معنی‌دار شدن اثرات اصلی و اثر متقابل تنش و پرایمینگ (جدول ۱)، مشخص گردید که در شرایط بدون تنش، پیش‌تیمار پراکسیدهیدروژن با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ میکرومولار و هیدروپرایمینگ به ترتیب طول ساقه‌چه را نسبت به عدم پیش‌تیمار ۲۶/۸۸، ۱۷/۲، ۹/۶۷، ۵۹/۱۳ درصد افزایش دادند(جدول ۲). تحت شرایط خشکی، پیش‌تیمار بذور با غلظت ۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن، ساقه‌چه طویل‌تری در مقایسه با غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومولار و همچنین هیدروپرایمینگ در تمامی سطوح تنشی داشت (جدول ۲).کاهش طول ساقه‌چه در شرایط تنش را می‌توان به کاهش یا عدم انتقال مواد غذایی از لپه‌ها به جنین نسبت داد. علاوه بر آن کاهش جذب آب توسط بذر در شرایط تنش باعث کاهش ترشح هورمون‌ها و فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی و در نتیجه اختلال در رشد ساقه‌چه می‌شود (Kafi *et al.*, 2009). از آن جا که یکی از اثرات پراکسیدهیدروژن ممانعت از سنتز اسیدآبسیزیک و تحریک سنتز هورمون‌هایی نظیر اتیلن و سیتوکینین است، به‌نظر می‌رسد افزایش تقسیم سلولی ساقه‌چه در بذور پیش‌تیمار شده تحت شرایط تنش ناشی از افزایش غلظت سیتوکینین درون سلولی باشد. این هورمون می‌تواند آسیب وارده به سلول‌ها درنتیجه زوال را کاهش داده و تقسیم سلول را تحریک نماید. در این رابطه مولر و همکاران (Muller *et al.*, 2009) نیز گزارش کردند انواعی از گونه‌های فعال اکسیژن مانند پراکسیدهیدروژن و رادیکال هیدروکسید با تضعیف ساختار دیواره سلولی زمینه را برای تقسیم سلولی فراهم می‌کنند.

طول ریشه‌چه

اثر اصلی خشکی و پرایمینگ و اثر متقابل تیمارها در سطح یک درصد بر طول ریشه‌چه معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها در شرایط بدون تنش نشان داد که هیدروپرایمینگ سبب بهبود طول ریشه‌چه‌ی بذور زوال یافته در مقایسه با سایر تیمارها وعدم پیش‌تیمار گردید (جدول ۲). با افزایش شدت تنش طول ریشه‌چه در بذور پیش‌تیمار شده و پیش‌تیمار نشده کاهش یافت اما شدت این کاهش در بذور پیش‌تیمار نشده بیشتر بود (جدول ۲). بهبود رشد ریشه‌چه با پیش‌تیمار پراکسیدهیدروژن در شرایط تنش و بدون تنش توسط دیگران گزارش شده است (Amjad *et al.*, 2003; Takab *et al.*, 2004).با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان استنباط نمود که اثر زوال و خشکی بر طول ریشه‌چه بادام زمینی معنی‌دار بوده و با افزایش غلظت پراکسیدهیدروژن از شدت تاثیر آن کاسته شد به‌طوری‌که بیشترین طول ریشه‌چه در شرایط تنش و عدم تنش پس از هیدروپرایمینگ، مربوط به تیمار ۵۰ میکرومولار پراکسید هیدروژن بود. در غلظت‌های بالاتر، پراکسیدهیدروژن اثر تحریک کنندگی بیشتر روی ریشه چه نداشت. در این خصوص برخی محققین گزارش کردند پراکسید هیدروژن نقشی دوگانه در مسیر سیگنالی سلول ایفا می‌کند، به گونه‌ای که در غلظت‌های کم به‌صورت پیام‌رسان ایفای نقش کرده و سبب افزایش تحمل به تنش‌های محیطی می‌شود، در حالی‌که در غلظت‌های بالا منجر به مرگ برنامه‌ریزی شده سلول می‌شود (Hancock *et al.*, 2006; Barbara-Espina *et al.*, 2010).

شاخص بنیه بذر

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های این شاخص نشان از معنی دار بودن اثرات اصلی و اثر متقابل تنش و پرایمینگ در سطح یک درصد داشت (جدول ۱). شاخص بنیه بذر در شرایط بدون تنش بیشتر از تنش بود و بیشترین مقدار به هیدروپرایمینگ اختصاص داشت که با غلظت‌های مختلف پراکسیدهیدروژن و همچنین بذور پیش‌تیمار نشده تفاوت معنی‌داری داشت (جدول ۲). در سطوح مختلف خشکی، مقادیر شاخص بنیه بذر بین تیمارها نسبت به بذور پیش‌تیمار نشده بیشتر بود. شاخص بنیه بذر از پارامترهای مهم در ارزیابی جوانه‌زنی بذور تحت شرایط تنش محسوب می‌گردد. از آنجا که با

افزایش شدت تنش، درصد جوانه‌زنی و طول گیاهچه کاهش یافت، این روند در شاخص بنیه بذر نیز تاثیر گذاشت. سانتی و همکاران (Santhy *et al*., 2014) اظهار داشتند پیش‌تیمار پراکسیدهیدروژن به‌میزان ۸۰ میلی‌مولار روی بذور پنبه سبب بهبود شاخص بنیه بذرگردید. سایر محققین اظهار داشتند کاربرد خارجی پراکسیدهیدروژن به‌صورت پیش‌تیمار، سرعت انتقال پروتئین‌های ذخیره‌ای به جنین در حال رشد را افزایش داده و از این طریق بنیه بذر و استقرار گیاهچه افزایش می‌یابدکه علت آن را تغییرات ویژه در الگوی کربونیلاسیون دانستند (Job *et al*., 2005; Tanou *et al*., 2009).

هدایت الکتریکی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس، معنی‌دار بودن اثرات اصلی و اثر متقابل را در سطح یک درصد برای هدایت الکتریکی محلول بذر به عنوان شاخص آسیب وارده به غشاء نشان داد (جدول ۱). در شرایط عدم تنش، بیشترین میزان هدایت الکتریکی را بذور پیش‌تیمار نشده از خود نشان دادند و در بین تیمارهای اعمال شده، بیشترین میزان هدایت الکتریکی مربوط به غلظت ۱۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن بود. این در حالی بود که بین هدایت الکتریکی تیمارهای ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن و هیدروپرایمینگ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد(جدول ۳). با افزایش شدت تنش هدایت الکتریکی در بذور پیش‌تیمار شده و پیش‌تیمار نشده افزایش یافت. پیش‌تیمار بذور با غلظت۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن اثر منفی تنش را تا اندازه‌ای نسبت به سایر غلظت‌ها، هیدروپرایمینگ و همچنین بذور پیش‌تیمار نشده خنثی نمود. بیشترین هدایت الکتریکی متعلق به بذور پیش‌تیمار نشده در پتانسیل ۰/۸- مگاپاسکال بود که با تیمار هیدروپرایمینگ و غلظت۱۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن در همان پتانسیل اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۳). کمترین مقادیر هدایت الکتریکی نیز به ترتیب در غلظت‌های۱۰۰ و ۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن ثبت گردید (جدول ۳). به‌طورکلی قرار گرفتن بذور زوال یافته تحت شرایط تنش، صدمات وارده به غشای سلول را به‌دلیل بروز تنش اکسیداتیو دوچندان می‌کند. این مسئله منجر به افزایش نشت مواد و یون‌ها از غشای سلول و به تبع آن افزایش هدایت الکتریکی محلول بذر می‌گردد. از سوی دیگر پیش‌تیمار بذر از طریق سنتز DNA و mRNAs جدید و همچنین بیان دوباره ژن‌ها، سبب ترمیم آسیب‌های وارده به غشا می‌گردد (Varier *et al*., 2010). ترمیم قسمت‌های آسیب دیده سبب کاهش خسارت و در نتیجه کاهش هدایت الکتریکی بذر می‌شود. دراین راستا سانتی و همکاران (Santhy *et al*., 2014) پیش‌تیمار پراکسیدهیدروژن را در کاهش هدایت الکتریکی بذور پنبه در مقایسه با بذور پیش‌تیمار نشده، تحت تنش اکسیداتیو موثر دانستند. آنها اظهار داشتند پراکسیدهیدروژن سبب فعال شدن مسیر سیگنالی آنزیم‌های آنتی اکسیدانی شده و از طریق زدودن گونه‌های فعال اکسیژن، انسجام غشا را افزایش می‌دهد. جیوتی و مالیک (Jyoti and Malik, 2013) نیز علت افزایش در هدایت الکتریکی بذور زوال یافته را ایجاد شکاف در پلاسمالا و فاصله گرفتن آن از دیواره سلولی، پاره شدن شبکه آندوپلاسمی در غیاب پلی‌ریبوزوم‌ها و دیکتوزوم‌ها اعلام کردند. همچنین جیشا و همکاران (Jisha *et al*., 2013) افزایش فعالیت آنزیم دهیدروژناز را که نقشی کلیدی در خنثی نمودن اثرات منفی پراکسیداسیون غشا، طی پیش‌تیمار بذر دارد را گزارش کردند. با کاهش پراکسیداسیون غشا، محتوای مالون دی‌آلدهید کاهش یافته و از نشت مواد و الکترولیت‌ها کم می‌شود.

کربوهیدرات‌های محلول

با توجه به معنی‌دار شدن اثرات اصلی و اثر متقابل تنش و پرایمینگ (جدول ۱)، نتایج شرایط بدون تنش نشان داد بیشترین مقدار کربوهیدرات‌های محلول در بذور پیش‌تیمار شده بدست آمد. در این میان پراکسیدهیدروژن با غلظت ۵۰ میکرومولار مقادیر بیشتری را نسبت به سایر تیمارها وبذور

پیش‌تیمار نشده ازخود نشان داد. هیدروپرایمینگ و پیش‌تیمار پراکسیدهیدروژن با غلظت ۱۰۰میکرومولار تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند اما مقادیر بیشتری را نسبت به عدم پیش‌تیمار و غلظت ۱۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن از خود نشان دادند(جدول ۳). تحت شرایط بدون تنش، کمترین مقدار کربوهیدرات‌های محلول به بذور بدون پیش‌تیمار تعلق داشت. با افزایش شدت تنش خشکی میزان کربوهیدرات‌های محلول در بذور پیش‌تیمار شده و پیش‌تیمار نشده شدیدا کاهش یافت اما شدت این اُفت در بذور پیش‌تیمار شده کمتر بود (جدول ۳). به نظر می‌رسد در جریان فرآیند زوال بذر انسجام غشای سلولی کاهش یافته و نفوذپذیری آن بشدت تحت تاثیر قرارمی‌گیرد، درنتیجه نشت الکترولیت‌ها غشا از جمله کربوهیدرات‌های محلول صورت گیرد.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر پیش‌تیمار پراکسیدهیدروژن بر خصوصیات بیوشیمیایی بذور زوال یافته بادام زمینی تحت شرایط تنش خشکی

Table 3- Mean comparison of H_2O_2 priming effect on biochemical characteristics of aged groundnut seed under drought stress conditions

تیمارها Treatments	صفات Traits							
	تنش خشکی Drought Stress (MPa)	هدایت الکتریکی Electrical conductivity ($\mu S.cm^{-1}g^{-1}$)	قندهای محلول Carbohydrates ($mg.[gdw]^{-1}$)	پروتئینهای محلول Solubleproteins ($mg.[gfw]^{-1}$)	مالون دی آلدهید Malondialdehyde ($nmol.[gfw]^{-1}$)	فعالیت کاتالاز Catalase activity ($Units[mgpr]^{-1}$)	فعالیت سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase activity ($Units[mgpr]^{-1}$)	پراکسیداز فعالیت آسکوربات Ascorbate peroxidase Activity ($Units[mgpr]^{-1}$)
	0	18.64 j	55.44 a	10.08 ab	21.78 l	0.271 a	28.67 a	0.420 a
پراکسیدهیدروژن ۵۰ میکرومولار H2O2 (50µM)	-0.4	25.65 gh	10.16 e	3.33 e	53.77 i	0.243 ab	19.85 f	0.310 b
	-0.6	27.10 f	8.29 ef	2.66 g	57.23 gh	0.220 bc	18.54 gh	0.299 b
	-0.8	27.53 e	6.52 f-i	1.74 hi	61.02 ef	0.183 e-h	17.23 jkl	0.276 c
	0	18.74 j	52.86 b	10.42 a	22.48 kl	0.258 a	27.74 b	0.407 a
پراکسیدهیدروژن ۱۰۰ میکرومولار H2O2 (100µM)	-0.4	26.07 g	8.26 ef	3.44 e	56.25 hi	0.211 cde	19.21 fg	0.277 c
	-0.6	27.56 e	6.52 f-i	2.75 fg	59.87 fg	0.197 c-g	17.98 hij	0.266 cd
	-0.8	28.01 d	4.95 ij	1.80 h	63.46 de	0.167 hij	16.68 lmn	0.243 ef
	0	24.96 i	20.57 c	6.34 c	44.28 j	0.213 cd	22.15 d	0.301 b
پراکسیدهیدروژن ۱۵۰ میکرومولار H2O2 (150µM)	-0.4	28.13 cd	7.50 fg	1.35 hij	63.10 de	0.182 f-h	19.29 fg	0.273 c
	-0.6	28.51 bc	5.39 g-j	1.26 ij	68.55 bc	0.171 g-j	17.54 ijk	0.256 cde
	-0.8	28.85 ab	4.30 ij	1.17 j	75.82 a	0.145 j	16.28 mno	0.255 f
	0	19.02 j	51.57 b	9.70 b	25.03 k	0.249 ab	26.42 c	0.404 a
هیدروپرایمینگ Hydropriming	-0.4	26.67 f	8.06 ef	3.20 ef	61.81 ef	0.190 e-h	18.30 hi	0.259 cde
	-0.6	28.24 cd	6.53 f-i	2.56 g	65.79 cd	0.179 f-i	17.12 kl	0.246 def
	-0.8	23.71 ab	4.51 ij	1.67 hij	70.13 b	0.153 ij	15.88 no	0.226 f
	0	25.52 h	18.05 d	5.76 d	45.24 j	0.205 c-f	20.90 e	0.271 c
شاهد nonprimed	-0.4	28.28 cd	7.26 fgh	1.32 hij	63.27 de	0.176 ghi	18.24 hi	0.245 def
	-0.6	28.75 ab	5.06 hij	1.25 ij	68.67 bc	0.168 hij	16.75 klm	0.227 f
	-0.8	29.01 a	3.80 j	1.19 j	74.72 a	0.145 j	15.84 o	0.198 g

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد ندارند

In each column means followed by the same letter are not significantly different at the $P < 0.01$ level

جیوتی و مالیک (Jyoti and Malik, 2013) گزارش کردند با افزایش مدت زمان زوال، الیگوساکاریدهای مسئول در استحکام غشا مانند رافینوز به‌شدت آسیب دیده و همین مسئله سبب از بین رفتن انسجام غشا می‌گردد. رافینوز از جمله کربوهیدرات‌های محافظت کننده از لیپیدها و پروتئین‌های غشایی است. همچنین کاهش در فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در بذور زوال یافته سبب کاهش تجزیه ذخایر نشاسته‌ای بذر به قندهای ساده و محلول می‌گردد که جهت تغذیه جنین در حال رشد مورد نیاز است (Bailly, 2004).

افزایش در فعالیت آنزیم‌های آمیلاز و دهیدروژناز در بذور پیش‌تیمار شده به اثبات رسیده است (Andoh and Kobata, 2002). فعالیت این آنزیم‌ها منجر به افزایش محتوای قندهای محلول بذر و انتقال آن به جنین می‌گردد (Andoh and Kobata, 2002; Bailly, 2004). گزارش شده پراکسیدهیدروژن با ممانعت از سنتز و انتقال اسید آبسیزیک به جنین از یک‌سو و با فعال‌سازی سنتز پیش‌ساز سنتز هورمون اتیلن از سوی دیگرسبب تسریع در فرآیند جوانه‌زنی می‌گردد. با توجه به اینکه هورمون اتیلن اثر هم‌افزایی با هورمون‌های جیبرلین، اکسین و سیتوکینین دارد، پراکسیدهیدروژن با القای سنتزجیبرلین و به تبع آن فعالیت آنزیم‌های آمیلاز، قادر است محتوای قندهای ساده و محلول بذر رابه‌صورت غیرمستقیم افزایش دهد.

پروتئین‌های محلول

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس، اثرات اصلی و اثر متقابل خشکی و پرایمینگ بر پروتئین‌های محلول در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). در شرایط عدم تنش، بالاترین محتوای پروتئین‌های محلول در غلظت ۱۰۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن حاصل شد (جدول ۳). با افزایش شدت تنش مقادیر پروتئین محلول کاهش یافت و کمترین مقادیر را بذور پیش‌تیمار نشده از خود نشان دادند. طالع احمد و حداد (Tale Ahmad and Haddad, 2011) مشاهده کردند با افزایش مدت زمان خشکی، میزان پروتئین‌های محلول در گندم کاهش یافت.آن‌ها علت کاهش را تجزیه پروتئین‌های محلول در جریان تنش خشکی ذکر کردند. در تمامی سطوح خشکی، بیشترین مقادیر پروتئین‌های محلول در پیش‌تیمار با ۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن مشاهده شد که با غلظت ۱۰۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن و هیدروپرایمینگ اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۳). کاهش در مقدار پروتئین‌ها در فرآیند پیری به‌دلیل دناتوره شدن آن‌ها و یا آسیب‌های غیرقابل بازگشت به ساختار پروتئین‌ها به‌دلیل حمله رادیکال‌های آزاد می‌باشد، پیش‌تیمار بذر از طریق سنتز mRNA و به تبع آن سنتز پروتئین‌های جدید قادر است این آسیب را به حداقل برساند (Kibinza *et al.*, 2011; Tabatabaei, 2013). همچنین آسیب به ساختار کروموزوم‌ها، RNA و DNA از جمله تغییرات مولکولی بوجود آمده در بذور زوال یافته به‌شمار می‌رود (Jyoti and Malik, 2013). آسیب به سیستم سنتز پروتئین می‌تواند هم در مرحله رونویسی و هم در ترجمه رخ دهد. محققین گزارش کردند اجزای رونویسی نظیر tRNA، آنزیم‌های مرتبط با رونویسی و ریبوزوم‌ها در جریان زوال بذر دچار آسیب می‌شوند. چنین آسیبی می‌تواند توسط رادیکال‌های آزاد و یا در اثر فعالیت آنزیم‌هایی نظیر ریبونوکلئاز باشد (Varier *et al.*, 2010). گزارش شده پروتئین‌های محلول بیشتر از انواع غشایی و نامحلول تحت تاثیر تنش اکسیداتیو قرار می‌گیرند (Kibinza *et al.*, 2011; Fu *et al.*, 2015). شواهد نشان می‌دهد پراکسیدهیدروژن در تنظیم مسیرهای سیگنالی سنتز پروتئین نقش موثری داشته و این کار را از طریق کنترل چرخه سلول و ترمیم قسمت‌های آسیب دیده ریبوزوم‌ها انجام می‌دهد. ریبوزوم‌ها اندامک‌های سنتز پروتئین در سلول‌ها بوده و ترمیم آنها درنتیجه کاربرد پراکسیدهیدروژن، سبب افزایش سنتز پروتئین‌ها می‌گردد (Barba-Espin *et al.*, 2011).

محتوای مالون دی آلدهید

اثر اصلی تنش خشکی و پرایمینگ و اثرمتقابل آن‌ها بر محتوای مالون دی‌آلدهید در سطح یک درصد معنی‌دار

بود (جدول ۱). در شرایط عدم تنش، بیشترین مقدار مالون دی‌آلدهید به بذور پیش‌تیمار نشده و بذور پیش‌تیمار شده با غلظت ۱۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن اختصاص داشت و کمترین آن به بذور پیش‌تیمار شده با غلظت‌های ۱۰۰و ۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن تعلق داشت (جدول ۳). با افزایش شدت تنش محتوای ترکیب مذکور افزایش یافت و کمترین مقادیر مالون دی‌آلدهید به بذور پیش‌تیمار شده با پراکسیدهیدروژن باغلظت ۵۰ میکرومولار تعلق داشت که اختلاف معنی‌داری با غلظت ۱۰۰میکرومولار نداشت. بیشترین مقادیر مالون دی‌آلدهید نیز به‌ترتیب متعلق به بذور پیش‌تیمار نشده و بذور پیش‌تیمار شده با غلظت ۱۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن بود(جدول۳). به‌طوری که غلظت ۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن محتوای مالون دی‌آلدهید را در سطوح ۰/۴-، ۰/۶- و ۰/۸- مگاپاسکال خشکی به‌ترتیب ۱۵، ۱۶/۶۶ و ۱۸/۳۴درصد کاهش داد. در حالی که غلظت ۱۰۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن موجب کاهش ۱۱/۰۹، ۱۲/۸۳ و ۱۵/۰۷درصدی محتوای مالون دی‌آلدهید به‌ترتیب در سطوح ۰/۴-، ۰/۶- و ۰/۸- مگاپاسکال خشکی شد (جدول ۳). مالون دی‌آلدهید شاخصی از پراکسیداسیون غشای سلولی بوده و با نشت مواد از غشاء همبستگی مثبت دارد، هرچه میزان این شاخص افزایش یابد پراکسیداسیون غشاء و نشت الکترولیت‌ها از غشا بیشتر و در نتیجه خسارات احتمالی بیشتر است. در بذرهای زوال یافته کاهش معنی‌داری در پروتئین، قندها و محتوای چربی دیده می‌شود به‌طوری که اسیدهای چرب آزاد، پراکسیدهیدروژن و گونه‌های فعال اکسیژن افزایش می‌یابند (Jyoti and Malik, 2013). درنتیجه این وقایع، اسیدهای چرب غیراشباع موجود در غشای سلولی به رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن حساس شده و ترکیبات ناشی از پراکسیداسیون چربی مانند لیپیدهای ترکیبی و مالون دی‌آلدهید تولید می‌شوند. رادیکال‌های هیدروکسیل و سوپراکسید تولید شده در جریان تنش اکسیداتیو نیز به محض حضور در سلول می‌توانند واکنش‌های زنجیره‌ای اکسیداتیو را به صورت اتواکسیداسیونی و یا لیپوکسیژناسیونی شروع نمایند که منجر به تولید لیپیدهیدروپراکسیدها می‌شود (Taiz and Zeiger, 2002; Varier *et al.*, 2010). لیپیدهیدروپراکسیدها بسیار واکنش‌پذیر بوده و احتمال واکنش با ترکیبات ثانویه سمی حاصل از پراکسیداسیون مانند مالون دی‌آلدهید را دارند. مالون دی‌آلدهید محصول پراکسیداسیون اسید لینولئیک می‌باشد و توانایی آسیب رساندن به پروتئین‌های غشا را از طریق cross-linking دارد (Taiz and Zeiger, 2002; Varier *et al.*, 2010). به‌نظر می‌رسد افزایش در محتوای مالون دی‌آلدهید در نتیجه کاربرد ۱۵۰ میکرومولار پراکسید هیدروژن اثری نامطلوب بر بذر داشته و فرضیه مرگ برنامه‌ریزی شده سلول را در غلظت‌های بالای پراکسیدهیدروژن تقویت می‌کند. سانتی و همکاران (Santhy *et al.*, 2014) پیش‌تیمار بذور پنبه با غلظت‌های پایین پراکسیدهیدروژن را عاملی موثر در جهت کاهش محتوای مالون دی‌آلدهید تحت شرایط تنش اکسیداتیو ذکر کرده‌اند.

کاتالاز

با توجه به معنی‌دار شدن اثرات اصلی و اثر متقابل تنش و پرایمینگ (جدول ۱)، مقایسه میانگین داده‌های آنزیم کاتالاز نشان داد که در شرایط بدون تنش فعالیت این آنزیم در تمام تیمارها (به استثنای غلظت ۱۵۰ میکرومولار) بیشتر از بدون پیش‌تیمار بود و بین هیدروپرایمینگ و غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن در فعالیت کاتالاز اختلاف معنی‌داری دیده نشد(جدول ۳). در تنش خشکی، کمترین فعالیت کاتالاز در بذور پیش‌تیمار نشده مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با مقادیر حاصل از کاربرد ۱۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن و هیدروپرایمینگ در هر سه سطح خشکی نداشت (جدول ۳). بیشترین فعالیت کاتالاز در غلظت ۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن ثبت شد هرچند که اختلافی با غلظت ۱۰۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن در تمام سطوح به

استثنای ۰/۴- مگاپاسکال نداشت (جدول ۳). کاهش در فعالیت آنزیم کاتالاز درجریان فرآیند زوال بذر گزارش شده است. محققین بیان می‌دارند تشکیل زیرواحدهای کاتالاز در سیتوپلاسم و تکمیل سنتز آن در پراکسیزوم صورت می‌گیرد و در جریان فرآیند زوال، به‌دلیل خروج محتویات سیتوپلاسم از غشاء و آسیب‌های وارده به اندامک‌های سلول، چرخه ساخت این آنزیم تکمیل نمی‌گردد (Jyoti and Malik, 2013). پیش‌تیمار بذر از طریق سنتز و ترمیم ساختارهای پروتئینی موجود در بذر قادر است بخشی از خسارات وارده را جبران نموده و از شدت تنش اکسیداتیو بکاهد، بخشی از این کار توسط بهبود در فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی انجام می‌شود (Kibinza *et al.*, 2011; Jisha *et al.*, 2013; Xia *et al.*, 2015). تحقیقات نشان داده کاربرد پراکسیدهیدروژن به‌صورت پیش‌تیمار، سیگنال‌های لازم جهت فعالیت ژن‌های کدکننده کاتالاز را فراهم می‌کند و سنتز این آنزیم با ترمیم ساختارهای سلولی و آزاد شدن اکسیژن در نتیجه تجزیه پراکسیدهیدروژن توسط کاتالاز همراه است که این مساله سبب بهبود فعالیت میتوکندری‌ها خواهد شد. پراکسیدهیدروژن در غلظت‌های بالا می‌تواندنقش مخرب داشته باشد و گونه فعال اکسیژن به حساب آید و قادر خواهد بود خسارات جبران ناپذیری به ساختار غشا و حتی اندامک‌های سلولی نظیر پراکسی‌زوم‌ها وارد کند، درنتیجه از سنتز و فعالیت مطلوب آنزیم کاتالاز جلوگیری می‌نماید (Bailly *et al.*, 2008; Barba-Espin *et al.*, 2010). کیبینزا و همکاران (Kibinza *et al.*, 2011) افزایش در فعالیت آنزیم کاتالاز در بذور پیش‌تیمار شده را در جریان زوال بذرگندم گزارش کردند. سانتی و همکاران (Santhy*et al.*, 2014) نیز بهبود در فعالیت آنزیم کاتالاز را در بذور پنبه پیش‌تیمار شده با پراکسیدهیدروژن گزارش کرده‌اند.

سوپراکسیددیسموتاز

براساس نتایج آزمایش، اثرات اصلی و برهم‌کنش پرایمینگ و خشکی در سطح احتمال یک درصد بر فعالیت این آنزیم معنی‌دار بود (جدول ۱). در شرایط عدم تنش، بیشترین فعالیت سوپراکسیددیسموتاز در غلظت ۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن ثبت شد که با سایر تیمارها و شاهد تفاوت معنی‌داری داشت و توانست فعالیت این آنزیم را ۳۷/۱۵ درصد نسبت به بذور پیش‌تیمار نشده افزایش دهد (جدول ۳). پس از آن غلظت ۱۰۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن، هیدروپرایمینگ و غلظت ۱۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن به‌ترتیب میزان فعالیت را ۳۲/۷۲، ۲۶/۴ و ۶ درصد نسبت به بذور پیش‌تیمار نشده افزایش دادند. بررسی سطوح مختلف خشکی نشان داد با افزایش شدت تنش از فعالیت سوپراکسیددیسموتاز در بذور پیش‌تیمار شده و پیش‌تیمار نشده کاسته شد (جدول ۳). به‌استثنای غلظت ۱۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن، اثر پیش‌تیمار پراکسیدهیدروژن بر فعالیت این آنزیم بیشتر از هیدروپرایمینگ بود. با افزایش غلظت پراکسیدهیدروژن میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در تمامی سطوح خشکی کاهش یافت (جدول ۳). به‌طور کلی اگرچه بهبود در فعالیت این آنزیم در بذور پیش‌تیمار شده تحت تنش خشکی مشاهده گردید اما فعالیت سوپراکسیددیسموتاز در شرایط بدون تنش بسیار چشمگیر بود (جدول ۳). از آنجا که در فرآیند زوال، صدمات زیادی به اندامک‌ها و غشای سیتوپلاسمی وارد می‌شود، کاهش در فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز نیز رخ می‌دهد. قابل ذکر است میتوکندری از اندامک‌هایی است که در جریان زوال دچار آسیب می‌شود. میتوکندری علاوه بر وظیفه تنفس و تولید انرژی از مهمترین مراکز تولید سوپراکسیددیسموتاز در سلول به‌شمار می‌رود. به طوری که ژیا و همکاران (Xia *et al.*, 2015) زدودن گونه‌های فعال اکسیژن توسط آنزیم سوپراکسیددیسموتاز موجود در میتوکندری را علت اصلی بهبود فعالیت آنزیمی در بذور یولاف زراعی (*Avena sativa*) می‌دانند. هی و همکاران (He *et al.*, 2009) نیز دریافتند پیش‌تیمار بذور گندم توسط غلظت‌های ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۲۰ میکرومولار

پراکسیدهیدروژن تحت تنش خشکی (۰/۵- مگاپاسکال)، توانست فعالیت آنزیم های سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز را افزایش دهد و تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی را به حداقل رساند. آن‌ها همچنین غلظت ۸۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن را موثرترین غلظت جهت پیش‌تیمار بذور گندم گزارش کردند.

آسکوربات پراکسیداز

اثر اصلی تنش خشکی و پرایمینگ به‌همراه اثرمتقابل آن‌ها بر فعالیت آسکوربات پراکسیداز در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). به‌طوری‌که در شرایط بدون تنش، بیشترین فعالیت به‌ترتیب در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن، هیدروپرایمینگ و ۱۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن حاصل گردیدکه توانستند فعالیت آسکوربات پراکسیداز را به‌ترتیب ۵۴/۶، ۴۹/۹۵، ۴۸/۸۳ و۱۰/۹۳درصد نسبت به شاهد افزایش دهند (جدول ۳). هر چند که بین غلظت‌های۵۰ و۱۰۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن و هیدروپرایمینگ تفاوت معنی‌داری دیده نشد (جدول ۳). در پتانسیل ۰/۴- مگاپاسکال، غلظت۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن بالاترین فعالیت را نشان داد و با سایر تیمارها و شاهد اختلاف معنی‌داری داشت، به‌طوری که میزان فعالیت را ۳۱/۶۶ درصد نسبت به عدم پیش‌تیمار افزایش داد. پس از تیمار مذکور غلظت‌های۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن و هیدروپرایمینگ قرار داشتند که تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. از سوی دیگر بین هیدروپرایمینگ و بذور پیش‌تیمار نشده نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳). درپتانسیل ۰/۶- و ۰/۸- مگاپاسکال نیز روندی مشابه پتانسیل ۰/۴- مگاپاسکال مشاهده شد. نکته قابل توجه درخصوص این آنزیم، بهبود فعالیت آن در غلظت۱۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن در تمام سطوح خشکی نسبت به تیمار هیدروپرایمینگ بود، به نحوی که فعالیت آسکوربات پراکسیدازدر سطوح ۰/۴-، ۰/۶- و۰/۸- به‌ترتیب ۱۱/۴۲، ۱۲/۵۲ و ۱۳/۵۸ درصد نسبت به بذور پیش‌تیمار نشده افزایش یافت در حالی‌که این افزایش فعالیت در هیدروپرایمینگ به‌ترتیب ۵/۵۷، ۸/۱۹ و ۱۳/۷۵ درصد نسبت به عدم پیش‌تیمار بود (جدول ۳). شایان ذکر است که فعالیت آسکوربات پراکسیداز در شرایط عدم تنش در غلظت ۱۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن حدود یک چهارم هیدروپرایمینگ بود (جدول ۳).آسکوربات پراکسیداز بر خلاف کاتالاز که تنها در پراکسیزوم‌ها سنتز می‌شود، حداقل‌ازپنج ایزوفرم متفاوت تشکیل شده که در تیلاکوئید، غشای گلی‌اکسیزوم، استرومای کلروپلاست و سیتوسول سنتز می‌شود، بنابراین این امکان وجود دارد که در جریان زوال آسیب کمتری نسبت به کاتالاز ببیند. باربا-اسپین و همکاران (Barba-Espin *et al*., 2010) با بررسی اثر پیش‌تیمار پراکسیدهیدروژن بر فعالیت آسکوربات پراکسیداز در بذور نخود فرنگی اظهار داشتند افزایش در القای mRNAs کدکننده این آنزیم در استرومای کلروپلاست و سیتوسول در نتیجه کاربرد پراکسیدهیدروژن منجر به افزایش فعالیت آن شده است. آن‌ها همچنین اثر پراکسیدهیدروژن بر فرم استرومایی را بیشتر از فرم سیتوسولی گزارش کرده و اعلام داشتند پراکسیدهیدروژن اولین تاثیر خود را بر القای mRNAs کدکننده این آنزیم در استرومای کلروپلاست دارد. مطالعات نشان می‌دهد پیش‌تیمار بذور گندم، ذرت و پنبه با پراکسیدهیدروژن منجربه بهبود در فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز وکاتالاز شده است (He *et al*., 2009; Ahmad *et al*., 2012; Santhy *et al*., 2014).

نتیجه‌گیری

به طور کلی نتایج این آزمایش نشان داد تنش خشکی اثرات منفی بر پارامترهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بذور زوال یافته بادام زمینی داشته و با افزایش شدت تنش، درصد و سرعت جوانه زنی، بنیه بذر، طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، کربوهیدرات‌های محلول، پروتئین‌های محلول،

فعالیت آنزیم های کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز کاهش و متوسط زمان جوانه زنی، هدایت الکتریکی و مالون دی‌آلدهید افزایش یافت. اماکاهش طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و به تبع آن بنیه بذر و افزایش در هدایت الکترولیتی غشاء، کربوهیدرات‌های محلول و مالون دی‌آلدهید بیش از سایر صفات مورد بررسی تحت تاثیر تنش خشکی قرار گرفتند. به‌عبارت دیگر تنش خشکی روی پارامترهای رشدی و فیزیولوژیکی گیاهچه تأثیر گذاشته و سبب تولید گیاهچه‌های ضعیف‌تری شد، این امر در سطوح بالای خشکی بیشتر مشهود بود. از سوی دیگر در مطالعه حاضر افزایش تولید مالون دی‌آلدهید در بذور زوال یافته نشان از پراکسیداسیون چربی‌ها داشته که با پیش‌تیمار پراکسیدهیدروژن به ویژه در غلظت ۵۰ میکرومولار از شدت آن کاسته شد. پراکسیداسیون چربی ها عامل اصلی تخریب تدریجی سلول بوده که به‌دنبال آن حمله رادیکال‌های آزاد به مولکول‌ها و ساختارهای مهم سلولی رخ می‌دهد. رادیکال‌های آزاد به شکل مستقیم و غیرمستقیم سبب بروز آسیب‌های میتوکندریایی، غیرفعال شدن آنزیم‌های موثر در جوانه‌زنی، اختلالات غشایی و خسارات ژنتیکی می‌شوند. پراکسیدهیدروژن بسته به‌میزان غلظت می‌تواند نقش‌های متفاوتی در سطوح سلولی ایفا کند. در غلظت‌های بالا به‌دلیل آسیب به اندامک‌های سلولی، غشای پلاسمایی و آنزیم‌ها در فرآیند جوانه‌زنی نقش منفی داشته، در حالی‌که در غلظت‌های مطلوب بسته به نوع گیاه سبب تحریک در جوانه زنی از طریق ممانعت از سنتز و انتقال اسید آبسیزیک، تحریک سنتز هورمون اتیلن و تغییرات ویژه در الگوی کربونیلاسیونی پروتئین‌ها می‌گردد. در این آزمایش اثرات منفی زوال بذر به‌ویژه در شرایط خشکی با استفاده از پراکسیدهیدروژن در غلظت‌های پایین با افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز بهبود یافت، اثر آنزیم آسکوربات پراکسیداز در این خصوص بیشتر بود که علت آن را می‌توان ناشی از تحریک سنتز ایزوفرم‌های استرومایی و سیتوسولی آنزیم مذکوردر نتیجه کاربرد پراکسیدهیدروژن دانست. مقایسه تیمارهای هیدروپرایمینگ و غلظت‌های مختلف پراکسیدهیدروژن تحت تنش خشکی در اغلب صفات مورد بررسی نشان داد کاربرد ۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن اثر مثبت و بهتری نسبت به سایر تیمارها در خصوص بهبود پارامترهای مورد بررسی بذرهای زوال یافته بادام زمینی داشته است. بنابراین استفاده از ۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن جهت کاهش اثرات سوء ناشی از زوال بذر بادام زمینی در تنش خشکی قابل توصیه بوده اما در شرایط بدون تنش تفاوت چندانی در استفاده از ۵۰ میکرومولار پراکسیدهیدروژن و هیدروپرایمینگ وجود ندارد.

منابع

Reference

Ahmad, I., T. Khaliq, A. Ahmad, S.M.A. Basra, Z. Hasnain, and A. Ali. 2012. Effect of seed priming with ascorbic acid, salicylic acid and hydrogen peroxide on emergence, vigor and antioxidant activities of maize. Afr. J. Biotechnol. 11(5): 1127-1132.

Amjad, H., A.M. Salman, I. Nayyer, A. Rubina, and F. Shafqat. 2003. Influence ofhydrogen peroxide on initial leaf and coleoptiles growth in etiolated wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.). Asian J. Plant Sci. 2: 1121–1125.

Andoh, H., and T. Kobata. 2002. Effect of seed hardening on the seedling emergence and alpha amylase activity in the grains of wheat and rice sown in dry soil. Japan. J. Crop Sci. 71: 220–225.

Ashraf, M.A., R. Rasheed, I. Hussain, M. Iqbal, M.Z. Haider, S. Parveen, and M.A. Sajid. 2015. Hydrogen peroxide modulates antioxidant system and nutrient relation in maize (*Zea mays* L.) under water-deficit conditions. Arch. Agron. Soil Sci. 61(4): 507-523.

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

Bailly, C., H. El-Maarouf-Bouteau, and F. Corbineau. 2008. From intracellular signaling networks to cell death: the dual role ofreactive oxygen species in seed physiology. C. R. Biol. 331: 806–814.

Barba-Espin, G., P. Diaz-Vivancos, M.J.Clemente-Moreno, A. Albacete, L. Faize, M. F. Pérez-Alfocea, and J.A. Hernández. 2010. Interaction between hydrogen peroxide and plant hormones during germination and the early growth of pea seedlings. Plant Cell Environ. 33(6): 981-94.

Barba-Espin, G., P. Diaz-Vivancos, D. Job, Job, and J.A. Hernández. 2011. Understanding the role of H2O2 during pea seed germination: a combined proteomic and hormone profiling approach. Plant Cell Environ. 34: 1907–1919.

Barba-Espin, G., J.A. Hernández, and P. Diaz-Vivancos. 2012. Role of H_2O_2 in pea seed germination. Plant Signal Behav.7(2): 193–195.

Bradford, M.M. 1976. A dye binding assay for protein. Analyt Biochem.72: 248-254.

Cakmak, I., and W. Horst. 1991. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glycine max*). Plant Physiol. 83: 463–468.

Cavalcanti, F.R., J.T.A. Oliveira, A.S. Martins-Miranda, R.A. Viégas, and J.A.G. Silveira. 2004. Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt-stressed cowpeas leaves. New Phytol. 163: 563–571.

Delouche, J.C., and C.C. Baskin. 1973. Accelerated ageing technique for predicting relative storability of seed lots. Seed Sci. Technol. 1: 427-452.

Fu, Y.B., Z. Ahmed, and A. Diederichsen. 2015. Towards a better monitoring of seed ageing under ex situ seed conservation. Conserv. Physiol. 3: 1-16.

Delouche, J.C., and C.C. Baskin. 1973. Accelerated ageing technique for predicting relative storability of seed lots. Seed Sci. Technol. 1: 427-452.

Ellis, R.A., and E.H. Roberts. 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. Seed Sci. Technol. 9: 373–409.

Giannopolitis, C., and S. Ries. 1977. Superoxid desmutase. I: Occurence in higher plant, Plant Physiol. 59: 309–314.

Hampton, J.G., and D.M. TeKrony. 1995. Handbook of Vigour Test Methods. The international Seed Testing Association, Zurikh.

Hancock, J., R. Desikan, J. Harrison, J. Bright, R. Hooley, and S. Neill. 2006. Doing the unexpected: proteins involved in hydrogenperoxideperception. J. Exp.Bot. 57: 1711–1718.

He, L., Z. Gao, and Li, R. 2009. Pretreatment of seed with H2O2 enhances drought tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. African Journal of Biotechnol. 8 (22): 6151-6157.

Hou, L., W. Liu, Z. Li, C. Huang, X.L. Fang, Q. Wang, and X. Liu. 2014. Identification and Expression Analysis of Genes Responsive to Drought Stress in Peanut. Russ. J. Plant Physiol. 61(6): 842–852.

Irigoyen, J.J., D.W. Emerich, and M. Sanchez-Diaz. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Physiol. Plant. 84: 55-60.

ISTA. 2007. International Rules for Seed Testing. Seed Sci. Technol. 13: 299–520.

Jisha, K.C., K. Vijayakumari, and J.T. Puthur. 2013. Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. Acta Physiol. Plant. 35: 1381–1396.

Job, C., L. Rajjou, Y. Lovigny, M. Belghazi, and D. Job. 2005. Patternsof protein oxidation in Arabidopsis seeds and during germina-tion. Plant Physiol. 138: 790–802.

Jyoti, and C.P. Malik. 2013. Seed deterioration: a review. Int. J. Life Sci. Biotechnol. Pharma Res. 2(3): 374–385.

Kafi, M., A. Nezami, H. Hoseyni, and A. Masoomi. 2009. Physiological effects of drought stress by polyethylene glycol on germination of lentil (*Lens culinaris* Medik L.) genotypes. J. Iranian Field Crop Res. 1(3): 69-79 (In Persian, with English abstract)

Kibinza, S., J. Bazin, C. Bailly, J.M. Farrant, F. Corbineau, and H. El-Marrouf Bouteau. 2011. Catalase is a key enzyme in seed recovery from ageing during priming. Plant Sci. 181: 309-315.

Lu, S., W. Su, H. Li, and Z. Guo. 2009. Abscisic acid improves drought tolerance of triploid bermudagrass and involves H2O2 and NO-induced antioxidant enzyme activities. Plant Physiol. Biochem. 7: 132–138.

Manish, K., S. Geetika, B. Renu, K. Sandeep, and J. Gaganodeep. 2010. Effect of exogenous H2O2 on antioxidant enzymes of Brassica juncea L.seedlings in relation to 24-epibrassinolide under chilling stress. Indian J. Biochem. Biophys. 47(6): 378–382.

Michel, B.E., and M.R. Kaufmann. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. Plant Physiol. 51: 914-916.

Moller, I.M., and L.J. Sweetlove. 2010. ROS signalling–specificity is required. Trends Plant Sci. 15(7): 370-374.

Müller, K., A. Linkies, R.A.M. Vreeburg, and S.C. Fry. 2009. Invivo cell wall loosening by hydroxyl radicals during cross seedgermination and elongation growth. Plant Physiol. 150: 1855–1865.

Nakano, Y., and K. Asada. 1981. Hydrogen peroxide scavenged by ascrobate-specific peroxidase in spinach chloroplast. Plant Cell Physiol. 22: 867–880.

Nautiyal, P.C. 2009. Seed and seedling vigour traits in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). Seed Sci. Technol. 37: 721-735.

Qiao, W., C. Li, and L.M. Fan, 2014. Cross-talk between nitric oxide and hydrogen peroxide in plant responses to abiotic stresses. Environ. Exper. Bot. 100: 84-93.

Rehman, H., H. Iqbal, S.M.A. Basra, I. Afzal, M. Farooq, A. Wakeel, and W. Ning. 2015. Seed priming improves early seedling vigor, growth and productivity of spring maize. J. Integ. Agric. 14(9): 1745–1754.

Santhy, V., M. Meshram, R. Walkde, and P.R. Vijaya Kumari. 2014. Hydrogen peroxide pre-treatment for seed enhancement in Cotton (*Gossypium Hirsutum* L.). African J. Agric. Res. 9(25): 1982-1989.

Sepehri, A., and H.R. Rouhi. 2016. Enhancement of seed vigor performance in aged groundnut (*Arachis hypogaea* L.) seeds by sodium nitroprusside under drought stress. Philipp. Agric. Scientist. 99(4): 339-347.

Sharma, P., R.S. Dubey, and M. Pessarakli. 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage and antioxidative defense mechanisms in plant under stressful conditions. Journal of Bot. 1-26.

Tabatabaei, S.A. 2013. The Effect of priming on germination and enzyme activity of sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds after accelerated aging. J. St. Physiol. Biochem. 9 (4): 132-138.

Taiz, L., and Zeiger, E. 2002. Plant Physiology, 3 edn. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts.

Takabe, T., A. Uchida, and T. Takabe. 2004. Effects of hydrogen peroxide on germination of Kentucky bluegrass. In Plant biology symposium, Lake Buena Vista, FL, USA (pp. 24-28).

Tale Ahmad, S., and Haddad, R. 2011. Study of Silicon Effects on Antioxidant Enzyme Activities and Osmotic Adjustment of Wheat under Drought Stress. Czech J. Genet. Plant Breed. 47 (1): 17–27.

Tanou, G., C. Job, L. Rajjou, E. Arc, M. Belghazi, G. Diamantidis, A. Molassiotis, and D. Job, 2009. Proteomics reveals the overlappingroles ofhydrogen peroxide and nitric oxide in the acclimationof citrus plants to salinity. The Plant J. 60: 795–804.

Varier, A., A.K., Vari, and M. Dadlani. 2010. The subcellular basis of seed priming. Current Sci. 99(4): 450-456.

Xia, F., X.Wang, M. Li, and P. Mao. 2015. Mitochondrial structural and antioxidant system responses to aging in oat (*Avena sativa* L.) seeds with different moisture contents. Plant Physiol. Biochem. 94: 122-129.

Yadav, P.V., M. Kumari, and Z. Ahmed. 2011. Seed priming mediated germination improvement and tolerance to subsequent exposure to cold and salt stress in capsicum. Res. J.Seed Sci. 4: 125–136.

Zhang, M., Z. Wang, L. Yuan, C. Yin, J. Cheng, L. Wang, J. Huang, and H. Zhang. 2014. Osmopriming improves tomato seed vigor under aging and salinity stress. Afric. J. Biotechnol. 11(23): 6305-6311.