"نشریه علوم و فناوری بذر ایران"
جلد دهم، شماره ٤، زمستان ١٤٠٠
(ص ٥٥-٣٣)
مقاله پژوهشی

Iranian Journal of
Seed Science and Technology
Vol.: 10, No.: 4, Winter 2022
(pp: 33-55)
DOI: 10.22034/ijsst.2021.351587.1359
Research Article

اثر پرایمینگ بذر در افزایش بنیه بذر، رشد گیاهچه و فعالیت‌های آنزیمی در بذور زوال یافته در چهار گونه اسپرس *Onobrychis. vicifolia O.sintensii, ،O.micoxchi , O.cristagalli*

آزاده کاوندی[1]، علی اشرف جعفری[2*]، امیر قربانخانی[1] و فرشته شاهبازی اصل[3]

۱. پژوهشگر، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
۲. استاد پژوهش، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران پست الکترونیک
۳. پژوهشگر، مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال ، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۹/۲۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۲۵)

چکیده

زوال بذر یکی از عوامل کاهش‌دهنده بنیه و محدودکننده جوانه‌زنی است. به‌منظور بررسی اسموپرایمینگ بر کاهش اثرات زوال بذور در ۴ گونه از جنس اسپرس *Onobrychis*، آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در ۴ تکرار در ژرمیناتور و گلخانه‌ای موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور به اجرا درآمد. گونه‌های مورد استفاده شامل (*O.cristagalli*، *O.micoxchi*، *O.sintensii* و *O.vicifolia*) بودند. جهت اعمال پیری‌زودرس، بذرها در معرض دمای ۴۱°C + و رطوبت ۱۰۰٪ در سه بازه زمانی (صفر)، ۴۸ ساعت و ۷۲ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند. تیمارهای پرایمینگ بذر شامل غلظت‌های صفر، ۰/۳- و ۰/۶- و ۱/۲- مگاپاسکال پلی‌اتیلن گلایکول بود که جهت بازیافت بذرهای زوال یافته مورد استفاده قرار گرفت و صفات مرتبط با جوانه‌زنی بذر اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که در هر دو آزمایش ژرمیناتور و گلخانه، زوال بذر سبب کاهش صفات جوانه‌زنی در همه گونه‌ها شد. اثر متقابل پرایمینگ در زوال بذر برای اکثر صفات معنی‌دار بود و میانگین صفات جوانه‌زنی بذرهای زوال یافته در گونه *O.vicifolia* نسبت به سایر گونه‌ها بیشتر بود. نتایج نشان داد که اسموپرایمینگ سبب بهبود میانگین اکثر صفات شد. اثر مثبت غلظت‌های بالاتر اسموپرایمینگ در افزایش طول ریشه و ساقه بذرهای پیرشده چشم‌گیر بود. در ادامه با نمونه‌گیری از گیاهان کشت شده در گلخانه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کاتالاز و پراکسیداز و دیسموتاز در گونه‌های اسپرس بررسی شد. نتایج نشان داد که زوال بذر سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز شد. بذرهای زوال یافته که با PEG پرایم شده بودند دارای فعالیت آنزیمی بیشتری بودند. نتیجه‌گیری شد که کاربرد هیدروپرایمینگ و اسموپرایمینگ سبب افزایش ویژگی‌های اندازه‌گیری شده در بذرهای پیر شده اسپرس می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: پیری‌زودرس، جوانه‌زنی، اسموپرایمینگ آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت

Effect of seed priming on enhancement of seed vigor, seedling growth and enzyme activities in accelerated aged seeds of four Sainfoin species

A. kavandi[1], A.A. Jafari[2*], A. Ghobankhani[1] and F. Shahbazi Asl[3]

1. Research Expert, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
2. Professor, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
3. Research Expert, Seed and Plant Certification and Registration Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
(Received: Dec. 11, 2020 – Accepted: Feb. 13, 2021)

Abstract

Seed deterioration is one of the factors reducing seed viability and vigor. In order to investigate the effect of osmopriming on seed vigor enhancement and seedling enzyme activities, a factorial experiment was conducted based on completely randomized design with four replications in the laboratory and greenhouse of Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran in 2015. Experimental factors were four sainfoin species as (*Onobrichis cristagalli*, *O. micoxchi*, *O. sintensii and O. vicifolia*), three levels of aged seeds using accelerated ageing techniques (41°C, 98% of RH for 48 and 72h and control) and five priming treatments including hydropriming (control) and osmopriming by application of PEG (0, -0.3, -0.6, -0.9 and -1.2 Mpa). Data were collected for germination percent, rate of germination, root length, shoot length, vigor index, seedling weight and the variability in the activities of three antioxidant enzymes as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and peroxidase (POD). Results showed that seed accelerated aging decreased germination traits in all of sainfoin species. Priming by seed aging interaction effect was significant for most of traits. The *O.vicifolia* had higher mean values for germination traits in deteriorated seeds. The result indicating that application of PEG (-0.6Mpa and -1.2 Mpa) in greenhouse had improved seedling growth as root and shoot length in all of the species. Measurement of enzymatic activity showed that the activities of antioxidant enzymes were decreasing in aged seeds of sainfoin. However, application of PEG (-0.6Mpa) had improved enzymatic activity in aged seeds. It was concluded that osmopriming may enhance seed vigor, seedling growth and enzyme activities in deteriorated seed of sainfoin.

Key words: Accelerated Aging, Germination, Osmopriming antioxidant enzymes

* Email: aajafari@rifr-ac.ir

مقدمه

اسپرس از تیره Fabaceae زیر تیره Papilionaceae و قبیله Hedysareae طایفه Trifolia و جنس Onobrychis که دارای ۱۳۰ گونه است که ۵۶ گونه آن در ایران دارای پراکنش طبیعی دارند. از این تعداد ۲۷ گونه انحصاری ایران هستند (Mozaffari and Abbasi, 2005). جنس اسپرس پراکنش وسیعی در ایران داشته و به‌دلیل خصوصیات مطلوب ازجمله تحمل به تنش‌های زیستی و کیفیت علوفه از دیرباز در بسیاری از مناطق کشور به‌ویژه استان‌های اردبیل، کردستان، شهرکرد، آذربایجان شرقی و غربی، اصفهان، تهران، قزوین و زنجان برای تولید علوفه استفاده می‌شود (Baghaie-Nia *et al.*, 2010). اسپرس به‌علت دارا بودن ریشه‌های قوی و انبوه و مقاومت به خشکی برای جلوگیری از فرسایش و اصلاح شیب اراضی شیب دار با عمق کم خاک و تحت‌الارض آهکی مناسب‌تر از یونجه است (Ghanavati and Amirabadizadeh. 2012) زوال بذر یک زنجیره وقایع بیوشیمیایی است که غالبًا با خسارت به غشاء و اختلال واکنش‌های بیوشیمیایی آغاز می‌شود. پس از آن بسیاری از خواص حیاتی بذر کاهش می یابد، که با کاهش سرعت جوانه زنی، کاهش استقرار گیاهچه و افزایش گیاهچه‌های غیرطبیعی آغاز شده و نهایتاً به مرگ بذر می انجامد. کاهش قابلیت حیات منجر به تغییرات شیمیایی و ساختمانی برگشت ناپذیر در ترکیبات سلولی می‌شود (Walters *et al.*, 2010; Sheidaei *et al.*, 2016). عوامل دیگر نظیر شرایط محیطی طی مرحله تولید بذر، آفات و بیماری‌ها، محتوی روغن بذر، مدت انبار کردن، آسیب‌های مکانیکی به بذر طی فرآوری، نوسان رطوبت (شامل خشکی)، هوازدگی، کمبود مواد غذایی، بسته‌بندی، آفت‌کش‌ها، حمل و نقل نادرست، خشک کردن و آسیب بیوشیمیایی بافت بذری می تواند بر بنیه بذر مؤثر باشد (Astegar *et al.*, 2011; Simic *et al.*, 2007; Oskouei and Sheidaei, 2013;).

از دست رفتن تمامیت غشاء سلولی یکی از مهمترین دلایل افت قدرت حیات است. در شرایط نامناسب انبارداری از بین رفتن نفوذپذیری غشاء باعث افزایش نشت ترکیبات بذری و پس از آن از بین رفتن قدرت حیات بذر می‌شود. طی زوال بذر، خسارت غشاء نشت الکترولیتی را افزایش می دهد (Oskouei and Sheidaei, 2013; Sheidaei *et al.*, 2016) از جمله پیامدهای خسارت غشاء می‌توان به موارد شکاف در ساختار پلاسمالما و انقباض آن از دیواره سلولی، فقدان دیسیتوزوم‌ها، پراکنده شدن مونوزوم‌ها در سیتوپلاسم، تکه‌تکه شدن میتوکندری و پلاستیدها، به هم پیوستن ذرات لیپیدی، تغلیظ کروماتین و هسته‌های بریده و غیر حلالیت غشاهای ساختار لیزومیک اشاره کرد (Yoti and Malik, 2013) .

در دو دهه گذشته پژوهش‌های زیادی برای درک عوامل بنیادی فیزیولوژی زوال بذر و راه‌های کنترل آن صورت گرفته است اما هنوز دلایل قاطعی برای کاهش توان زیستی بذر در طی زوال ارائه نشده است. برخی محققان علت زوال بذر را پراکسیداسیون لیپید ناشی از افزایش گونه‌های اکسیژن فعال گزارش کردند (Tian *et al.*, 2008). در برخی از گزارش‌ها علت زوال بذر غیرفعال شدن آنزیم‌ها، اختلال در کارکرد غشاء سلولی و خسارت به اسید آمینه‌ها دانسته‌اند (Freitas et al, 2006). افزایش فعالیت آنزیم‌های هیدرولتیک که در نتیجه منجر به تجزیه پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها می‌شود نیز به عنوان علل زوال بیان شده‌اند (Bailly et al, 2008).

در اغلب پژوهش‌ها از آزمون تسریع پیری برای مطالعه زوال استفاده شده است (Basra *et al.*, 2003; Kalpana and Madhava Rao, 1996) به این صورت که بذرها در یک دوره کوتاه مدت تحت تاثیر دمای بالای (۳۸-۴۵ درجه سانتی‌گراد) و رطوبت نسبی زیاد (حدود ۱۰۰درصد) قرار می‌گیرند (Pukacka and Ratajczak, 2005). به بیان دیگر تحت این تیمار، بذرها سریعاً دچار زوال می‌شوند و با گذشت مدت زمان کوتاهی جوانه‌زنی

آنها به‌شدت کاهش می‌یابد و به صفر می‌رسد. اولین مرحله رشد گیاه جوانه‌زنی بذر است که طی سه مرحله جذب آب، کمون و خروج ریشه‌چه انجام می‌شود. فعالیت آنزیم‌ها طی مراحل اول و دوم شروع می‌شود و طی مرحله دوم تنفس افزایش یافته، واکنش‌های تجزیه و سنتز آغاز شده و فعال شدن آنزیم‌ها سبب شکستن بافت‌های ذخیره‌ای و نیز انتقال مواد می‌شود و سرانجام در مرحله سوم ریشه‌چه قابل رؤیت می‌شود. بنابراین تیمارهای اعمال شده برای ارتقاء شرایط بذر باید در مرحله اول و دوم جوانه‌زنی و قبل از خروج ریشه‌چه اعمال گردد (McDonald., 2000). از جمله فواید تیمارهای پرایمینگ بذر می‌توان به افزایش درصد جوانه‌زنی، خروج یکنواخت‌تر و سریع‌تر گیاهچه‌ها، پیشرفت بلوغ، دامنه دمایی وسیع‌تر برای جوانه‌زنی، بازسازی سلول‌های آسیب‌دیده، کاهش موانع رشد جنین، افزایش کمی و کیفی سنتز پروتئین‌ها، حذف خواب بذر، افزایش تحمل به تنش‌های محیطی هنگام کشت و افزایش قدرت نمو گیاه اشاره کرد. خان و همکاران (Khan et al, 1992) گزارش کردند که پرایمینگ سبب افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت از قبیل گلوتاتیون و آسکوربات در بذر می‌گردد، که این آنزیم‌ها فعالیت پراکسیداسیون لیپید را طی جوانه‌زنی کاهش داده و باعث افزایش درصد جوانه‌زنی می‌شود. تکنیک‌های معمول پرایمینگ شامل اسموپرایمینگ (خیساندن بذرها در محلول‌های اسمزی)، هیدروپرایمینگ (خیساندن بذرها در آب) و هالوپرایمینگ (خیساندن بذرها در محلول‌های نمکی می‌باشد. در روش هیدروپرایمینگ، بذرها با آب خالص و بدون استفاده از هیچ ماده شیمیایی تیمار می‌شوند. این نوع پرایمینگ بسیار ساده و ارزان بوده و مقدار جذب آب از طریق مدت زمانی که بذرها در تماس با آب هستند کنترل می‌شود. اسموپرایمینگ نیز نوع خاصی از آماده‌سازی پیش از کاشت بذرها می‌باشد که از طریق قراردادن بذرها در محلول‌هایی با پتانسیل اسمزی پایین مانند پلی‌اتیلن گلیکول، سولفات‌سدیم، سولفات‌منیزیم، کلرورسدیم، کلرورپتاسیم وکلرورکلسیم در آزمایش‌ها استفاده می‌شود (Ashraf and Foolad, 2005).

اسموپرایمینگ فرایندی است که طی آن بذرها در یک محیط اسمزی هوادهی شده با پتانسیل کم آب، خیسانده می‌شوند تا با استفاده از مواد شیمیایی، میزان کمی آب در اختیار بذر قرار گیرد و مراحل مقدماتی جوانه‌زنی تا قبل از خروج ریشه‌چه و ساقه‌چه انجام شود و بذرها برای جوانه‌زنی در مراحل بعدی آماده شوند (Artola *et al.*, 2003). احیای ناقص اکسیژن اتمسفری، سبب تشکیل فرم‌های فعال اکسیژن نظیر رادیکال سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل می‌شود (Blokhina *et al.*, 2003). پرایمینگ بذر با ویتامین C و هیدروپرایمینگ نیز باعث افزایش فعالیت کاتالاز و سوپراکسید دسموتاز می‌شود (Burguieres *et al.*, 2007). واریر و همکاران (Varier *et al.*, 2010) گزارش کردند که تیمارهای پرایمینگ باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در پنبه شده است. نتایج برخی پژوهش‌ها نشان داده که یک ارتباط قوی میان تحمل به تنش‌های محیطی و افزایش در غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان وجود دارد هرچند واکنش آنزیم کاتالاز در شرایط تنش خشکی متغیر بوده و می‌تواند افزایشی، کاهشی یا بدون تغییر باشد (Ashkani *et al.*, 2007). در تحقیق دیگری اسدی وهمکاران (Asadi *et al.*, 2013) آزمون پیری زودرس را بر روی بذرهای سورگوم به‌مدت ۳ و ۶ روز انجام دادند. نتایج آنها نشان داد که پیری‌زودرس سبب کاهش درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی می‌گردد. همچنین با افزایش مدت زمان پیری‌زودرس شاخص‌های جوانه‌زنی کاهش بیشتری را نشان داد. هدف از این تحقیق بررسی اثر اسموپرایمینگ بر بهبود صفات جوانه‌زنی بذرهای زوال یافته ۴ گونه اسپرس می‌باشد.

مواد و روش‌ها

بذر ۴ گونه اسپرس (*O.cristagalli*، *O.micoxchi*، *O.sintensii* و *O.vicifolia*) از بانک ژن منابع طبیعی موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع تهیه گردید. به‌منظور بررسی تاثیر اسموپرایمینگ در افزایش توان جوانه‌زنی و رشد گیاهچه بذور زوال یافته در چهار گونه اسپرس، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۴ تکرار در سال ۱۳۹۴ در آزمایشگاه تکنولوژی بذر و گلخانه موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع انجام گرفت. از هر گونه یک جمعیت استفاده شد (جدول۱). فاکتورهای آزمایش شامل: الف) ۴ گونه اسپرس، ب) ۳ سطح زوال مصنوعی (پیری‌زودرس) (با ایجاد دمای ۴۱ + و رطوبت ۱۰۰٪ در دو بازه زمانی ۴۸ ساعت و ۷۲ ساعت در انکوباتور) و بذور بدون زوال (شاهد) بودند (McDonald, 1999). ج) تیمارهای پرایمینگ بذر در ۵ سطح شامل اسموپرایمینگ (پلی‌اتیلن گلایکول ۰/۳- ، ۰/۶-، ۰/۹- و ۱/۲- مگاپاسکال) و شاهد آب مقطر (هیدروپرایمینگ) به مدت ۲۴ ساعت در دمای اطاق (۲۴°C) بود. به منظور ضدعفونی کردن بذرها از محلول هیپوکلریت‌سدیم یک درصد به‌مدت یک دقیقه استفاده شد و پس از شست‌شو با آب‌مقطر بذرها برای انجام آزمایش‌ها استفاده شدند. در تیمار اسموپرایمینگ، برای تهیه محلول‌های مورد نیاز، مقدار پلی اتیلن گلایکول بر اساس رابطه میشل و کافمن (Michel and Kaufman, 1973) محاسبه گردید. در تیمار هیدروپرایمینگ از آب مقطر استفاده شد. بذرهای پرایم شده در پتری دیش (۲۵ عدد بذر) کشت شدند و در ژرمیناتور در شرایط استاندارد جوانه‌زنی قرار گرفتند.

روش تحقیق در آزمایش گلخانه ای، مشابه آزمایش ژرمیناتور بود با این تفاوت که ، به دلیل محدودیت در اندازه گیری آنزیم‌های مورد نظر ، تیمارهای پرایمینگ در ۳ سطح شامل اسموپرایمینگ (پلی‌اتیلن گلایکول۰/۶- و ۱/۲- مگاپاسکال و شاهد (هیدروپرایمینگ) بر روی بذرهای شاهد و زوال یافته اعمال شد.

جهت اعمال تیمارها ۱۰۰ عدد بذر از هر جمعیت در هر یک از تیمارها به‌مدت ۲۴ ساعت در محلول‌های سه گانه آماده شده قرار گرفتند. بعد از اعمال تیمارهای پرایمینگ، بذرها به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای اطاق (۲۴°C) قرار گرفتند تا خشک شوند. پس از خشک شدن، به پتری دیش و گلدان منتقل شدند. در هر گلدان تعداد ۲۵ عدد بذر کشت شدند. حجم گلدان‌ها یک لیتر و با خاک معمولی و ماسه و پیت‌ماس به نسبت ۱، ۱ و ۱ کشت گردید (به‌طوری که تعداد گلدان‌ها ۹۶ عدد (۴×۲×۳×۴) بودند. درجه حرارت گلخانه در روز ۵±۲۰ درجه سانتی‌گراد و در شب ۵-۱۲ درجه سانتی‌گراد و نور ۱۰۰۰۰ لوکس بود. پس از ۴۵ روز صفات مختلف مرتبط با سبز شدن یادداشت شدند. پس از سبز شدن بذرها هر دو روز یک‌بار یادداشت‌برداری تا زمانی که فرایند رشد تکمیل و متوقف شد صورت گرفت و صفات درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، شاخص بنیه بذر، وزن تر گیاهچه‌ها اندازه‌گیری شدند.

برای محاسبه سرعت جوانه‌زنی (Rg) از فرمول مگوایر (Maguire, 1962) استفاده گردید.

$$Rg = \frac{\text{تعداد بذر جوانه‌زده}}{\text{روزشمارش‌اول}} + ... + \frac{\text{تعداد بذر جوانه‌زده}}{\text{روزشمارش‌اخر}}$$

جهت ارزیابی شاخص بنیه گیاهچه (Seedling vigor index) (SVI) از فرمول عبدالباقی و اندرسون (Abdual-baki and Anderson, 1973)

SVI =(میانگین طول ساقه‌چه+ میانگین طول ریشه‌چه)× درصد جوانه‌زنی نهایی

در آزمایش گلخانه جهت اندازه گیری آنزیم‌های مورد آزمایش، بر اساس تست‌های انجام شده بر روی تیمار۱/۲- مگاپاسکال نتیجه مطلوبی حاصل نشد و به همین دلیل فقط از بذرهای پرایم شده به روش (هیدروپرایمینگ ۰ مگاپاسکال و اسموپرایمینگ ۰/۶- مگاپاسکال) آنزیم‌ها

استخراج و توسط دستگاه اسپکتوفتومتریک به شرح زیر اندازه‌گیری شدند.

میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (Super oxide Dismutase) با نام اختصاری (SOD) به روش اصلاح شد (Giannopolitis and Ries, 1977) مورد سنجش قرار گرفت، مخلوط واکنش شامل ۳ میلی‌لیتر از بافر ۰/۱ مول در لیتر فسفات با pH۷/۸ که حاوی ۱/۳ میکرومول در لیتر ریبوفلاوین، ۱۳ میلی مول در لیتر متیونین، ۶۳ میکرومول در لیتر نیتروبلو تترازولیوم و ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیم بود. فعالیت آنزیم SOD با اندازه گیری توانایی عصاره آنزیم در مهار کاهش فتوشیمیایی NBT مورد سنجش قرار گرفت. لوله‌های حاوی محلول عصاره آنزیمی با میزان جذب در ۵۶۰ نانومتر اندازه گیری شدند. فعالیت آنزیم پراکسیداز (Peroxidas) با نام اختصاری (POD)، به روش اصلاح شده شانون و همکاران (Shannon *et al.*, 1996) مورد سنجش قرار گرفت. مخلوط واکنش شامل ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیم، ۲ میلی‌لیتر از محلول ۰/۱ میلی مول در لیتر بافر استات سدیم با pH۴/۵ و ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول ۲۰ میلی‌مولار گایاکول بود. این واکنش با افزودن ۰/۱ میلی‌لیتر از ۰/۲ مول در لیتر H_2O_2 آغاز شد. تغییر در جذب در ۴۷۰ نانومتر با فاصله ۱۵ ثانیه به مدت ۲ دقیقه ثبت شد. فعالیت آنزیم به صورت واحد (mg protein^{-1}) بیان شد.

میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (Catalase) با نام اختصاری (CAT) به روش اصلاح شده ایبی (Aebi, 1984) برآورد شد. مخلوط واکنش شامل ۰/۶ میلی‌لیتر عصاره آنزیم ، ۰/۱ میلی‌لیتراز ۱۰ میلی مول در لیتر H_2O_2 و ۲ میلی‌لیتراز ۳۰ میلی مول در لیتر بافر فسفات پتاسیم با pH۷/۰ بود. جذب بلافاصله پس از افزودن عصاره آنزیم در فاصله ۱۵ ثانیه به مدت ۲ دقیقه در ۲۴۰ نانومتر خوانده شد.

قبل از تجزیه واریانس، نرمال بودن داده‌ها به روش Kolmogorov-Smirnov در نرم‌افزار Minitab مورد آزمون قرار گرفتند و داده‌های درصد جوانه‌زنی با استفاده از روش زاویه‌ای Arc Sin √Y و داده‌ها بقیه صفات در صورت غیرنرمال بودن به روش جذری تبدیل شدند. پس اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، تجزیه واریانس و مقایسه میانگین به روش دانکن در سطح احتمال خطای ۱ درصد با نرم‌افزار SAS 9.1، انجام شد. رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel صورت گرفت.

جدول ۱- منشاء و سال جمع آوری بذر ، مشخصات جغرافیایی، وزن هزار دانه بذور ۴ گونه اسپرس مورد مطالعه

Table 1- Seed origin, year of collection, geographical characteristics, 1000-seed weight of four sainfoin species.

نام علمی نمونه Name of specis	کد اکسشن Accession code	منشاء جمع‌آوری بذر Origin of seeds	وزن هزار دانه 1000 grain weigth	سال جمع‌آوری Year of collection	ارتفاع از سطح‌دریا Altitude m	عرض جغرافیایی Latitude	طول جغرافیایی Longitude
O. michauxii	1658	آذربایجان شرقی-تبریز West Arerbijan-Tabriz	6.2	79	1700	38°03′48″	46°28′48″
O. crista-galli	6595	لرستان-کوهدشت Lorestan-Kohdasht	15.8	80	1150	33°25′00″	47°25′00″
O. sintenisii	35098	اصفهان-چادگان Isfahan-Chadegan	40.1	90	2200	35°51′42″	51°41′12″
O. viciaefolia	8199	البرز-اشتهارد Alborz-Eshtahard	20.1	80	1183	35°43′00″	50°06′00″

نتایج و بحث

آزمایشگاه

نتایج تجزیه واریانس اثر پیری زودرس بذر و پرایمینگ بذر در ۴ گونه اسپرس نشان داد که اثر اصلی گونه، پیری زودرس و پرایمینگ بذر برای کلیه صفات در سطح احتمال خطای ۱ درصد معنی‌دار بود. اثرات متقابل دوجانبه و سه جانبه فاکتورهای مذکور برای کلیه صفات در سطح احتمال خطای ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول۲).

نتایج مقایسه بین گونه‌ها نشان داد که برای کلیه صفات جوانه‌زنی بجز وزن تر گیاهچه، گونه *O.viciaefolia* دارای بیشترین میانگین بود و تفاوت معنی‌داری نسبت به سایر گونه‌ها داشت (جدول۳). برای صفات طول ساقه‌چه و طول ریشه‌چه کمترین مقدار در *O.cristagalli* بدست آمد و از این لحاظ بین بقیه گونه‌ها تفاوت آماری وجود نداشت و همگی در یک گروه قرار گرفتند.

مقایسه بین تیمارهای زوال بذر نتایج نشان داد که بیشترین و کمترین میزان کلیه صفات بجز طول ریشه‌چه به ترتیب مربوط تیمار شاهد و پیری ۷۲ ساعت بود (جدول۴). برای صفت طول ریشه‌چه، بیشترین طول ریشه‌چه در تیمار پیری ۴۸ ساعت بدست آمد. بنابراین در بذرهای زوال یافته ۴۸ ساعت، میزان طول ریشه بیشتر بود.

رسام و همکاران (Rassam *et al.*, 2014) با ایجاد پیری تسریع شده در شرایط آزمایشگاهی روی گیاه آفتابگردان مشاهده کردند که طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در مقایسه با شاهد کاهش یافت. عوامل مختلفی در زوال بذر نقش دارند. بلدی و همکاران (Baladi *et al.*, 2016) در گیاه کتان روغنی نشان دادند که افزایش دما و درصد رطوبت در شرایط زوال، شاخص‌های جوانه‌زنی و بنیه گیاهچه را کاهش می‌دهد.

نتایج مقایسه بین تیمارهای پرایمینگ نشان داد که کمترین و بیشترین درصد و سرعت جوانه‌زنی، شاخص بنیه به ترتیب مربوط به تیمارهای شاهد و اسموپرایمینگ ۱/۲- مگا پاسگال بود. این روند برای سایر صفات متفاوت بود بطوری که برای طول ریشه‌چه، بیشترین مقدار مربوط به اسموپرایمینگ‌های ۰/۹- و ۱/۲- مگاپاسگال بود و کمترین مقدار مربوط به تیمار شاهد بود (جدول ۵). مشابه این نتیجه، فروغ (Farooq, 2006) در گیاهچه حاصل از جوانه‌زنی بذور پرایم شده، گوجه فرنگی، ذرت و برنج، طول ریشه‌چه و ساقه چه بیشتری مشاهده نمود. این افزایش در مورد ریشه‌چه بیشتر و قابل ملاحظه بود. علاوه براین، سرعت رشد و توسعه ریشه در گیاهان حاصل از بذور مذکور بیشتر بود. در روش اسموپرایمینگ به گیاه اجازه داده می‌شود که بذرها در محلول‌های با پتانسیل اسمزی پایین مقداری آب جذب کنند بطوری که مرحله اولیه جوانه‌زنی انجام شده در حالی که ریشه‌چه خارج نشود سپس بذرها شسته، خشک شده و کشت می‌شوند (Schimtz *et al.*, 2001). از لحاظ وزن تر گیاهچه نتایج متفاوت بود بطوری که بیشترین وزن تر گیاهچه مربوط به تیمارهای شاهد و اسموپرایمینگ ۱/۲- مگا پاسگال بود. نتایج تحقیقات آزوز (Azooz, 2009)، بیانگر آن است که پرایمینگ بذر باقلا سبب بهبود وزن گیاهچه گردید. زیرا، پرایمینگ، علاوه بر اثر مثبت بر افزایش جوانه‌زنی بذر، به گیاهچه‌های در حال رشد زمان بیشتری برای رشد و نمو می‌دهد (Matsushima and Sakagami. 2013).

اثر متقابل پیری در گونه برای همه صفات معنی‌دار بود که نشان‌دهنده این بود که هر یک از گونه‌ها، قابلیت زوال متفاوتی دارند. با این وجود در همه گونه‌ها، بیشترین و کمترین میزان صفات جوانه‌زنی به ترتیب در تیمار شاهد و پیری ۷۲ ساعت بدست آمدند. بیشترین شاخص بنیه بذر در پیری ۴۸ ساعت در گونه *O. viciaefolia* بدست آمد. برای طول ریشه‌چه روند متفاوت بود. در تیمار پیری ۴۸ و ۷۲ ساعت گونه‌های *O. michauxii* و *O. viciaefolia* و *O. sintenisii* دارای بیشترین طول ریشه‌چه بودند که نشان‌دهنده این است که در گونه‌های زوال یافته طول ریشه‌چه نسبت به تیمار شاهد افزایش می‌یابد (داده‌ها نشان داده نشده‌اند).

جدول۲- تجزیه واریانس اثر پرایمینگ بذر بر صفات جوانه‌زنی بذردر ۴ گونه اسپرس تحت‌تاثیر تیمارهای پیری‌زودرس در شرایط آزمایشگاه

Table 2- Analysis of variance (MS) of the effcts of seed priming on enhancement of seed germination traits in accelerated aged seeds of four Sainfoin species under laboratory conditions

منابع تغییرات Source of Variation	درجه آزادی HSJ DF	درصد جوانه‌زنی Germination %	سرعت جوانه‌زنی Rate of germination	طول ساقه‌چه shoot length	طول ریشه‌چه root length	شاخص بنیه vigor index	وزن تر گیاهچه seedling weight
گونه Species (S)	3	3.08**	59.40**	2.18**	2.00**	3.86**	59.75**
پیری زودرس Aging test (A)	2	4.47**	112.78**	0.19**	0.67**	0.52**	7.87**
پرایمینگ بذر Proming (P)	4	0.75**	15.24**	0.42**	1.11**	0.59**	24.72**
گونه در تیمار پیری S × A	6	0.08**	1.82**	0.05	0.20**	0.16**	22.40**
گونه در پرایمینگ S × P	12	0.06**	1.51**	0.06**	0.23**	0.24**	24.87**
تیمار پیری در پرایمینگ A × P	۸	0.10**	1.61**	0.24**	0.40**	0.23**	5.38**
گونه×پیری× پرایمینگ S × A× P	24	0.05**	0.70**	0.08**	0.12**	0.14**	6.54**
خطای آزمایش Error	98	0.012	0.280	0.031	0.052	0.061	1.800
درصد ضریب تغییرات CV%		14.09	13.71	13.80	11.21	10.54	13.44

*, **= significant at P= 0.05 and 0.01 levels, respectivel

** و * به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۱ و ۵ درصد

جدول۳- مقایسه میانگن صفات جوانه‌زنی در ۴ گونه بر اساس میانگین اثرات پیری زودرس و ۵ سطح پرایمینگ بذر در شرایط آزمایشگاه

Table 3- Means of seed germination traits in four sainfoin species averaged over three levels of accelerated aging test and five proming tratments under laboratory conditions

نام گونه Species	درصد جوانه‌زنی Germination %	سرعت جوانه‌زنی Rate of germination	طول ساقه‌چه Shoot length (cm)	طول ریشه‌چه Root length (cm)	شاخص بنیه Vigor index	وزن تر گیاهچه Seedling weight (mg)
O.cristagalli	53.19 b	17.11 b	1.02 b	2.91 b	1.99 b	123.29 a
O.michauxii	47.19 c	14.72 c	1.85 a	4.08 a	2.79 a	103.65 b
O.sintenisii	35.36 d	11.57 d	1.79 a	3.95 a	2.04 a	83.60 c
O.viciaefolia	71.62 a	26.20 a	1.76 a	3.95 a	3.97 a	105.06 b

میانگین صفات در هر یک از ستون‌ها که دارای حروف مشابهی هستند بر اساس آزمون دانکن ۱ درصد از لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار ندارند.

Means of traits in column with the same letter are not significantly different (P=0.01)

جدول۴- مقایسه اثر تیمارهای پیری‌زودرس بر صفات جوانه‌زنی بر اساس میانگین ۴ گونه اسپرس و ۵ سطح پرایمینگ بذر در شرایط آزمایشگاه

Table 4- Means of seed germination traits in three levels of accelerated aging test averaged over four sainfoin species under laboratory conditions

تیمار پیری زود رس Accelerated aging	درصد جوانه‌زنی Germination %	سرعت جوانه‌زنی Rate of germination	طول‌ساقه‌چه Shoot length (cm)	طول‌ریشه‌چه Root length (cm)	شاخص بنیه Vigor index	وزن تر گیاهچه Seedling weight (mg)
شاهد Control	66.62 a	23.89 a	1.62 a	3.53 b	2.83 b	110.73 a
پیری ۴۸ ساعت Ageing test 48 h	49.69b	15.61b	1.68 a	4.01 a	3.40 a	106.02 a
پیری ۷۲ ساعت Ageing test 72 h	31.74 c	8.65 c	1.45 b	3.85 a	1.73 c	93.78 b

میانگین صفات در هر یک از ستون‌ها که دارای حروف مشابهی هستند بر اساس آزمون دانکن ۱ درصد از لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار ندارند.

Means of traits in column with the same letter are not significantly different (P=0.01)

جدول ۵- مقایسه بین اثر تیمارهای پرایمینگ بذر بر صفات جوانه‌زنی بر اساس میانگین ۳ تنش زوال و ۴ گونه اسپرس در شرایط آزمایشگاه

Table 5- Means of seed germination traits in five priming treatment averaged over three accelerated aging test and four sainfoin species under laboratory conditions

تیمار پرایمینگ Priming treatment	درصد جوانه‌زنی Germination%	سرعت جوانه‌زنی Rate of Germination	طول ساقه‌چه Shoot length (cm)	طول ریشه‌چه Root length (cm)	شاخص بنیه Vigor index	وزن تر گیاهچه Seedling weight (mg)
هیدروپرایمینگ Hydropriming (Control)	59.58 a	21.73 a	1.95 a	3.21 c	2.65 b	120.22 a
اسموپرایمینگ۰/۳- Osmopriming (-0.3Mpa)	52.61 b	16.85 c	1.51 b	3.55 c	2.38 c	98.27 c
اسموپرایمینگ۰/۶- Osmopriming (-0.6Mpa)	55.08 b	18.28 b	1.44 b	3.81 b	2.62 b	103.90 b
اسموپرایمینگ۰/۹- Osmopriming (-0.9Mpa)	41.67 c	12.83 d	1.45 b	4.24 a	3.00 a	84.60 d
اسموپرایمینگ۱/۲- Osmopriming (-1.2Mpa)	41.37 c	11.96 d	1.56 b	4.33 a	2.83 a	113.42 b

میانگین صفات در هر یک از ستون‌ها که دارای حروف مشابهی هستند بر اساس آزمون دانکن ۱ درصد از لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار ندارند.

Means of traits in column with the same letter are not significantly different (P=0.01)

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار پرایمینگ در گونه نشان داد که در همه گونه‌ها بیشترین و کمترین سرعت و درصد جوانه‌زنی به ترتیب مربوط به تیمار شاهد و اسموپرایمینگ۱/۲- مگاپاسکال بود. تیمارهای اسموپرایمینگ در گونه *O.viciaefolia* موجب افزایش بنیه بذر نسبت به شاهد شدند. ولی در سایر گونه‌ها پرایمینگ تاثیری در افزایش بنیه بذر نسبت به تیمار شاهد نداشت. در مقابل تیمارهای اسموپرایمینگ در همه گونه‌ها موجب افزایش طول ریشه‌چه در مقایسه با شاهد شدند. از لحاظ وزن تر گیاهچه، تیمار اسموپرایمینگ ۱/۲- مگاپاسکال در گونه *O. cristagalli* با عملکرد ۱۶۷/۴۴ میلی گرم بیشترین وزن تر گیاهچه را داشت (داده‌ها نشان داده نشده‌اند)

اثرات متقابل در پرایمینگ در زوال بذر به تفکیک گونه‌ها در آزمایشگاه

با توجه به معنی‌دار بودن اثرمتقابل سه جانبه گونه در پرایمینگ بذر در زوال ، بعلت زیاد بودن تعداد تیمارها (۶۰ ترکیب)، از مقایسه آنها در یک جدول صرفنظر شد و مقایسه میانگین اثر متقابل زوال در پرایمینگ به تفکیک هر یک گونه‌ها انجام شد و نتایج در جداول ۶ الی ۹ درج گردید.

الف) گونه *O. cristagalli*: نتایج اثرمتقابل پرایمینگ در زوال برای گونه *O. cristagalli* نشان داد که بیشترین و کمترین درصد و سرعت جوانه‌زنی در همه تیمارهای پرایمینگ بذر به ترتیب در بذرهای سالم (شاهد) و پیر شده (۷۲ ساعت) بدست آمد و برای درصد جوانه‌زنی تفاوت معنی‌داری بین بذرهای سالم و پیر شده (۴۸ ساعت) مشاهده نشد ولی بیشترین سرعت جوانه‌زنی در هیدروپرایمینگ بر روی بذرهای سالم بدست آمد. این روند برای طول ساقه چه نیز مشاهده شد. در مقابل، برای طول ریشه چه و شاخص بنیه بذر، کمترین و بیشترین طول ریشه چه در بذرهای سالم و پیر شده (۷۲ ساعت) در همه تیمارهای پرایمینگ، مشاهده شد. از لحاظ وزن تر گیاهچه تیمارهای پرایمینگ تاثیر معنی‌داری بر بذرهای پیر شده و سالم نداشتند (جدول۶).

جدول ۶- مقایسه اثرات متقابل بین تیمارهای پرایمینگ و پیری زود رس بر صفات جوانه‌زنی بذر در گونه اسپرس *O.cristagalli* در شرایط آزمایشگاه

Table 6- Means of priming by accelerated aging interaction effects on seed germination traits in *O.cristagalli* under laboratory conditions

تیمار پرایمینگ Priming treat	پیری زود رس Accelerated aging	درصد جوانه‌زنی Germination %	سرعت جوانه‌زنی Rate of germination	طول‌ساقه‌چه Shoot length (cm)	طول‌ریشه‌چه Root length (cm)	شاخص بنیه Vigor index	وزن تر Fresh weight (mg)
هیدروپرایمینگ Hydropriming	شاهد Control	88.33 a	34.25 a	1.85a	1.49e	3.35c	143.2ab
	پیری ۴۸ Ageing 48h	84.17 a	26.59 b	1.16b	3.03bc	4.18b	138.2ab
	پیری ۷۲ Ageing 72h	30.00 d	8.54 cd	0.98b	3.85ab	4.83ab	105.7bc
اسموپرایمینگ۰/۳- Osmopriming (-0.3Mpa)	شاهد Control	72.50 ab	27.12 b	0.86c	2.13cd	2.99c	118.5b
	پیری ۴۸ Ageing 48h	53.33 bc	13.34 c	0.74c	2.02d	2.77c	122.2b
	پیری ۷۲ Ageing 72h	25.00 d	5.14 d	0.97b	2.66c	3.63bc	109.1bc
اسموپرایمینگ۰/۶- Osmopriming (-0.6Mpa)	شاهد Control	72.50 ab	24.98 b	0.75c	2.32c	3.07c	119.0b
	پیری ۴۸ Ageing 48h	60.83 b	18.71b	1.43ab	3.45b	4.88ab	70.0c
	پیری ۷۲ Ageing 72h	23.75 d	4.79 d	0.97b	3.86ab	4.82ab	77.4c
اسموپرایمینگ۰/۹- Osmopriming (-0.9Mpa)	شاهد Control	49.17 bc	16.14 bc	1.08b	3.45b	4.53ab	109.9bc
	پیری ۴۸ Ageing 48h	44.17 c	14.13 c	0.98b	3.51b	4.49ab	100.0bc
	پیری ۷۲ Ageing 72h	30.00 d	8.09 cd	0.91b	4.39a	5.30a	88.3c
اسموپرایمینگ۱/۲- Osmopriming (-1.2Mpa)	شاهد Control	51.67 bc	14.59 c	0.72c	2.64c	3.36c	171.1a
	پیری ۴۸ Ageing 48h	45.83 c	12.03 c	1.14b	3.50b	4.64ab	154.8a
	پیری ۷۲ Ageing 72h	20.83 d	4.30 d	0.89bc	2.90c	3.79bc	176.4a

میانگین صفات در هر یک از ستون‌ها که دارای حروف مشابهی هستند بر اساس آزمون دانکن ۱ درصد از لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار ندارند.

Means of traits in column with the same letter are not significantly different (P=0.01)

ب) گونه *O. michauxii*: نتایج اثرمتقابل پرایمینگ در زوال برای گونه *O. michauxii* نشان داد که بیشترین و کمترین درصد و سرعت جوانه‌زنی در همه تیمارهای پرایمینگ بذر به ترتیب در بذرهای سالم و پیر شده (۷۲ ساعت) بدست آمد. برای طول ساقه چه، طول ریشه چه و شاخص بنیه بذر، تیمارهای اسموپرامینگ ۰/۶- ،۰/۹- و ۱/۲- مگاپاسکال، بیشترین مقدار در بذرهای پیر شده (۴۸ ساعت) داشتند. از لحاظ وزن تر گیاهچه، تیمارهای پرایمینگ تاثیر معنی‌داری بر بذرهای پیر شده و سالم نداشتند اگرچه بیشترین میانگین وزن تر گیاهچه مربوط به بذرهای شاهد بود (جدول۷).

جدول ۷- مقایسه اثرات متقابل بین تیمارهای پرایمینگ و پیری زود رس بر صفات جوانه‌زنی بذر در گونه اسپرس *O.michauxii* در شرایط آزمایشگاه

Table 7- Means of priming by accelerated aging interaction effects on seed germination traits in *O.michauxii* under laboratory conditions

تیمار پرایمینگ Priming treat	پیری زود رس Accelerated aging	درصد جوانه‌زنی Germination %	سرعت جوانه‌زنی Rate of germination	طول‌ساقه‌چه Shoot length (cm)	طول‌ریشه‌چه Root length (cm)	شاخص بنیه Vigor index	وزن تر Fresh weight (mg)
هیدروپرایمینگ Hydropriming	شاهد Control	89.17 a	32.61 a	2.62a	2.22de	4.84d	134.8a
	پیری ۴۸ Ageing 48h	43.33c	12.86 c	1.64bc	4.41bc	6.05c	95.9ab
	پیری ۷۲ Ageing 72h	19.00de	4.97 d	2.19ab	4.23c	6.42c	101.1b
اسموپرایمینگ۰/۳- Osmopriming (-0.3Mpa)	شاهد Control	67.50b	21.60 b	1.97b	4.43bc	6.40c	128.2a
	پیری ۴۸ Ageing 48h	30.83cd	7.76 cd	1.49c	3.21d	4.69d	76.5b
	پیری ۷۲ Ageing 72h	41.67c	9.64 c	1.71b	4.15c	5.85c	105.8ab
اسموپرایمینگ۰/۶- Osmopriming (-0.6Mpa)	شاهد Control	67.50 b	23.66 b	1.54c	4.14cd	5.68c	146.2a
	پیری ۴۸ Ageing 48h	52.50bc	17.65 b	1.79b	5.46ab	7.25b	92.4ab
	پیری ۷۲ Ageing 72h	40.00c	11.67 c	1.55c	4.22c	5.77c	79.0b
اسموپرایمینگ۰/۹- Osmopriming (-0.9Mpa)	شاهد Control	50.83bc	13.47 c	1.69b	4.36c	6.04c	112.3a
	پیری ۴۸ Ageing 48h	24.00d	6.34 cd	1.87b	4.75b	6.62bc	67.7b
	پیری ۷۲ Ageing 72h	12.50e	2.67 d	2.04b	4.91b	6.94bc	100.0b
اسموپرایمینگ۱/۲- Osmopriming (-1.2Mpa)	شاهد Control	41.67c	10.99 c	1.50c	4.25c	5.74c	108.9ab
	پیری ۴۸ Ageing 48h	16.67de	4.56 d	2.34a	6.12a	8.45a	94.2ab
	پیری ۷۲ Ageing 72h	5.00e	0.62 e	0.65d	1.00e	1.30e	69.3b

میانگین صفات در هر یک از ستون‌ها که دارای حروف مشابهی هستند بر اساس آزمون دانکن ۱ درصد از لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار ندارند.

Means of traits in column with the same letter are not significantly different (P=0.01)

ج) گونه *O. sintenisii*: نتایج مقایسه اثرات متقابل بین تیمارهای پرایمینگ و پیری زود رس بر صفات جوانه‌زنی بذر در گونه *O. sintenisii* نشان داد که بیشترین و کمترین درصد و سرعت جوانه‌زنی در همه تیمارهای پرایمینگ بذر به ترتیب در بذرهای سالم و پیر شده (۷۲ ساعت) بدست آمد. برای طول ساقه چه و طول ریشه چه، بیشترین مقدار در بذرهای پیر شده (۴۸ ساعت) با استفاده تیمارهای اسموپرامینگ ۰/۹- و ۱/۲- مگاپاسکال بدست آمد از لحاظ وزن تر گیاهچه تاثیر تیمار پرایمینگ ۰/۶- مگاپاسکال تاثیر معنی‌داری بر بذرهای پیر شده (۴۸ ساعت) داشتند (جدول۸).

جدول ۸- مقایسه اثرات متقابل بین تیمارهای پرایمینگ و پیری زود رس بر صفات جوانه‌زنی بذر در گونه اسپرس *O.sintenisii* در شرایط آزمایشگاه

Table 8- Means of priming by accelerated aging interaction effects on seed germination traits in *O.sintenisii* under laboratory conditions

تیمار پرایمینگ Priming treat	پیری زود رس Accelerated aging	درصد جوانه‌زنی Germination %	سرعت جوانه‌زنی Rate of germination	طول‌ساقه‌چه Shoot length (cm)	طول‌ریشه‌چه Root length (cm)	شاخص بنیه Vigor index	وزن تر Fresh weight (mg)
هیدروپرایمینگ Hydropriming	شاهد Control	59.17a	22.98 a	2.63a	2.69d	5.32c	116.7b
	پیری ۴۸ Ageing 48h	35.83c	11.85 cd	1.84b	4.00c	5.84bc	102.7b
	پیری ۷۲ Ageing 72h	17.50d	4.08 de	1.44bc	4.0c	5.45c	84.5bc
اسموپرایمینگ۰/۳- Osmopriming (-0.3Mpa)	شاهد Control	52.50ab	16.91 bc	2.15ab	4.12c	6.28b	54.2c
	پیری ۴۸ Ageing 48h	32.50c	8.33 d	1.82b	3.85cd	5.67bc	127.8b
	پیری ۷۲ Ageing 72h	16.00d	2.27 e	1.66b	4.03c	5.69bc	37.7cd
اسموپرایمینگ۰/۶- Osmopriming (-0.6Mpa)	شاهد Control	56.67a	19.42 b	1.03c	2.70d	3.73d	71.3bc
	پیری ۴۸ Ageing 48h	27.50cd	8.66 d	1.71b	4.48bc	6.19b	122.2b
	پیری ۷۲ Ageing 72h	11.67de	2.58 e	1.64b	3.84cd	5.48c	159.2a
اسموپرایمینگ۰/۹- Osmopriming (-0.9Mpa)	شاهد Control	34.17c	10.61 cd	1.02c	4.26c	5.28c	49.9c
	پیری ۴۸ Ageing 48h	25.00cd	8.84 d	2.09ab	4.50b	6.59b	103.8b
	پیری ۷۲ Ageing 72h	5.00e	0.62 e	1.30c	2.60d	3.90d	97.8bc
اسموپرایمینگ۱/۲- Osmopriming (-1.2Mpa)	شاهد Control	42.50b	14.88 c	2.44a	5.53ab	7.98a	23.2cd
	پیری ۴۸ Ageing 48h	c۳۲/۵۰	cd۱۰/۹۳	a۲/۴۲	b۴/۶۳	ab۷/۰۴	d۱۸/۷
	پیری ۷۲ Ageing 72h	de۱۰/۰۰	e۱/۸۴	c۱/۲۶	a۶/۳۷	a۷/۶۳	c۴۵/۰

میانگین صفات در هر یک از ستون‌ها که دارای حروف مشابهی هستند بر اساس آزمون دانکن ۱ درصد از لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار ندارند.

Means of traits in column with the same letter are not significantly different (P=0.01)

د) گونه *O. viciaefolia*: نتایج مقایسه اثرات متقابل بین تیمارهای پرایمینگ و پیری زود رس بر صفات جوانه‌زنی بذر در گونه *O. viciaefolia* نشان داد که بیشترین و کمترین درصد و سرعت جوانه‌زنی در همه تیمارهای پرایمینگ بذر به ترتیب در بذرهای سالم و پیر شده (۷۲ ساعت) بدست آمد ولی در سموپرایمینگ ۰/۶- و ۰/۳- مگاپاسکال، از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری بین بذرهای سالم و پیر شده (۴۸ ساعت) مشاهده نشد. برای طول ساقه چه، طول ریشه چه و شاخص بنیه بذر، بیشترین مقدار در بذرهای پیر شده (۴۸ ساعت) با استفاده تیمارهای اسموپرامینگ ۰/۶-، ۰/۹- و ۱/۲- مگاپاسکال بدست آمد. از لحاظ وزن تر گیاهچه، تیمار پرایمینگ ۰/۶- مگاپاسکال تاثیر معنی‌داری بر بذرهای پیر شده (۴۸ ساعت) داشت (جدول ۹).

جدول۹- مقایسه اثرات متقابل بین تیمارهای پرایمینگ و پیری زود رس بر صفات جوانه‌زنی بذر در گونه اسپرس *O.viciaefolia* در شرایط آزمایشگاه

Table 9- Means of priming by accelerated aging interaction effects on seed germination traits in *O. viciaefolia* under laboratory conditions

تیمار پرایمینگ Priming treat	پیری زود رس Accelerated aging	درصد جوانه‌زنی Germination %	سرعت جوانه‌زنی Rate of germination	طول‌ساقه‌چه Shoot length (cm)	طول‌ریشه‌چه Root length (cm)	شاخص بنیه Vigor index	وزن تر Fresh weight (mg)
هیدروپرایمینگ Hydropriming	شاهد Control	95.00a	44.50 a	2.46a	2.35d	4.81d	145.5a
	پیری ۴۸ Ageing 48h	90.83a	33.96 b	2.50a	4.24bc	6.74b	150.7a
	پیری ۷۲ Ageing 72h	55.83bc	20.82 c	2.14ab	2.34d	4.47d	116.4ab
اسموپرایمینگ۰/۳- Osmopriming (-0.3Mpa)	شاهد Control	99.17a	43.84 a	1.32c	3.67c	4.99cd	113.0ab
	پیری ۴۸ Ageing 48h	83.33ab	28.50 bc	1.97b	3.73c	5.71bc	108.5b
	پیری ۷۲ Ageing 72h	50.83bc	15.28 cd	1.47bc	4.63b	5.85bc	67.8bc
اسموپرایمینگ۰/۶- Osmopriming (-0.6Mpa)	شاهد Control	92.50a	35.87b	1.03c	3.57c	4.60d	122.3ab
	پیری ۴۸ Ageing 48h	69.17b	22.67 c	1.92b	4.05bc	5.97bc	100.8b
	پیری ۷۲ Ageing 72h	54.17bc	16.73 cd	1.71b	3.63c	5.35c	85.7bc
اسموپرایمینگ۰/۹- Osmopriming (-0.9Mpa)	شاهد Control	75.83b	26.99 bc	1.50bc	4.83b	6.33b	59.0 c
	پیری ۴۸ Ageing 48h	55.83bc	16.44 cd	1.81b	4.54b	6.35b	84.0bc
	پیری ۷۲ Ageing 72h	46.67bc	13.62 d	1.49bc	4.18bc	5.67bc	59.0 c
اسموپرایمینگ۱/۲- Osmopriming (-1.2Mpa)	شاهد Control	69.17b	20.19 c	2.42a	6.05a	8.46a	104.3
	پیری ۴۸ Ageing 48h	65.83b	21.64 c	1.72b	4.83b	6.55b	127.2ab
	پیری ۷۲ Ageing 72h	41.67c	10.41d	1.57bc	4.42b	5.99bc	83.6bc

میانگین صفات در هر یک از ستون‌ها که دارای حروف مشابهی هستند بر اساس آزمون دانکن ۱ درصد از لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار ندارند.

Means of traits in column with the same letter are not significantly different (P=0.01)

در مجموع، اثر متقابل پرایمینگ در زوال بذر در همه گونه‌ها کم و بیش یکسان بود. بیشترین درصد و سرعت جوانه‌زنی در تیمارهای هیدروپرایمینگ و اسموپرایمینگ با شدت پتانسیل کمتر ولی بیشترین طول ساقه ریشه چه و شاخص بنیه بذر، در تیمارهای اسموپرایمینگ با شدت پتانسیل بالا مشاهده شد. تاثیر اسموپرایمینگ بر افزایش رشدریشه چه نسبت به ساقه چه بیشتر بود. بیشترین وزن تر گیاهچه در بذرهای شاهد (هیدروپرایمینگ) بدست آمد. در انطباق با نتایج این تحقیق، عیسوند و همکاران (Esvand *et al.*, 2010) بر نقش پرایمینگ در بهبود درصد و سرعت جوانه‌زنی و بنیه گیاهچه در بروموس تاکید داشته‌اند.

گلخانه

اثر پرایمینگ بذر بر صفات مرتبط با سبز شدن بذرهای زوال یافته

نتایج تجزیه آماری نشان داد که اثر گونه و اثر پیری زودرس برای صفات درصد سبزشدن، شاخص بنیه بذر و اثر متقابل گونه در پیری زودرس برای صفات طول ریشه‌چه، وزن خشک گیاهچه معنی‌دار بود (جدول۱۰). اثر متقابل گونه در پیری زودرس برای طول ساقه و طول ریشه، اثر متقابل گونه در پرایمینگ بذر برای وزن خشک گیاه و اثر متقابل پرایمینگ در پیری‌زودرس برای اکثر صفات جوانه‌زنی معنی‌دار بود (جدول ۱۰).

در مقایسه بین گونه‌ها، *O.viciaefolia* برای اکثر صفات در کلاس برتر و گونه‌های *O.cristagalli* و *O.sintenisii* در مراتب بعدی قرار داشتند (جدول۱۱). در مقایسه میانگین تیمارهای پرایمینگ بذر بیشترین میانگین درصد سبز شدن و وزن خشک گیاهچه در هیدروپرایمینگ و بیشترین میانگین طول ساقه، طول ریشه و شاخص بنیه در ۰/۶- مگاپاسکال مشاهده شد (جدول ۱۲).

در مقایسه میانگین بذرهای زوال یافته بیشترین میانگین صفات درصد سبز شدن، طول ساقه، شاخص بنیه بذر و وزن گیاهچه در تیمار شاهد (بذرهای سالم) و بیشترین میانگین طول ریشه در تیمارهای پیری زودرس (۴۸ و ۷۲ ساعت) مشاهده شد (جدول۱۳) که با تحقیق مارشال و تویز(Marshal abd Lewis, 2004) مطابقت داشت.

در مقایسه میانگین اثرات متقابل گونه در پیری زودرس نتایج نشان داد که بیشترین طول ریشه در گونه *O.cristagalli* و بیشترین طول ساقه در گونه *O.sintenisii* در زوال شدید (پیری ۷۲ ساعت) بدست آمد (شکل۱). اثرات متقابل گونه در پرایمینگ بذر برای وزن خشک گیاهچه معنی‌دار شد. نتایج نشان داد که بیشتربن وزن خشک گیاه در گونه *O.viciaefolia* در (هیدروپرایمینگ) و اسموپرایمینگ ۰/۶- مگاپاسکال مشاهده شد که نشان‌دهنده سازگاری و استقرار بالای این گونه جهت علوفه کاری می‌باشد (شکل ۲)

نتایج اثرمتقابل پرایمینگ در پیری زودرس نشان داد که بیشترین میانگین صفات جوانه‌زنی بجز طول ریشه در بذرهای سالم و با اعمال تیمارهای هیدروپرایمینگ و اسموپرایمینگ ۰/۶- مگاپاسکال بدست آمد. از لحاظ طول ریشه هردو تیمار اسمو پرامینگ (۰/۶- و ۱/۲- مگاپاسکال) در همه بذرهای شاهد و زوال یافته موجب افزایش طول ریشه گردید (شکل۲).

با افزایش تنش اسمزی طول ریشه چه نسبت به طول ساقه چه افزایش یافت. در این رابطه شارپ (Sharp, 1997) با بررسی رشد طولی ریشه و اندام‌های هوایی ذرت در پتانسیل‌های پایین آب، ملاحظه نمود که در تنش شدیدتر رشد ساقه چه متوقف شد ولی ریشه چه‌های ذرت به رشد خود ادامه دادند. شواهد موجود حاکی از این است که افزایش اسید آبسیزیک (Acid Absisic) در پتانسیل‌های پایین آب اثرات متفاوتی بر رشد طولی ریشه و اندام‌های هوایی دارد به طوریکه رشد اندام‌های هوایی را متوقف می سازد ولی ریشه به رشد خود ادامه می دهد.

جدول ۱۰- تجزیه واریانس اثر تیمارهای پرایمینگ بذر بر صفات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و دیسموتاز در ۴ گونه اسپرس تحت‌تاثیر تیمارهای پیری زودرس در شرایط گلخانه

Table 10- Analysis of variance (MS) of the effcts of seed priming on enhancement of seedling growth traits and three antioxidant enzymes as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and peroxidase (POD) activity using accelerated aged seeds in four Sainfoin species under greenhouse conditions

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی DF	MS							
		درصد سبز شدن Emergence (%)	شاخص بنیه Vigor index	طول‌ساقه Shoot length	طول‌ریشه Root length	وزن خشک Dry weight	کاتالاز CAT	دیسموتاز SOD	پراکسیداز POD
گونه Species (S)	3	0.146**	2.584**	0.015	0.135*	0.409**	0.939	0.050**	2.985**
پیری زودرس Aging test (A)	2	0.661**	7.841**	0.385**	0.737**	0.368**	0.487	0.008	4.925**
پرایمینگ بذر Proming (P)	2	0.107**	1.424**	1.213**	6.895**	0.519**	0.000	0.573**	0.001
گونه در پیری زودرس S × A	6	0.012	0.398	0.048**	0.273**	0.012	1.514**	0.025*	0.951**
گونه در پرایمینگ S × P	6	0.030	0.286	0.018**	0.116*	0.048**	2.910*	0.043**	0.947**
پرایمینگ در پیری A × P	4	0.060**	0.770*	0.155**	1.712**	0.014**	4.790**	0.051**	0.040
گونه× پیری× پرایمینگ S × A× P	12	0.026	0.481	0.029*	0.143**	0.021**	1.517**	0.046**	0.869**
خطای آزمایش Error	48	0.018	0.289	0.013	0.046	0.008	0.473	0.010	0.125
درصد ضریب تغییرات CV%		21.60	18.24	3.79	4.99	13.32	5.88	8.85	19.23

*, **= significant at P= 0.05 and 0.01 levels, respectivel ** و * به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۱ و ۵ درصد

جدول۱۱- مقایسه میانگین صفات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و دیسموتاز در چهار گونه اسپرس مورد مطالعه بر اساس میانگین اثرات پیری زودرس و پرایمینگ بذر در شرایط گلخانه

Table 11- Means of seedling growth traits and antioxidant enzymes SOD, CAT and POD activities in four sainfoin species averaged over three levels of accelerated aging test and five priming treatments under greenhouse conditions

نام گونه Species Name	درصد سبز شدن Emergence %	شاخص بنیه Vigor index	طول‌ساقه shoot length (cm)	طول‌ریشه Root Length (cm)	وزن خشک dry weight (mg)	کاتالاز CAT µmol (m mg P)	دیسموتاز SOD µmol (m mg P)	پراکسیداز POD µmol (m mg P)
O.cristagalli	26.66c	7.32c	9.04	19.22a	0.473b	129.71b	1.32 ab	1.86 c
O.michauxii	36.90ab	9.91b	9.28	19.13a	0.326c	139.52ab	1.18 b	3.05 c
O.sintenisii	28.97 bc	7.96bc	9.21	17.82b	0.334c	145.36a	1.19 b	6.70 a
O.viciaefolia	44.07a	12.28a	8.93	19.49a	0.815a	137.26ab	1.49 a	4.85 b

میانگین صفات در هر یک از ستون‌ها که دارای حروف مشابهی هستند بر اساس آزمون دانکن ۱ درصد از لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار ندارند.

Means of traits in column with the same letter are not significantly different (P=0.01)

جدول ۱۲- مقایسه صفات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و دیسموتاز بین تیمارهای پرایمینگ بذر بر اساس میانگین تیمارهای پیری زودرس و گونه‌های اسپرس در شرایط گلخانه

Table 12- Means of seedling growth and antioxidant enzymes SOD, CAT and POD activities in three priming treatments averaged over three accelerated aging tests and four sainfoin species under greenhouse conditions

تیمار پرایمینگ Priming treatment	درصد سبز شدن Emergence %	شاخص بنیه Vigor index	طول‌ساقه Shoot length (cm)	طول‌ریشه Root Length (cm)	وزن خشک Dry weight (mg)	کاتالاز CAT µmol	دیسموتاز SOD µmol	پراکسیداز POD µmol
هیدروپرایمینگ Hydropriming (Control)	40.59a	9.17ab	9.26b	14.28c	0.67a	138.06	1.54a	3.97
اسموپرایمینگ۰/۶- Osmopriming (-0.6Mpa)	33.26b	10.99a	10.38a	22.86a	0.52b	137.87	1.05b	4.27
اسموپرایمینگ۱/۲- Osmopriming (-1.2Mpa)	28.61b	7.94b	7.70c	19.59b	0.26c			

میانگین صفات در هر یک از ستون‌ها که دارای حروف مشابهی هستند بر اساس آزمون دانکن ۱ درصد از لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار ندارند.

Means of traits in column with the same letter are not significantly different (P=0.01)

جدول ۱۳- مقایسه میانگین صفات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و دیسموتاز بین تیمارهای پیری‌زودرس بر اساس میانگین تیمارهای پرایمینگ بذر در چهار گونه اسپرس در شرایط گلخانه

Table 13- Means of seedling growth traits and antioxidant enzymes SOD, CAT and POD activities in three levels of accelerated aging tests averaged over four sainfoin species and seed priming treatments under greenhouse conditions.

تیمار پیری زود رس Accelerated aging	درصد سبز شدن Emergence %	شاخص بنیه Vigor index	طول‌ساقه shoot length (cm)	طول‌ریشه Root Length (cm)	وزن خشک dry weight (mg)	کاتالاز CAT µmol (m mg P)	دیسموتاز SOD µmol (m mg P)	پراکسیداز POD µmol (m mg P)
شاهد Control	50.58a	13.09a	9.39a	17.52b	0.65 a	133.98	1.34	1.64 c
پیری ۴۸ ساعت Ageing test 48 h	30.84b	8.81 b	8.29b	19.45a	0.46 b	141.87	1.32	4.47 b
پیری ۷۲ ساعت Ageing test 72 h	21.04c	6.20 c	9.65a	19.77a	0.33 c	138.04	1.23	6.25 a

میانگین صفات در هر یک از ستون‌ها که دارای حروف مشابهی هستند بر اساس آزمون دانکن ۱ درصد از لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار ندارند.

Means of traits in column with the same letter are not significantly different (P=0.01)

افزایش شاخص بنیه و وزن خشک گیاهچه با تیمار هیدروپرایمینگ را می‌توان به عمل خیساندن (*Imbibition*) بذر ربط داد که موجب افزایش متابولیسم بذر از طریق فعال شدن آنزیم‌ها و متابولیت‌های مورد نیاز در زمان جوانه‌زنی می‌شود. در بذور پرایم شده پاره‌ای تغییرات متابولیکی و بیوشیمیایی به نفع جوانه‌زنی تحقق می‌یابد. برای مثال در این بذور بخشی از پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها در اثر آنزیم‌ها و واکنش‌های

هیدرولیزکننده شکسته شده و آماده شرکت در فرآیند جوانه‌زنی می‌شوند. این مساله می‌تواند توجیهی برای تسریع جوانه‌زنی و کاهش متوسط زمان جوانه‌زنی باشد (Bittebcourt *et al.*, 2004). در تحقیق دیگری گیری و شلینگر (Giri and Schillinger, 2003) گزارش نمودند که هیچکدام از تیمارهای پرایمینگ شامل، آب مقطر، کلرید پتاسیم (KCl)، پلی اتیلن گلیکول(PEG)، از نظر ظاهر شدن گیاهچه در مزرعه گندم نسبت به شاهد برتری نداشتند. بم و همکاران (Bam *et al.*, 2006) گزارش نمودند که پرایمینگ بذرهای برنج در محلول‌های دارای غلظت‌های مختلف هیدروفسفات پتاسیم (KH_2PO_4) باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی و پرایمینگ با استفاده از محلول‌های دارای غلظت‌های مختلف کلرید پتاسیم KCl و هیدروفسفات پتاسیم سبب کاهش مدت زمان جوانه‌زنی گردیدند.

گیری و شلینگر (Giri and Schillinger, 2003) گزارش نمودند که پرایمینگ بذر با کلرید پتاسیم و پلی اتیلن گلایکل تاثیر مثبتی بر درصد سبز شدن گیاهچه بعضی از ارقام آزمایشی گندم در شرایط گلخانه ای داشت. زرنوشه فراهانی و همکاران (Zarnoushe Farahani *et al.*, 2019) گزارش نمودند علت افزایش شاخص بنیه و وزن تر گیاهچه با تیمار پلی اتیلن گلایکول و هیدروپرایمینگ این است که ماده پلی اتیلن گلایکول با ایجاد پتانسیل اسمزی و آب را جذب و رطوبت را ذخیره نموده تا زمانی بذر فاقد رطوبت باشد در دسترس گیاه قرار گیرد. علت افزایش شاخص بنیه و وزن گیاهچه با تیمار هیدروپرایمینگ را می‌توان به عمل خیساندن بذر ربط داد که موجب افزایش متابولیسم بذر از طریق فعال شدن آنزیم‌ها و متابولیت‌های مورد نیاز در زمان جوانه‌زنی می‌شود. چراغی و همکاران (Cheraghi *et al.*, 2012) با پرایم بذر گلپر ایرانی با پلی‌اتیلن گلایکول موجب بهبود درصد و سرعت جوانه‌زنی و بنیه گیاهچه شدند. مکی زاده تفتی و همکاران (Makkizadeh Tafti *et al.*, 2006) در گاوزبان اروپایی گزارش کردند که اسموپرایمینگ (غلظت ۰/۸- مگاپاسکال) با پلی‌اتیلن گلیکول، درصد و سرعت جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه‌ها را تحت تنش شوری افزایش داد.

اثر پرایمینگ بذر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بذرهای زوال یافته در گلخانه

نتایج تجزیه واریانس غلظت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسید دسموتاز نشان داد که اثر گونه در سطح احتمال خطای ۱ درصد معنی‌دار بود. اثر پیری زودرس برای فعالیت آنزیم پراکسیداز در سطح احتمال خطای ۱ درصد معنی‌دار شد. ولی اثر پرایمینگ بذر بر فعالیت هیچکدام از آنزیم‌ها معنی‌دار نبود. در حالیکه اثرات متقابل گونه در پیری زودرس، گونه در پرایمینگ بذر و پرایمینگ در پیری بذر در اکثر موارد برای فعالیت آنزیم‌ها معنی‌دار بود (جدول۱۰).

نتایج مقایسه میانگین اثرات اصلی گونه‌ها نشان داد که از لحاظ غلظت آنزیم کاتالاز گونه *O.michauxii* با ۱۵۷ میکرمول در میلیگرم پروتئین بیشترین فعالیت را داشته ولی از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با سایر گونه‌ها نداشت و همگی در یک سطح قرار داشتند (جدول۱۱). از لحاظ آنزیم دسموتاز، گونه *O.viciaefola* با ۱/۴۹ بیشترین فعالیت را داشت و سایر گونه‌ها در گروه دوم قرار داشتند (جدول۱۱). برای آنزیم پراکسیداز، گونه *O.sintenisii* بیشترین فعالیت آنزیمی با ۱۲/۶۳ میکرمول در میلیگرم پروتئین را داشته و سایر گونه‌ها در مرتبه دوم قرار گرفتند (جدول ۱۱). در مقایسه بین تیمارهای پیری زودرس، بیشترین فعالیت مربوط به آنزیم پراکسیداز با ۸/۵۲ میکرمول در میلیگرم پروتئین در پیری ۷۲ ساعت مشاهده شد (جدول ۱۲).

اثر متقابل گونه در پیری زود رس برای فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز معنی‌دار بود. نتایج نشان داد که آنزیم کاتالاز در گونه‌های *O.sintenisii* و *O.viciaefolia* به ترتیب با ۱۴۹ و ۱۵۰ میکرمول در میلیگرم

پروتئین بیشترین فعالیت در تیمار پیری ۴۸ ساعت داشت. در حالیکه آنزیم پراکسیداز همین گونه‌ها به ترتیب با ۸/۵ و ۸ میکرمول در میلیگرم پروتئین بیشترین فعالیت در تیمار پیری ۷۲ ساعت داشت (شکل۱) که نشاندهنده روند تغییرات متفاوت بین گونه‌ها برای آنزیم پراکسیداز بود و در مجموع بیشترین فعالیت این آنزیم در گونه *O.sintenisii* در بذرهای پیر شده مشاهده شد (شکل۱).

اثرمتقابل گونه در پرایمینگ بذر برای غلظت هر سه آنزیم معنی‌دار بود. بیشترین فعالیت آنزیم دیسموتاز در همه گونه‌های اسپرس در تیمار شاهد یا هیدروپرایمینگ بدست آمد که دامنه آن بین ۱/۳ الی ۱/۸ میکرمول در میلیگرم پروتئین بود. در حالیکه برای آنزیم پراکسیداز گونه‌های *O.sintenisii* و *O.viciaefolia* به ترتیب با ۷/۷ و ۶/۱ میکرمول در میلیگرم پروتئین بیشترین فعالیت در اسموپرایمینگ ۰/۶- مگاپاسکال داشت (شکل۲). از لحاظ آنزیم کاتالاز روند مشخصی بین پرایمینگ‌ها مشاهده نشد با وجود این در گونه‌های *O.sintenisii* و *O. michauxii* بیشترین فعالیت این آنزیم در تیمار هیدروپرایمینگ مشاهده شد در حالی‌که در گونه *O.viciaefolia* تاثیر اسموپرایمینگ ۰/۶- مگاپاسکال در افزایش غلظت این آنزیم موثر بود. در مقایسه بین تیمارهای پیری زودرس کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز در پیری ۷۲ ساعت مشاهده شد (شکل۲).

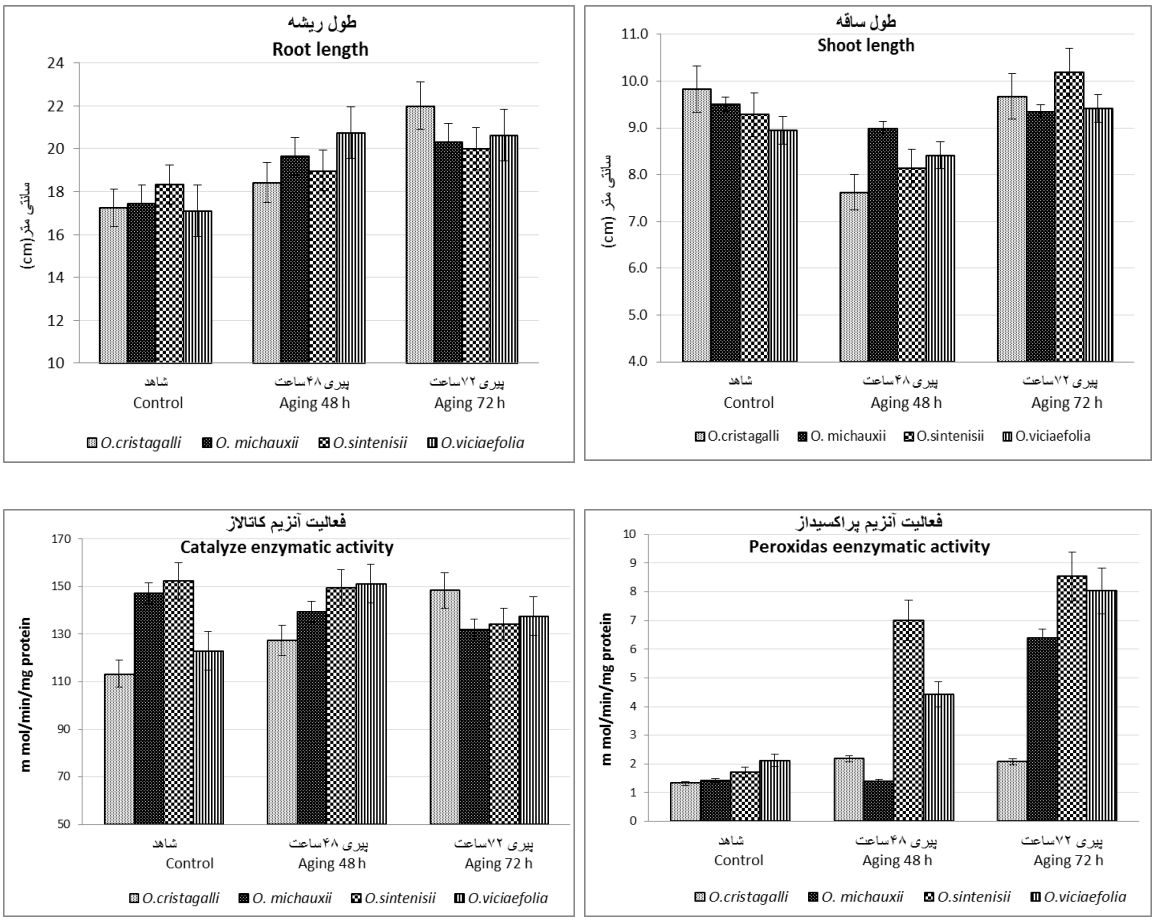
در تحقیق حاضر اثر پرایمینگ بذر بر فعالیت هیچکدام از آنزیم‌ها معنی‌دار نبود ولی اثر متقابل پرایمینگ در زوال بذر برای آنزیم‌های کاتالاز و دیسموتاز معنی‌دار بود. در مقایسه میانگین اثر پرایمینگ بذر بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، نتایج نشان داد که تاثیر هیدروپرایمینگ در افزایش غلظت سوپر اکسید دیسموتاز (۱/۵۴ میکرمول در میلی‌گرم پروتئین) نسبت به اسموپرایمینگ ۰/۶- با غلظت ۱/۰۵ میکرمول در میلیگرم پروتئین) بیشتر بود. (جدول ۱۲) در مقابل، فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمارهای زوال یافته همراه با اعمال اسموپرایمینگ ۰/۶- مشاهده شد.

در مقایسه میانگین اثرات متقابل پرایمینگ در زوال بذر (شکل ۳) نتایج نشان داد که در بذرهای سالم (شاهد)، با استفاده از اسموپرایمینگ ۰/۶- میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با غلظت ۱۴۸ میکرمول در میلیگرم پروتئین نسبت به هیدروپرایمینگ با غلظت ۱۲۰میکرمول در میلیگرم افزایش یافت ولی با پیرشدن بذر، این روند معکوس گردید و بطوری که فعالیت آنزیم کاتالاز در هیدروپرایمنگ بیشتر بود. اگرچه تفاوت بین تیمارها از لحاظ آماری معنی‌دار نبود.

واریر و همکاران (Varier et al., 2010) گزارش کردند که تیمارهای پرایمینگ باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز در پنبه شده است. در مقابل، غلظت سوپراکسید دیسموتاز در همه بذرهای سالم و زوال یافته با دامنه ۱/۴ الی ۱/۶ میکرمول در میلیگرم پروتئین در اثر هیدروپرایمینگ افزایش یافت (شکل۳)

در رابطه با فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در بذرهای پیر شده و یا بذرهای تحت تاثیر تنش، گزارشاتی در منابع منتشر شده است. مک دونالد همکاران (MacDonald et al.m 2000) بیان کردند که مناطق مریستمی جنین به‌خصوص ریشه‌چه بیشتر تحت‌تأثیر زوال قرار می‌گیرد. در مطالعه ای که توسط برمال و همکاران (Bemal *et al.*, 2000) بر روی ذرت انجام دادند، مشخص شد که فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در محور جنین بذرهای پیر شده کمتر بود. این کاهش ممکن است منجر به افزایش تولید پراکسیدهیدروژن (H_2O_2) شود که به احتمال زیاد جوانه‌زنی را به طور مستقیم و یا از طریق تشکیل رادیکال‌های هیدروکسیل تحت‌تاثیر قرار می‌دهد زیرا تجمع پراکسید هیدروزن برای رشد ریشه‌چه مضر است. در مطالعه دیگری گل و همکاران (Goel *et al.*, 2003) بر روی پنبه تحت شرایط پیری تسریع شده گزارش کردند که کاهش در توانایی جوانه‌زنی بذر همبستگی معنی‌داری با کاهش فعالیت آنزیم‌های

پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دسموتاز داشت. تامالا و همکاران (Tammela *et al.*, 2005) در بررسی خود در بذر سویا بیان کردند که پیری سبب بازدارندگی از فعالیت پراکسیداز، کاتالاز، اسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز می‌شود.



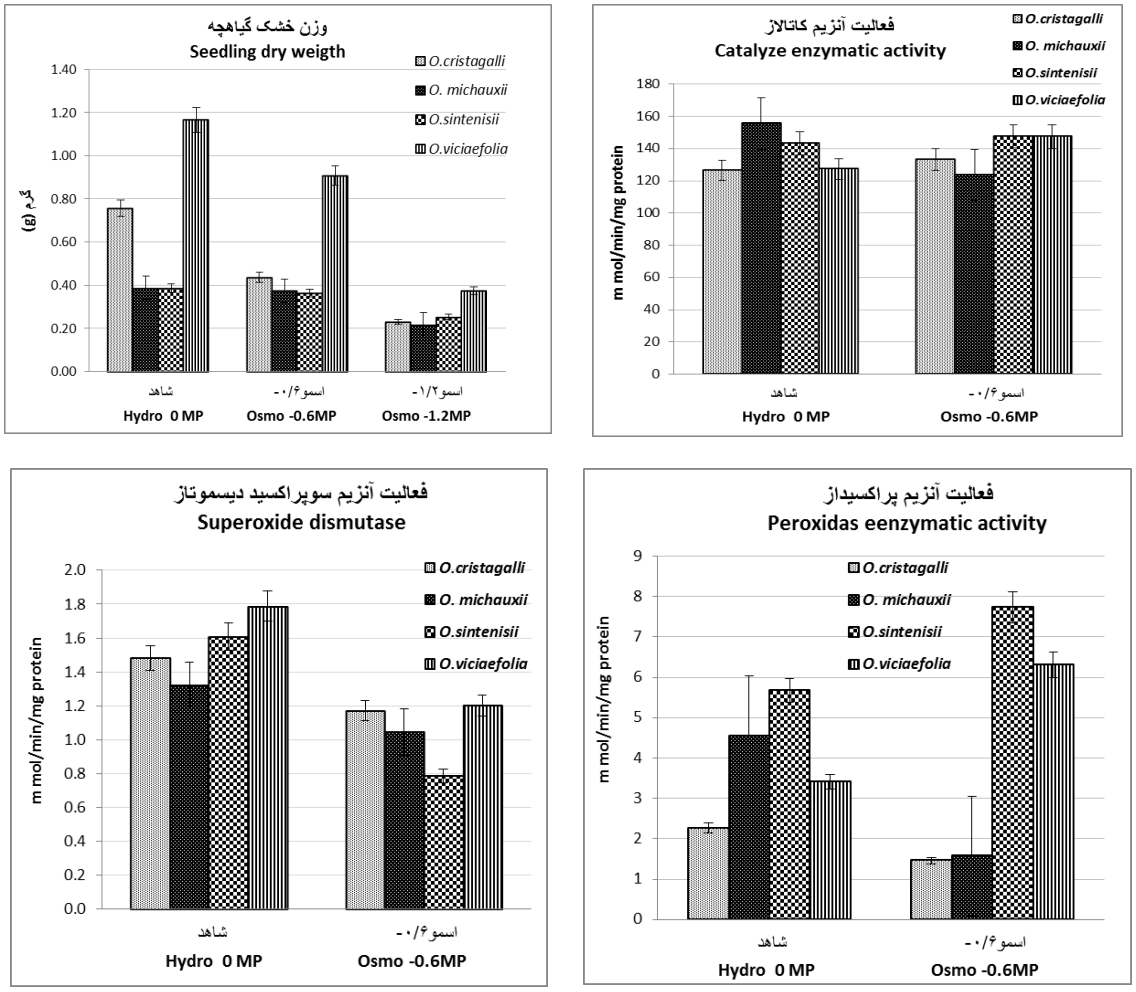
شکل ۱- مقایسه میانگین اثرات متقابل گونه در پیری زودرس بذر بر صفات طول ریشه، طول ساقه و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در شرایط گلخانه

Figure 1- Means of species by accelerated aging interaction effects on shoot and root length and antioxidant enzymes SOD, CAT and POD activities under greenhouse conditions

بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمارهای زوال یافته همراه با اعمال اسموپرایمینگ مشاهده شد. مطالعه یانگ و همکاران (Yang *et al.*, 2009) با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت آنها نشان داد که میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپر اکسیداز دیسموتاز در گیاهچه حاصل از تیمار پرایمینگ بذر بیشتر بود. عمو آقایی (Amooaghaie, 2011) نشان داد که پرایمینگ سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز در گیاهچه‌های دو رقم یونجه در شرایط تنش شوری گردید. جی و همکاران (Jie *et al.*, 2002) گزارش نمودند که، اسموپرایمینگ با پلی اتیلن گلیکول (PEG) در چاودار وحشی باعث افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و پراکسیداز در این گیاه شده و در نتیجه باعث افزایش در سرعت جوانه‌زنی گیاه گردید.

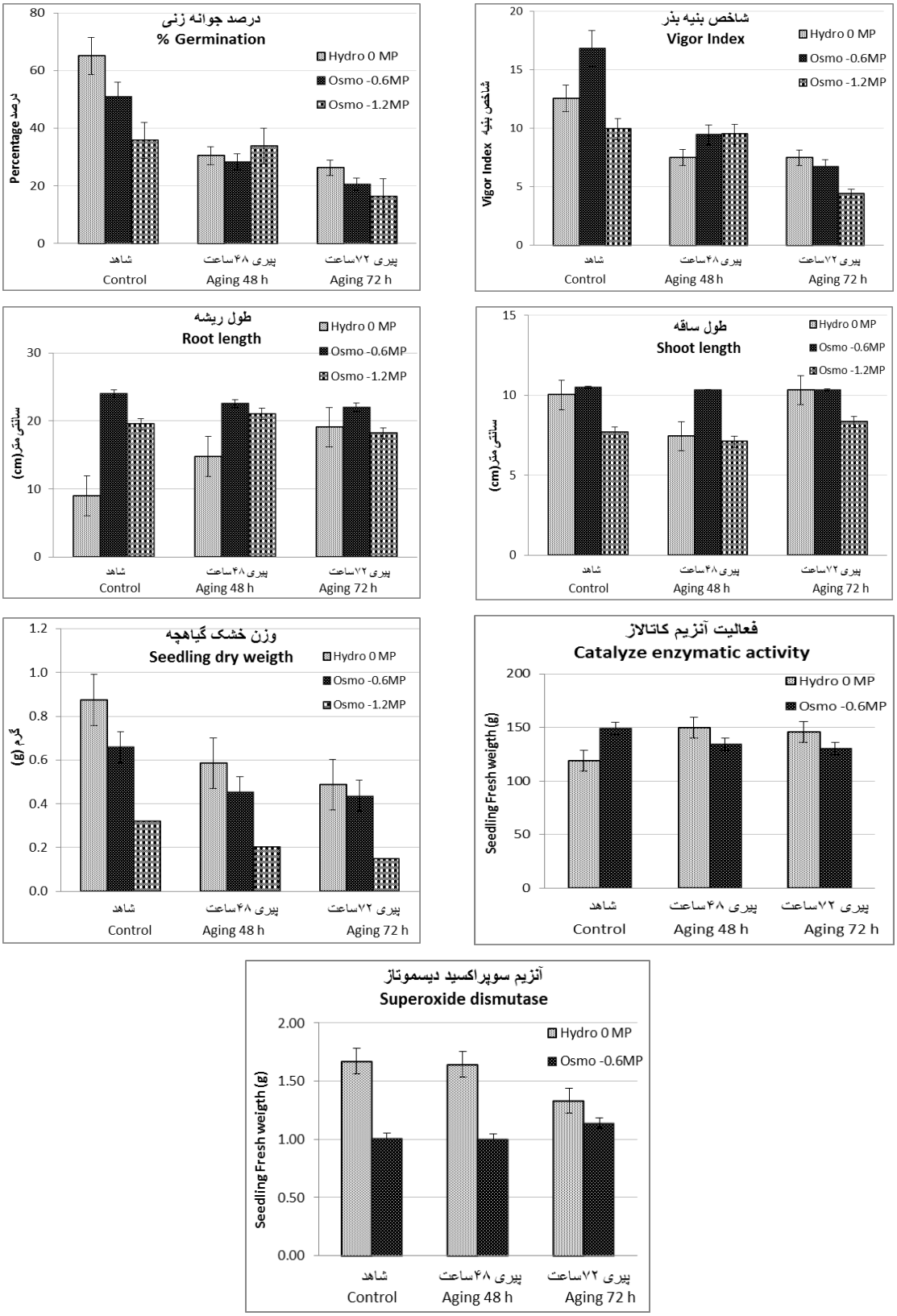
نتیجه‌گیری شد که زوال بذر سبب کاهش صفات

جوانه‌زنی در همه گونه‌های اسپرس شد. میانگین صفات جوانه‌زنی بذرهای زوال یافته در گونه *O.vicifolia* نسبت به سایر گونه‌ها بیشتر بود. اسموپرایمینگ سبب بهبود میانگین اکثر صفات جوانه‌زنی شد. اثر مثبت غلظت‌های بالاتر اسموپرایمینگ در افزایش طول ریشه و ساقه بذرهای پیرشده چشم‌گیر بود.زوال بذر سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز شد. بذرهای زوال یافته که با PEG پرایم شده بودند دارای فعالیت آنزیمی بیشتری بودند. نتیجه‌گیری شد که کاربرد هیدروپرایمینگ و اسموپرایمینگ سبب افزایش ویژگی‌های اندازه‌گیری شده در بذرهای پیر شده اسپرس می‌شوند.



شکل ۲- مقایسه میانگین اثرات متقابل گونه در پرایمینگ بذر بر صفات وزن خشک گیاهچه و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در شرایط گلخانه

Figure 2- Means of species by accelerated aging interaction effects on seedling dry weight and antioxidant enzymes SOD, CAT and POD activities under greenhouse conditions



شکل ۳- مقایسه میانگین اثرات متقابل پرایمینگ بذر در پیری زودرس بذر بر صفات وزن خشک گیاهچه و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در شرایط گلخانه

Figure 3- Means of priming by accelerated aging interaction effects on seedling dry weight and antioxidant enzymes SOD, CAT and POD activities under greenhouse conditions.

Reference منابع

Abdul Baki, A.A., and J.D. Anderson. 1973. Relationship between decarboxylation of glutamic acid and vigor in soybean seed. Crop Sci. 13: 227–232.

Aebi H. 1984. Catalase in vitro. Methods Enzymol. 105:121–126.

Amooaghaie, R. 2011. The effect of hydro and osmopriming on alfalfa seed germination and antioxidant defenses under salt stress. Afr. J. Biotechnol. 10: 6269-6275

Artola, A., G. Carrillo-Castaneda, and G.D.L. Santos. 2003. Hydropriming: A Strategy to increase *Lotus corniculatus* L. seed vigor. Seed Sci. Technol. 31(2): 455-463.

Ashkani, JH., Pakniyat, Y. Emam, M. Assad, and M. Bahrani. 2007. The evaluation and relationships of some physiological traits in spring safflower (*Carthamus tinctorius* L.). J. Agric. Sci. 9(4), 267-277.

Ashraf, M., and M.R. Foolad. 2005. Pre-sowing seed treatment: A shotgun approach to improve germination, plant growth and crop yield under saline and non-saline conditions. Adv. Agron. 88: 223-271.

Rastegar, Z., M. Sedghi, and S. Khomari. 2011. Effects of Accelerated aging on soybean seed germination indexes at laboratory condition. Notulae Sci. Biol. 3(3):126-129.

Azadi, M. S., S. A Tabatabaei, E.Younesi, M. R. Rostami, and M. Mombeni. 2013. Hormone priming improve germination characteristics and enzyme activity of sorghum Seeds (*Sorghum bicolor* L.) under accelerated aging. Cercetari Agronomice in Moldova. 3(155): 49-56.

Azooz, M.M. 2009. Salt stress mitigation by seed priming with salicylic acid in two *faba bean* genotypes differing in salt tolerance. Int. J. Agric. Biol. 11:343-350.

Baladi, S., H. Balouchi, A. Moradi, and M. Movahedi Dehnavi. 2016. The Effect of different temperatures and moisture during storage period on germination indices of *Linum usitatissimum* L. Iranian J. Seed Sci.Tech. 5(1): 107-122. (In Persian, with English Abstract)

Baghaie-Nia, M., M. M. Majidi, and A. Mirlohi. 2010. Effects of induced mutation on general combining ability and association of traits in Sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.). Iranian J. Rang. For. Plant Breed Genet. Res. 18 (2): 181-198 (In Persian)

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

Bam, R.k., F. K. Kumaga, K. Ofori, and E.A. Asiedu. 2006. Germination vigor and dehydrogenate activity of naturally aged Rice (*Oryza Sativa* L.) Seed soaked in potassium and phosphorus Salts. Asian J. Plant Sci. 5:948-955.

Basra, S.M.A., N. Ahmad, M.M. Khan, N. Iqbal, and M.A. Cheema. 2003. Assessment of cotton seed deterioration during accelerated ageing. Seed Sci. Technol.31:531-540.

Bernal, L., A. Camacho, and A. Caballo. 2000. Effect of seed aging in the enzymic antioxidant system of maize cultivars. PP. 151-160. In: M. Black, K.J. Bradford, and J. Vazqez-Ramos. Seed biology: advances and applications (eds). CABI publishing, UK.

Bittebcourt, M.L.C., D.C.F.S. Dais., L.A.S. Dias, and E.F. Araujo. 2004. Effect of priming on asparagus seed germination and vigor under water and temperature stress. Seed Sci. Technol. 32: 607-616.

Blokhina, O., E. Virolainen, and K.V. Fagerstedt. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation, stress: A review. Ann. Bot. 91: 179-194.

Burguieres, E., P. McCu, Y. Kwon, and K. Shetty. 2007. Effect of vitamin C and folic acid on seed vigor response and phenolic-linked antioxidant activity. Bioresour. Technol. 98: 1393-1404.

Cheraghi, F., S. Mahmoodi, M. Jami, and S. Parsa. 2012. Seed germination and growth improvement in Heracleum persicum Dest. by osmopriming. J. Herbal Drugs. 2(4): 229-238.

Eisvand, H. R., R.Tavakol-Afshari, F. Sharifzadeh, and H. Maddah Arefi. 2010. How hormonal priming of aged and non-aged seeds of brome grass affects seedling physiological characters. J. New. Seed. 11:52-64.

Farooq, M., S.M.A. Basra, R. Tabassum, and I. Afzal. 2006. Enhancing the performance of direct seeded, fine rice by seed priming. Plant Prod. Sci. 9: 446-456.

Freitas, R.A, D.C.F.S Dias, G.A. Oliveira, L.A.S Dias, and I.C. José. 2006. Physiological and biochemical changes in naturally and artificially aged cotton seeds. Seed Sci. Technol. 34:253-264.

Ghanavati, F., and H. Amirabadizadeh. 2012. Eco-geographical distribution of perennial species of onobrychis in Khorasan-e-Razavi Province. Seed Plant. Prod. 28(1): 19-34. (In Persian)

Giannopolitis, CN, and SK. Ries 1977. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants, J. Plant Physiol. 59: 309–314.

Giri, G. S., and W. F. Schillinger. 2003. Seed priming winter wheat for germination, emergence and yield. Crop Sci. 43: 2135-2141.

Goel, A. K., and I.S. Sheoran. 2003. Changes in oxidative stress enzyme during artificial aging in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) SED J. Plant Physiol. 160: 1093-1100.

Jie, L. L. Ong She, O. Dong Mei, L. Fang, and W. Hua En. 2002. Effect of PEG on germination and active oxygen metabolism in wild rye (*Elymus chinesis*) seed. Acta Prataculture Sinica. 11:59-64.

Kalpana, R., and K.V. Madhava-Rao. 1996. Lipid changes during accelerated ageing of seeds of pigeon pea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp) cultivars. Seed Sci. Technol. 24: 475-483

Khan, A.A. 1992. Preplant physiological seed conditioning. Hortic. Rev. 14: 131-181.

MacDonald, M. B. 1999. Seed deterioration: pHysiology, repair and assessment. Seed Sci. Technol. 27:177-237.

MacDonald, M.B. 2000. Seed Priming. Pp 287-325. In: M. Black, and J.D. Bewley(eds). Seed technology and its biological basis. Sheffield Academic Press, Sheffield, UK.

Maguire, J. D. 1962. Speed of germination, aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. Crop Sci. 2: 176-177.

Makkizadeh Tafti. M, R., Tavakol Afshari, N. Majnoon Hosseini, H.A. Naghdi Badi, and A. Mehdizadeh. 2006. Effect of osmopriming on seed germination of borage (*Borago officinalis* L.). Iranian J. Med. Arom. Plant. 22(3): 216-222 (In Persian)

Matsushima, K.I., and J.I. Sakagami. 2013. Effects of seed hydropriming on germination and seedling vigor during emergence of rice under different soil moisture conditions. Am. J. Plant Sci. 4(8): 1584-1593.

Marshal, A.H., and D.N. Lewis. 2004. Influence of seed storage conditions on seedling emergence, seedling growth and dry matter production of temperate forage grasses. Seed Sci. Technol. 32(2): 493- 501.

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

Mozaffari, J., and M. R. Abbasi. 2005. Forage plants genetic resources in the national plant gene bank of Iran. The first National Conference of Forage Plants, Karaj, Iran.

Oskouei, B., and S. Sheidaei. 2013. Study of different kinds of seed packaging and storage durations on seed vigor of canola using electrical conductivity test. Int. J. Agric. Crop Sci. 5 (5): 538-543.

Pukacka, S., and E. Ratajczak. 2005. Production and scavenging of reaction oxygen species in *Fagus sylvatica* seeds during storage at varied temperature and humidity. J. Plant Physiol. 162: 873-885.

Rassam, G., S., Rahban, M. Mojtabaii, and A. Badri. 2015. Effect of seed aging on germination and seedling growth of sunflower (*Helianthus annuus*) Cultivars. Iranian J. Seed Res. 1(2): 115-123. (In Persian)

Schimtz, N., J.H. Xia, and A.R. Kermode. 2001. Dormancy of yellow cedar seeds is terminated by gibberellic acid in combination with fluridone or with osmotic priming and moist chilling. Seed Sci. Technol. 29: 331 - 346.

Simic, B., R. Popoviae, A. Sudaric, V. Rozman, I. Kalinovic, and J. Cosie. 2007. Influence of storage condition on seed oil content of maize, soybean and Sunflower. Agric. Conspectus. Sci. 72(3):211-213.

Shannon, L M., E. Kay, and J. Y. Lew. 1966. Peroxidase isozymes from horseradish roots. I. Isolation and physical properties. J. Biol. Chem. 241(9):2166-2172.

Sharp, R.E. 2002. Interaction with ethylene: changing views on therole of abscisic acid in root and shoot growth responses to water stress. Plant Cell Environ. 25: 211-222.

Sheidaei, S., H. Heidari Sharisabad, A. Hamidi, G. Noormohammadi, and A. Moghaddam. 2016. Effect of storage condition, initial seed moisture content and germination on soybean seed deterioration. Iranian J. Seed Res. 2(2): 31-47 (In Persian)

Tammela, P., P.S Vaananen, I. Lakso, A. Hopia, H. Voureia, and M. Nygrem. 2005. Tocopherolas, tocotrienols and fatty acids as indicators of natural aging in *Pinus sylvestris* Seeds. Scand. J. For. Res. 20:378-384.

Tian, X., S.Song, and Y. Lei. 2008. Cell death and reactive oxygen species metabolism during accelerated ageing of soybean axes. Russ. J. Plant Physiol. 55: 33-40

Varier, A., A. Kuriakose, and M. Dadlani. 2010. The sub cellular basis of seed priming. Curr. Sci. 99 (4): 450-456.

Walters, C., D. Ballesteros, and V.A. Vertucci. 2010. Structural mechanics of Seed deterioration: Standing the test of time. Plant Sci. 179: 565-573.

Yang XH, Y.G. Wang, Y.W. X, H.F. Wang, and J.H. Ma. 2009. Effect of seed priming on the physiological characteristics of soybean seedling under water stress. Chinese J Eco–Agric. 17:1191-1195.

Yoti, H., and C.P. Malik. 2013. Seed deterioration: A Review. Int. J. Life Sci. Biotechnol pharma Res. 2(3): 374-385.

Zarnoushe Farahani. M., A.A. Jafari, and M.A. Alizadeh. 2019. Effect of Osmo priming, hormonal priming and hydropriming on the enhancement of aged seed germination and seedling growth of tansey (T*anacetum polycephalum*). Iranian J. Seed Sci. Res. 6(2): 257-267. (In Persian)