"نشریه علوم و فناوری بذر ایران"
جلد نهم، شماره ۲، تابستان ۹۹
(ص ۶۰-۴۹)

Iranian Journal of
Seed Science and Technology
Vol.: 9, No.: 2, Summer 2020
(pp: 49-60)
DOI: 10.22034/ijsst.2020.115718.1136

مطالعه اثر پیری تسریع شده و اسید جیبرلیک بر خصوصیات جوانه‌زنی، پر اکسیداسیون لیپیدها، پروتئین محلول، فنل کل و هدایت الکتریکی بذر گندم (رقم پیشتاز) (*Triticum aestivum* L.)

زهرا محدث اردبیلی[۱]، حسین عباسپور[۲*]، رضا توکل افشاری[۳*]، سید محسن نبوی کلات[۴]

۱. دانشجوی دکتری زیست شناسی فیزیولوژی گیاهی گروه زیست‌شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران
۲. هیئت علمی گروه زیست‌شناسی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۳. هیئت علمی گروه اگروتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۴. هیئت علمی گروه زراعت، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۰۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۰۳)

چکیده

به منظور مطالعه اثر پیری تسریع شده و پرایمینگ بذر با اسید جیبرلیک بر خصوصیات جوانه‌زنی، پر اکسیداسیون لیپیدها، پروتئین محلول، فنل کل و هدایت الکتریکی بذر گندم (رقم پیشتاز) یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه تکنولوژی بذر گروه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۵ انجام شد. عوامل آزمایش شامل پیری بذرتحت شرایط دمای ۴۰ درجه سانتی گرا دو ۱۰۰٪ رطوبت در سه سطح [زوال کم (۴ روز)، زوال متوسط (۶ روز) و زوال زیاد (۷ روز)] و پرایمینگ بذر با اسید جیبرلیک در ۴ سطح (۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ پی‌پی‌ام) بود. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر پیری بذر، پرایمینگ با اسید جیبرلیک و اثر متقابل دو عامل بر تمامی صفات اندازه‌گیری شده معنی‌دار بود. بر اساس نتایج مقایسه میانگین صفات با افزایش مدت زمان پیری درصد و سرعت جوانه‌زنی، پروتئین محلول و فنل کل کاهش یافت؛ اما میزان مالون‌دی‌آلدئید و هدایت الکتریکی به علت آسیب وارده به غشای سلولی با افزایش سطوح پیری افزایش یافت. بررسی اثرات متقابل دو عامل نشان داد که پرایمینگ با اسید جیبرلیک اثرات منفی پیری بذر بر تمامی صفات اندازه‌گیری شده را کاهش می‌دهد.

کلیدواژه: جیبرلیک اسید، درصد جوانه‌زنی، زوال، سرعت جوانه‌زنی، مالون دی آلدئید

The effect of accelerated aging and gibberellic acid on germination characteristics, lipids peroxidation, soluble protein, total phenol and electrical conductivity of wheat seed (Pishtaz Cultivar) (*Triticum aestivum* L.)

Z. Mohaddes Ardebili[1], H. Abbaspour[2*], R. Tavakkol Afshari[3*], S.M. Nabavi Kalat[4]

1. Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran
2. Department of Biology, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3. Department of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
4. Department of Agronomy, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran
(Received: Feb. 25, 2019 – Accepted: Aug. 25, 2019)

Abstract

In order to study the effect of accelerated aging and priming with gibberellic acid on germination characteristics, lipids peroxidation, soluble protein, total phenol and electrical conductivity of wheat seed (Pishtaz Cultivar) an experiment in factorial laid out completely randomized design with three replications was conducted at Seed Technology Laboratory, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University, Mashhad, Iran, in 2016. Factors were included of seed aging(100% relative humidity at 40°C) in three levels [low deterioration (4 days), medium deterioration (6 days) and high deterioration (7 days)] and priming with gibberellic acid in four levels (0, 25, 50 and 100 ppm). Analysis of variance showed that the effect of seed aging, priming with gibberellic acid and interaction between two factors on all traits were significant. Based on the means comparison of the traits germination percentage, germination rate, soluble protein and total phenol decreased with increasing aging time. But, the level of malondyaldeid and electrical conductivity increased due to damage to cell membrane with increasing aging time. Investigation of interaction between two factors showed that the priming with gibberellic acid reduced the negative effects of seed aging on all traits.

Keywords: Deterioration, Gibberellic acid, Germination percentage, Germination speed, Malondyaldeid

* Email: tavakolafshari@ferdowsi.um.ac.ir & abbaspour75@yahoo.com

مقدمه

گندم، استراتژیک ترین محصول کشاورزی در تمام تاریخ و برای تمامی ملل هست. گندم، به‌طور وسیع در الگوی غذایی ۷۵ درصد از جمعیت جهان قرار دارد (Mo'aveni *et al*., 2010). بذرها بعد از برداشت بلافاصله کشت نمی‌شوند و برای چند روز، هفته‌ها، ماه‌ها یا سال‌ها ذخیره می‌شوند و فرسوده می‌شوند (Gregg *et al*., 1994). توان بذرها در طول ذخیره طولانی مدت یا زمانی که تحت دما یا رطوبت بالا ذخیره شدند، کاهش‌یافته که منجر به نواقص ژنتیکی یا تجاری می‌شود (Lu *et al*., 2005). پیر شدن بذر با تغییرات متابولیکی و بیوشیمیایی ازجمله غیرفعال سازی آنزیمی، پر اکسیداسیون لیپید و اختلال در غشاهای سلولی در ارتباط است (Hu *et al*., 2012). نگه‌داری طولانی مدت بذور در انبار یا شرایط نامساعد نگه‌داری مانند درجه حرارت و رطوبت نسبی بالا باعث تشدید تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود (Bailly, 2004). گونه‌های فعال اکسیژن شامل رادیکال سوپر اکسید و رادیکال هیدروکسیل، پراکسید هیدروژن در فیزیولوژی بذر معمولاً به عنوان مولکول‌های سمی موردتوجه‌اند که تجمع آن‌ها باعث پر اکسیداسیون چربی‌ها، غیرفعال شدن آنزیم‌ها، خسارت به اسیدهای نوکلئیک و تخریب غشاهای سلول می‌شود (Macdonald *et al*.,1999; Bailly, 2004; Justice and Bass, 1979). یکی از دلایل عمده فرسودگی، اختلالات غشایی بذر بوده که سلول‌های بذر توانایی نگهداری موقعیت و وظیفه طبیعی‌شان را نخواهند داشت. عامل اصلی این اختلالات افزایش سطح اسیدهای چرب آزاد و تولید رادیکال‌های آزاد از طریق پر اکسیداسیون لیپیدها است (Grilli *et al*., 1995). زمانی که فرسودگی بذر افزایش می‌یابد غشای سلولی نفوذپذیری خود را ازدست‌داده و مواد سیتوپلاسمی از سلول خارج و به فضای بین سلولی وارد می‌شوند (Al-Maskri *et al*., 2004). پرایمینگ موجب کاهش خسارت غشای سلولی شده و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن را کاهش می‌دهد. پرایمینگ بذر منجر به بهبود کارایی بذر می‌شود، بنابراین یک ایده مطرح می‌شود که پرایمینگ می‌تواند برخی از وقایع مخرب که طی فرسودگی بذر رخ می‌دهند را معکوس کند (Black and Bewley, 2009). هورمون‌های گیاهی که به‌طورمعمول برای پرایمینگ استفاده می‌شود، اکسین، اتیلن، اسید سالیسیلیک،کینتین، اسید آبسیزیک و جیبرلین‌ها می‌باشد. جیبرلین‌ها شامل گروهی از هورمون‌ها هستند که بیشترین دخالت مستقیم را در کنترل و تسهیل جوانه زنی بذر دارند. افزایش سنتز و آزادسازی اسیدجیبرلیک در بذر موجب تجزیه نشاسته و تبدیل آن به مواد قابل‌استفاده جنین شده و جوانه زنی شروع می‌شود. مطالعه حاضر به منظور بررسی تأثیر مقادیر مختلف اسید جیبرلیک بر فرآیند زوال بذرهای گندم رقم پیشتاز در اثر تیمار سطوح مختلف پیری تسریع شده و پیدا کردن بهترین مقادیر اسید جیبرلیک برای ترمیم بذرهای زوال یافته اجرا شد.

مواد و روش‌ها

به منظور مطالعه اثر پیری تسریع شده و پرایمینگ بذر با اسید جیبرلیک بر خصوصیات جوانه‌زنی، پر اکسیداسیون لیپیدها، پروتئین محلول، فنل کل و هدایت الکتریکی بذر گندم (رقم پیشتاز) یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه تکنولوژی بذر گروه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۹۵-۹۴ انجام شد. بذرهای گندم (*Triticum aestivum* L.) رقم پیشتاز از مرکز تحقیقات جهاد و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی مشهد تولیدی ۱۳۹۴ با قوه نامیه ۹۸٪ تهیه شد. بذرهای گندم که پس از برداشت در یخچال دردمای ۴درجه سانتی گراد نگه‌داری شده بودند، با سدیم هیپوکلریت ۱٪ به مدت ۱ دقیقه ضدعفونی شده، سپس با آب مقطر شستشو داده شدند. ابتدا دمای اون بر روی ۰/۳ ± ۴۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. با تثبیت دمای موردنظر به مدت ۲ ساعت، آزمون پیری تسریع شده بذر انجام گردید. برای جلوگیری از

آلودگی‌های قارچی قبل از آزمایش جعبه‌های پلاستیکی و توری‌های روی آن با مایع ظرف‌شویی شسته و با محلول هیپو کلریت ۱۵٪ کاملاً ضدعفونی شد و خشک شد. مقداری آب در جعبه‌ها ریخته شد تا زیر توری به طوری که توری خیس نشود بذرها روی توری‌ها گذاشته شد و در آن بسته شد. درصد جوانه‌زنی بذرها تحت زوال ۱،۲،۳،۴،۵،۶،۷ روز، دما ۴۰ درجه سانتی گرادو رطوبت ۱۰۰٪ بررسی شد. جوانه‌زنی بالای ۵۰٪ به عنوان زوال کم و جوانه‌زنی ٪۵۰ تا ۵٪ به عنوان زوال متوسط و جوانه‌زنی زیر ۵٪ به عنوان زوال زیاد انتخاب شدند. برای اعمال پیری، بذرهای گندم به مدت صفر (بدون زوال)، ۴ روز (زوال کم) و ۶ روز (زوال متوسط) و ۷ روز (زوال زیاد) در جعبه‌های پلاستیکی با رطوبت ۱۰۰٪ قرارگرفته شد و به اون ۴۰ درجه منتقل شدند، بعد از زمان تعیین‌شده بذرهای زوال یافته از جعبه‌ها خارج شدند و سپس در مجاورت هوا خشک شد وبذرهای زوال یافته برای پرایم شدن با اسید جیبرلیک به مدت ۲۴ ساعت در اسید جیبرلیک با غلظت ۰ و ۲۵ و ۵۰ و ۱۰۰ پی‌پی‌ام در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد در تاریکی قرار گرفتند.

تعیین سرعت و درصد جوانه‌زنی

پس از اجرای زوال مصنوعی و به منظور انجام آزمون جوانه‌زنی ۲۵ بذر گندم از هر واحد آزمایشی به تصادف انتخاب‌شده و بر روی کاغذ صافی و درون پتری ۹ سانتیمتری به مدت ۷ روز در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند (Soltani *et al.*, 2006). شمارش جوانه‌زنی روزانه و به مدت ۷ روز انجام گرفت. معیار جوانه‌زنی نیز خروج ریشه به میزان حداقل ۲میلی‌متر در نظر گرفته شد. سرعت جوانه‌زنی با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Karta and Bekele, 2012).

$$GR=\sum Ni/Di \qquad \text{رابطه ۱}$$

Ni تعداد بذور جوانه‌زده در روز D/م Di تعداد روز از آغاز جوانه‌زنی

سنجش مقدار پروتئین کل :در ابتدا باید عصاره آنزیمی و معرف بیوره تهیه شود. به منظور استخراج پروتئین کل از بذر، از بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار با pH=۷/۴ استفاده شد. نسبت استخراج نمونه به محلول (W/V) ۱:۲۰ برای بذر به کار رفت. تمامی مراحل استخراج بر روی یخ در دمای ۴-۰ درجه انجام شد. ۰/۵ گرم بافت بذر با ۱۰ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم در هاون چینی به خوبی ساییده شد. این عمل ۲۰ دقیقه ادامه یافت تا مخلوط همگنی ایجاد شد. سپس همگنای حاصل در دمای ۴ درجه و با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۴ دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از پایان سانتریفیوژ محلول رو شناور در میکرو تیوپ‌های ۱/۵ توزیع و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. این برای سنجش محتوای پروتئین کل و فعالیت آنزیم‌ها مورداستفاده قرار می‌گیرند (Sairam *et al.*, 2002). به منظور تهیه معرف برادفورد، ۰/۱ گرم کوماسی بریلیانت بلوG_{250} در ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد به مدت حداقل سه ساعت بر روی همزن مغناطیسی گذاشته تا خوب حل شد. سپس ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۸۵ درصد قطره‌قطره به آن افزوده شد. در پایان حجم کل به کمک آب مقطر به یک لیتر افزایش یافت و محلول حاصل با کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف شد. برای سنجش غلظت پروتئین، به لوله‌های آزمایش دارای ۵ میلی‌لیتر معرف بیوره ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره پروتئینی که قبلاً آماده‌شده بود افزوده و به‌سرعت هم زده شد. پس از ۵ دقیقه جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد آلبومین محاسبه گردید (Bradford, 1976).

اندازه‌گیری فنل کل

۱۰۰ میلی‌گرم بذر هموژنیزه شده وزن و درون میکرو تیوپ ۱/۵ میلی‌لیتری قرار گرفت. سپس ۱۰۰۰ میکرو لیتر اتانول به نمونه‌ها اضافه شد و پس از ورتکس نمودن نمونه‌ها، میکروتیوپ‌ها به مدت ۵ دقیقه در دور ۱۰۰۰۰

سانتریفیوژ شدند. میزان ۲۵ میکرو لیتر از محلول شفاف بالایی نمونه به میکرو تیوب‌های جدید منتقل شد. سپس به نمونه ۱۰۰۰ میکرو لیتر آب مقطر و ۱۰۰۰ میکرو لیتر معرف فولین شیکالتو اضافه شد و ۵ دقیقه بعد ۳۰۰ میکرو لیتر کربنات سدیم ۲۰٪ به آن اضافه گردید سپس محلول فوق به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد شد و بعدازاین زمان در طول‌موج ۷۶۵ نانومتر اسپکت شدند (Slinkard and Singleton, 1977). غلظت فنل با استفاده از منحنی استاندارد اسید گالیک محاسبه گردید.

اندازه‌گیری هدایت الکتریکی بذرها

برای اندازه‌گیری هدایت الکتریکی در بشرهای ۵۰۰ میلی‌لیتری مقدار ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید. ۳ تکرار ۲۵ تایی از هر نمونه بذر شمارش و وزن آن‌ها تعیین شد و بعد از توزین در بشرهای محتوی آب مقطر قرار گرفتند. سپس کلیه بشرها به‌وسیله فویل آلومینیومی پوشانده شدند درانکوباتور و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند. در پایان دوره ۲۱ ساعت خیساندن بذر، هدایت الکتریکی نمونه‌ها با EC متر اندازه‌گیری شد. میزان هدایت الکتریکی هر نمونه به ازای هر گرم بذر محاسبه شد (Hampton and TeKrony, 1995). اندازه‌گیری مالون دی آلدئید بذرها: سنجش میزان پر اکسیداسیون لیپیدهای غشاء بر اساس تشکیل کمپلکس مالون دی آلدئید حاصل از پر اکسیداسیون لیپیدهای غشاء با اسید تیوباربیتوریک (TBA) انجام شد. به این منظور ۰/۲ گرم بافت تر بذر با ۵ میلی‌لیتر اسید تری‌کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد (W/V) در هاون چینی به‌خوبی ساییده و همگن شد. همگنای حاصل به مدت ۵ دقیقه و در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید. سپس ۱ میلی‌لیتر از محلول رو شناور با ۴ میلی‌لیتر از محلول اسید تری‌کلرواستیک ۲۰ درصد (W/V) که حاوی اسیدتیو باربیتوریک ۰/۵ درصد (V/V) بود، مخلوط شد. محلول حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و بعد از اتمام این مدت به ظرف یخ منتقل و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. جذب نوری هر یک از نمونه‌ها در طول‌موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. ازآنجاکه ترکیبات دیگری به‌غیراز مالون دی آلدئید محلول، دارای جذب غیراختصاصی می‌باشند، جذب این ترکیبات در ۶۰۰ نانومتر نیز خوانده شد و از این میزان جذب در ۵۳۲ نانومتر کسر گردید (Heath and Packer, 1969). مقدار مالون دی آلدئید برحسب میکرو مول برگرم وزن‌تر محاسبه شد. از نرم‌افزار Mintab16 برای تحلیل داده‌ها و به‌منظور مقایسه میانگین‌ها از تست توکی آزمون آنوا در سطح ۰۵/. استفاده گردید. از نرم‌افزار Excel برای تحلیل و رسم نمودارها استفاده شد.

نتایج و بحث

سرعت و درصد جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که زوال ویرایم و اثر متقابل زوال و پرایم اثر معناداری در سطح ۱ درصد بر سرعت و درصد جوانه‌زنی داشت (جدول ۱ و شکل ۱).

سطوح مختلف زوال موجب کاهش درصدوسرعت جوانه‌زنی گردیده است و بیشترین کاهش مربوط به زوال زیاد است. درصد جوانه‌زنی در زوال زیاد نسبت به زوال کم ۹۳٫۹٪ کاهش یافت. به کارگیری سطوح مختلف اسید جیبرلیک ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ پی‌پی‌ام باعث افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی نسبت به نمونه شاهد (بدون پرایم) شدکه در زوال زیاد این افزایش معنادار نبود اما در زوال کم و متوسط موجب افزایش معنادار نسبت به نمونه شاهد (بدون پرایم) شد و پرایم ۱۰۰ppm اسید جیبرلیک بیشترین بهبود را داشت (شکل ۱).

از دلایل اصلی کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی براثر زوال می‌توان به پر اکسیداسیون چربی‌ها، خسارت به غشاهای سلولی، آسیب به فرایند سنتز RNA، تخریب DNA، رسوب و غیرفعال شدن آنزیم‌ها اشاره کرد (Lehner *et al*., 2008). از سوی دیگر تحقیقات نشان داده که پرایم بذور به تکثیر زودهنگام DNA و ساخت پروتئین و رشد سریع جنین منجر می‌شود (Dahal et al., 1990; Giri and Schilinger, 2003).

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده در گندم (اعداد داخل جدول میانگین مربعات هستند)

Table1- Analysis of variance of measured traits of soybean (Data in table are mean square)

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی Df	میانگین مربعات (MS)					
		مالوندی‌آلدئید MDA	هدایت الکتریکی EC	فنل Phenole	پروتئین محلول soluble protein	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination speed
تکرار Repeat	2	0.000105ns	19.4ns	0.0004ns	0.023ns	5.3ns	0.077ns
پیری Deterioration	2	0.072870**	9352.8**	0.1141**	26.702**	9529.3 **	520.832**
پرایمینگ Priming	3	0.012630**	774.1**	0.0031**	15.365**	393.9**	40.984**
پیری و پرایم Deterioration & Priming	6	0.00046ns	15.7ns	0.001165**	0.5786**	70.4**	8.191**
خطا Error	22	0.001	17.3	0.0003	0.0524	10.7	0.626
CV%	-	2.77	19.62	5.5	1.87	12.07	3.265

**معنی‌دار در سطح ۱ درصد*معنی‌دار در سطح ۵ درصد ns معنی‌دار نیست

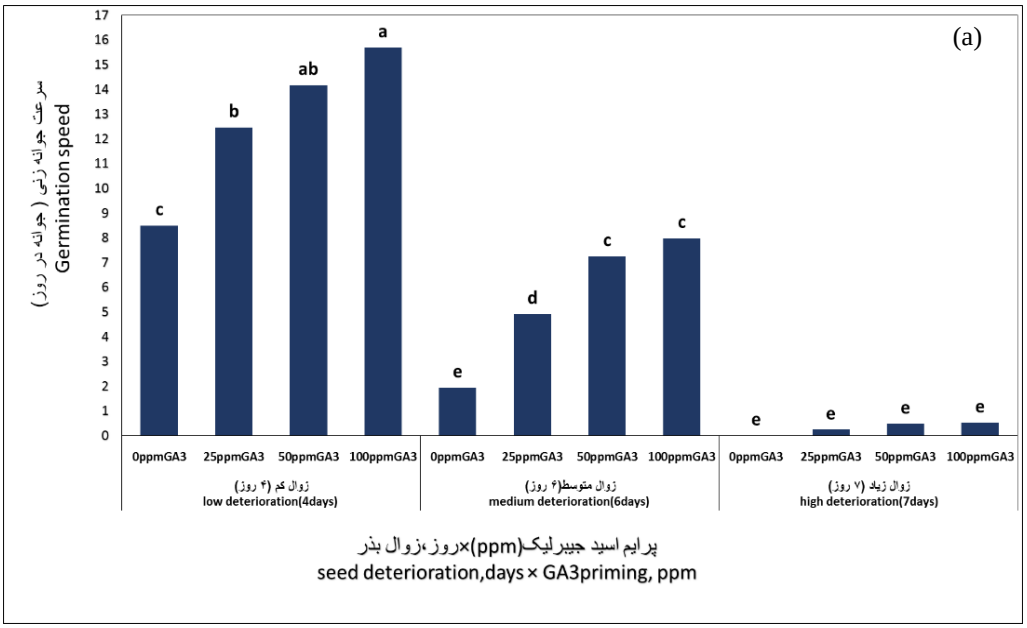
**, * significant at 1 and 5% and ns no significant

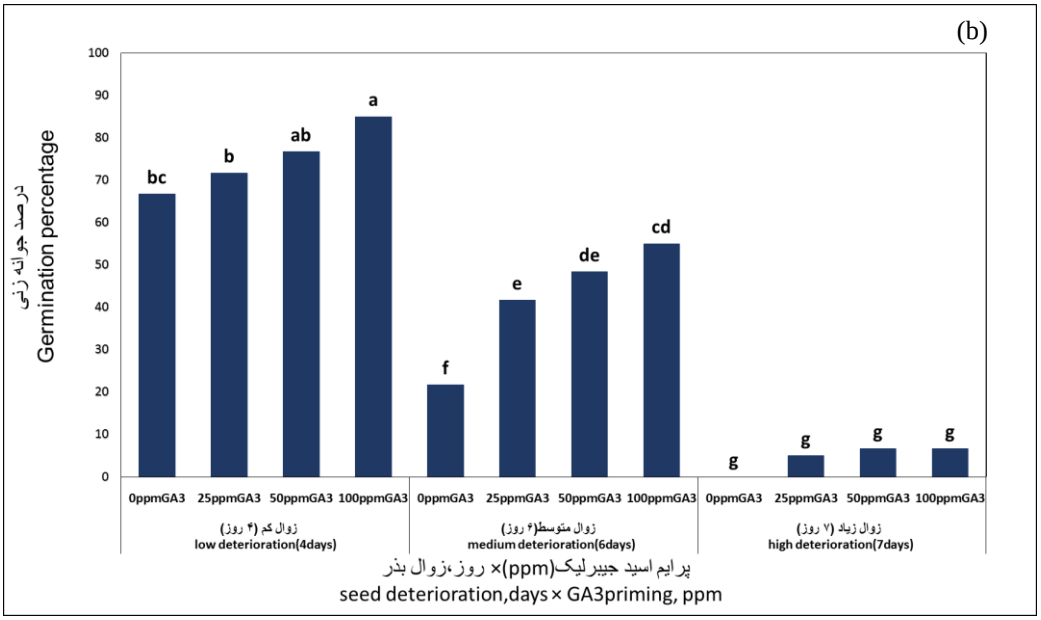
کاهش سرعت جوانه‌زنی در بذرهای کنجد در رقم‌های داراب ۲ و داراب ۱۴ تحت پیری تسریع شده و افزایش سرعت و درصد جوانه‌زنی پس ازپرایم با اسید جیبرلیک گزارش شده است (Hoseinikhah *et al.*, 2012). در تحقیقی دیگر فرسودگی منجر به کاهش سرعت و درصد جوانه‌زنی بذرهای کدو تخم کاغذی شد، اما کاربرد هورمون جیبرلین سرعت جوانه‌زنی را افزایش داد (Ghahremani *et al.*, 2014). عالیوند وهم کاران (Alivand *et al.*, 2012) در پژوهشی اعلام کردند پیری موجب کاهش سرعت و درصد جوانه‌زنی دربذرهای کلزا شد وپرایم اسید جیبرلیک سرعت و درصد جوانه‌زنی را افزایش داده و غلظت ۵۰ppm بیشترین اثر را داشت.

پروتئین محلول

نتایج تجزیه واریانس نشان داددرسطح ۱ درصد زوال وپرایم و اثر متقابل زوال و پرایم اثر معناداری بر میزان پروتئین محلول داشت (جدول ۱ و شکل ۲). سطوح مختلف زوال موجب کاهش پروتئین محلول گردیده است و بیشترین کاهش مربوط به زوال زیاددرمقایسه با زوال کم ۲۲٪ می‌باشد؛ اما پرایم سطوح مختلف اسید جیبرلیک ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ پی‌پی‌ام اثرات منفی زوال را کاهش داده و موجب افزایش معنادار پروتئین در سطوح مختلف زوال نسبت به بدون پرایم شد، اسید جیبرلیک ۱۰۰ پی‌پی‌ام بیشترین اثر را داشته و درزوال کم ۲۱٪، در زوال متوسط ۲۵٪ و در زوال زیاد ۱۷٪ میزان پروتئین را نسبت به نمونه بدون پرایم افزایش داد(شکل ۲). ممکن است کاهش میزان پروتئین محلول در هنگام پیری به علت تخریب آن‌ها به‌وسیله پروتئینازها باشدکه سبب هضم این پروتئین‌ها می‌گردند و اشاره به فعالیت پروتئولیتیکی بیشتر درطی زوال دارد. برخی اختلالات در ترکیبات پروتئین‌های غشاء درنتیجه واکنش گلیکوسیون غیر آنزیمی پروتئین‌ها و آمینواسیدها با قندهای احیایی در واکنش‌های آما دوری و مایلارد هست (Veselovsky and Veselova, 2012). کاهش مقدار پروتئین و افزایش قندهای احیایی در بذرهای زوال یافته کدو

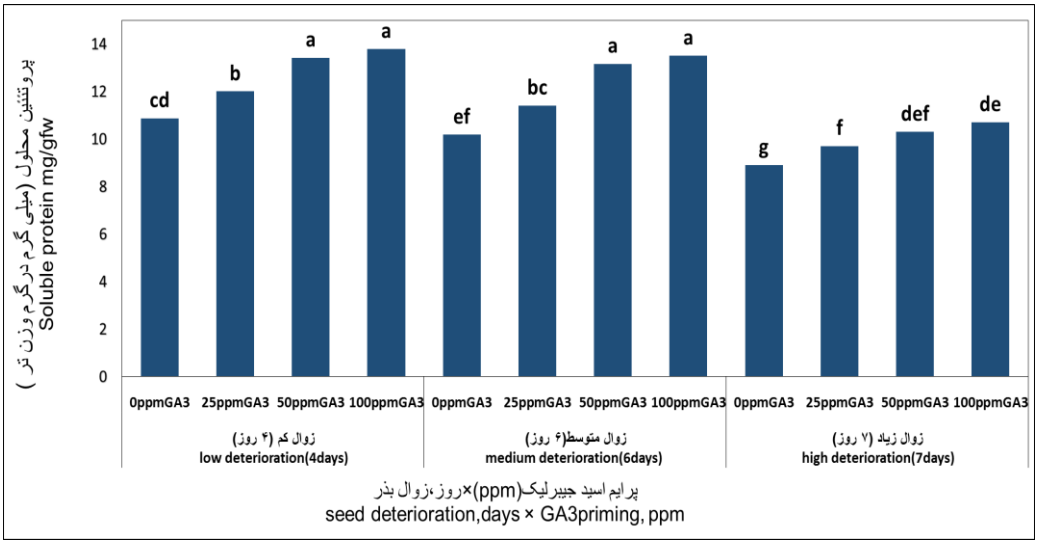
کاغذی نیز گزارش‌شده است (Ghaderi Far *et al*., 2014). در پژوهشـــی دیگر میزان پروتئین محلول در بـذرهای جو کـه بـه مـدت ۳ و ۴ و ۵ روز زوال یـافتـه‌انـد کاهش یافت (Shaaban, 2016). جنگ و ســینگ (Jeng and Sung, 1994) گزارش کردند در بادام‌زمینی با افزایش طول دوره زوال پروتئین محلول کاهش یافت.





شکل ۱- اثر متقابل زوال و پرایم اسیدجیبرلیک بر سرعت جوانه‌زنی (a)و درصد جوانه‌زنی (b)
حروف مشترک اختلاف معنی‌داری ندارند$p < 0.05$ (تست توکی). ازبدون زوال چشم پوشی شده است.

Figure 1-Interaction effects of seed deterioration and GA3 priming on germination speed (a) and germination percentage (b).
The same letters are not significantly different at $P \leq 0.05$ (Tukey test).The non-deterioration of seed is ignored.



شکل ۲-تاثیرسطوح مختلف اسیدجیبرلیک و سطوح مختلف زوال بر پروتئین محلول بذر گندم

حروف مشترک اختلاف معنی‌داری ندارند $p < 0.05$. ازبدون زوال چشم پوشی شده است.

Figure2- Different levels of gibberellic acid on different levels of deterioration on soluble protein of wheat. The same letter are not significantly different (P < 0.05). The non-deterioration of seed is ignored.

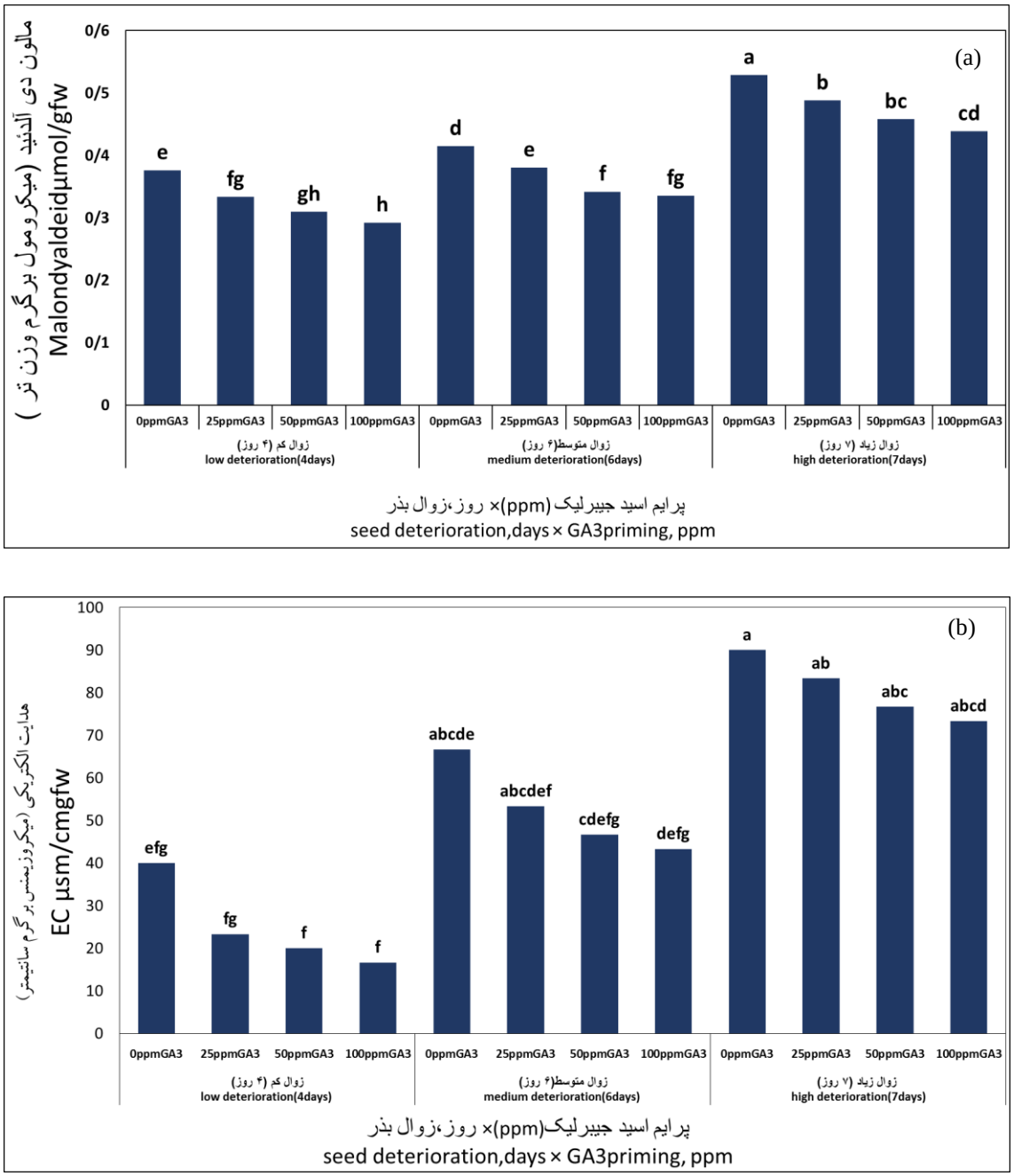
مالون دی آلدئید

در این تحقیق MDA درزوال زیاد اختلاف بسیار معناداری باسایرسطوح داشت، نسبت به زوال کم ۲۹٪ و نسبت به زوال متوسط ۲۲٪ افزایش یافت(شکل a ۳). پرایم با سطوح مختلف اسید جیبرلیک ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ پی‌پی‌ام موجب کاهش مقدار مالون دی آلدئیدبذرها نسبت به بدون پرایم شده و بیشترین اثر را پرایم ۱۰۰ پی‌پی‌ام گذاشت، به ترتیب موجب کاهش ۲۹٪، ۲۴٪ ،٪۲۱٪ میزان MDA در زوال کم، متوسط وزیادنسبت به بدون پرایم شد(شکل a ۳). افزایش سطح MDA بذر در پیری تسریع شده به‌طور غیرمستقیم نشان‌دهنده افزایش پر اکسیداسیون لیپید است (McDonald, 1999; Chang and Sung, 1998). از واکنش‌هایی که در حضور انواع اکسیژن فعال سرعت بیشتری پیدا می کند، پر اکسیداسیون لیپیدهای غشایی است که موجب تولید آلدئیدهایی مانند مالون دی آلدئید و فرآورده‌هایی همانند اتیلن می‌شود. افزایش میزان این ترکیب را نشان‌دهنده افزایش پر اکسیداسیون لیپید و اکسید شدن اسیدهای چرب غشا می دانند (Srivall and Khana, 2004). تحقیقات زیادی نشان داده‌اند که سطوح MDA در گیاهان تحت زوال افزایش می‌یابد که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. دربذرهای پنبه که به مدت ۵ روز زوال یافته بودند میزان MDA افزایش یافت (Goel *et al.*,2003). افزایش مالون دی آلدئید در بذرهای سویا تحت پیری تسریع شده نیزگزارش‌شده است (Stewart and Bewley, 1980).

هدایت الکتریکی

در این پژوهش زوال مقدار هدایت الکتریکی در بذرها را به‌طور معناداری افزایش دادوبیشترین افزایش مربوط به زوال زیاد نسبت به زوال کم به میزان ۵۶٪ بود (شکل b ۳). پرایم با اسید جیبرلیک موجب کاهش مقدار هدایت الکتریکی در نمونه‌ها شد اما این کاهش معنادار نبود (جدول ۱). به‌کارگیری سطوح مختلف اسید جیبرلیک ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ پی‌پی‌ام موجب کاهش هدایت الکتریکی نسبت به بدون پرایم شد وپرایم ۱۰۰ پی‌پی‌ام اسیدجیبرلیک بیشترین اثر مثبت را داشت به‌طوری‌که در زوال کم هدایت الکتریکی از ۴۰ میکروزیمنس برگرم سانتیمتر در نمونه بدون پرایم پس از پرایم با ppm ۱۰۰ اسیدجیبرلیک به ۱۶/۶۷ میکروزیمنس برگرم سانتیمتر رسید و در زوال

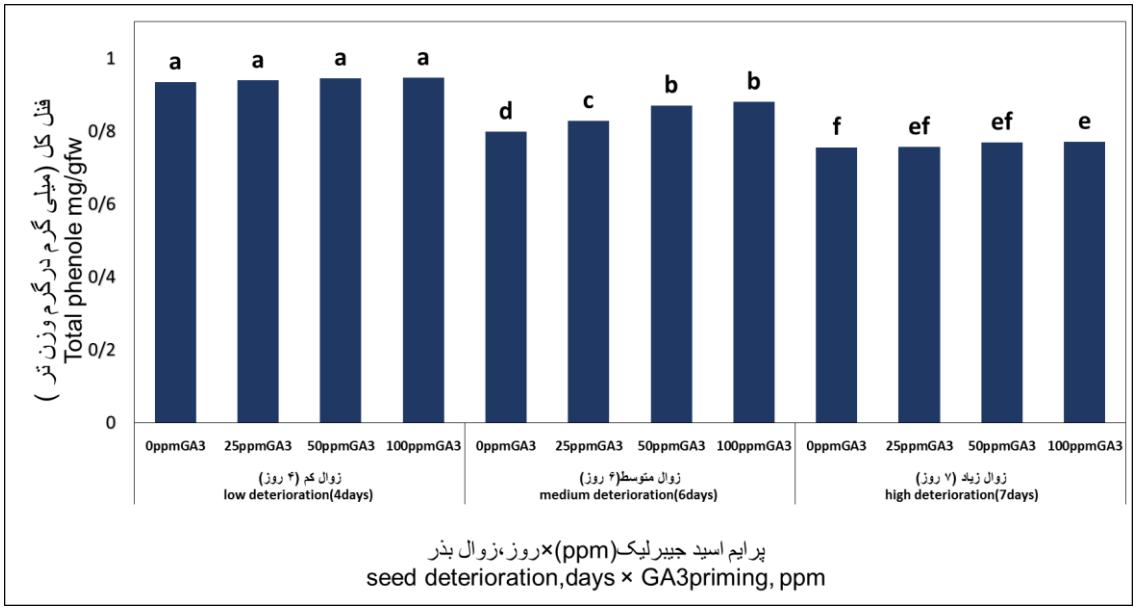
متوسط هدایت الکتریکی از ۶۶/۶۷ میکروزیمنس برگرم سانتیمتر پس از پرایم با اسید جیبرلیک ppm ۱۰۰ به ۴۳/۳۳ میکروزیمنس برگرم سانتیمترتقلیل یافت و در زوال زیادهدایت الکتریکی از ۹۰ میکروزیمنس برگرم سانتیمتر پس از به کارگیریppm ۱۰۰ اسید جیبرلیک به ۷۳/۳۳ میکروزیمنس برگرم سانتیمترکاهش یافت (شکل b ۳).



شکل ۳- اثر متقابل زوال و پرایم اسیدجیبرلیک بر مالون دی آلدئید (a) و هدایت الکتریکی (b) بذر گندم

حروف مشترک اختلاف معنی‌داری ندارند$p < 0.05$ (تست توکی). ازبدون زوال چشم پوشی شده است.

Figure3- Interaction effects of seed deterioration and GA3 priming on MAD (a) and EC of wheat (b). The same letter are not significantly different (P < 0.05) the non-deterioration of seed is ignored.



شکل ۴-تاثیرسطوح مختلف اسیدجیبرلیک و سطوح مختلف پیری تسریع شده برفنل کل بذر گندم

حروف مشترک اختلاف معنی‌داری ندارند$0.05 < p$. ازبدون زوال چشم پوشی شده است.

Figure4- Different levels of gibberellic acid on different levels of accelerated aging on phenole of wheat. The same letter are not significantly different ($P < 0.05$). The non-deterioration of seed is ignored.

اندازه‌گیری میزان هدایت الکتریکی بذور می‌تواند یکی از پارامترهای تعیین‌کننده قدرت بذر باشد. در اثر زوال، غشاء آسیب‌دیده و میزان نشت مواد افزایش می‌یابد (Kalpana and Madhava Rao, 1994). ازجمله تغییراتی که در غشاء رخ می‌دهد و باعث افزایش نشت الکترولیت‌ها از بذر می‌شود می‌توان به پر اکسیداسیون لیپیدهای غشاء سلولی اشاره کرد (Walters, 1998). از بین رفتن عملکرد غشا و نشت مواد مختلف از سلول یکی از عوامل اصلی کاهش پتانسیل جوانه‌زنی و رشد گیاه چه است (Goel and Sheoran, 2003). افزایش هدایت الکتریکی در بذرهای زوال یافته کدو تخم کاغذی گزارش شده است (Ghaderi Far *et al*., 2014). درتحقیقی دیگر مقدار هدایت الکتریکی در بذرهای سویا رقم سحر وکتول زوال یافته افزایش معنی‌داری رانشان داد (Mehravar *et al*., 2014).

فنل

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که زوال وپرایم و اثر متقابل زوال و پرایم اثر معناداری در سطح ۱ درصد بر میزان فنل بذرگندم داشت (جدول ۱). در این تحقیق فنل در زوال زیاد نسبت به زوال متوسط ۶٪ و نسبت به زوال کم ۲۴٪ کاهش یافت وپرایم باسطوح مختلف اسید جیبرلیک ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ پی‌پی‌ام موجب افزایش فنل نسبت به نمونه شاهد (بدون پرایم) شد، اما درزوال کم این تغییرات معنادار نبود ولی در زوال زیاد و متوسط پرایم ppm۱۰۰ اسید جیبرلیک نسبت به بدون پرایم افزایش معنی‌داری را نشان داد(شکل ۴). تأثیر انبارداری بر ترکیبات فنلی به مدت‌زمان، شرایط نگهداری و زمان برداشت بستگی دارد. به طوری که با افزایش مدت‌زمان نگهداری مقدار فنل کل بیشتر کاهش می‌یابد. در پژوهشی نیز مشاهده شد که میزان فنل کل پس از ۴۰ روز نگهداری کاهش معنی‌دار داشت، دلیل کاهش ترکیبات فنلی در طی انبارداری بذرها را به فرآیند پیری نسبت داده‌اند (Klimezak and Malecka, 2006). سیمیک و همکاران (Simic *et al*., 2004) گزارش کردند که با کاهش جوانه‌زنی بذرها سنتز ترکیبات فنلی به‌عنوان یک ماده حفاظتی در مراحل اولیه پیری افزایش می‌یابد؛ اما با کاهش

بیشتر بنیه بذرها، غلظت فنل نیز به دلیل کاهش سنتز آن‌ها، کاهش می‌یابد. درتحقیقی دیگر گزارش کردند در بذرهای سویا پیر شده تا ۳۶ ساعت مقدار فنل افزایش یافت اما بعد از افزایش مدت‌زمان پیری مقدار آن کاهش یافت (Ávila *et al*., 2012).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این آزمایش، سطوح مختلف پیری تسریع شده موجب کاهش معنادارشاخص‌های جوانه زنی، پروتئین، فنل و افزایش معنادار مالون دی آلدئیدوهدایت الکتریکی که نشان‌دهنده آسیب غشا ی سلولی می‌باشد گردید. پرایمینگ اسید جیبرلیک آسیب‌های وارده در اثر پیری تسریع شده را ترمیم کرده و بیشترین اثر مثبت را اسیدجیبرلیک ۱۰۰ پی‌پی‌ام داشت.

سپاسگزاری

نویسندگان وظیفه خودمی دانند از همکاری مهندس صادقی کارشناس مسئول آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشگاه فردوسی، دکترایزدی، دکتر مقدم، دکتر سوهانی، دکتراسعدی و مهندس نریمانی تشکر نمایند.

منابع

Reference

Al-Maskri, A.Y., M.M. Khan, M. JavedIqbal, and M. Abbas. 2004. Germinability, vigour and electrical conductivity changes in accelerated aged watermelon (*Citrullusl anatus* L.) seeds. J. Food Agric. Environ. 3: 100-103.

Avila, M.R., A.L. Braccini, C. Giatti, M. Souza, G. Mandarino, and G.L.Bazo, Y.C.F. Cabral. 2012. Physiological quality, content and activity of antioxidants in soybean seeds artificially aged. Revista Brasileira de Sementes. 34 (3): 397 – 407.

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

Bailly, C., A. Benamar, F. Corbineau, and D. Come. 2000. Antioxidant systems in sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds as affected by priming. Seed Sci. Res. 10:35–42.

Black, M., and J.D. Bewley. 2009. Seed Technology and its Biological Basis. Translated by R. Tavakkol Afshari. A, Abbasi Surki. E, Ghasemi. University of Tehran Press.

Bradford, M.N. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochem. 72:248-254.

Chang, S.M., and J.M. Sung. 1998. Deteriorative changes in primed sweetcorn seeds during storage. Seed Sci Technol 26: 613–626.

Dahal, P., K.J. Bradford, and R.A. Jones. 1990. Effects of priming and endosperm integrity on seed germination rates of tomato genotypes. J. Exp. Bot. 41: 1441–1453

Goel, A., and I.Sheoran. 2003. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes in cotton seeds undernatural ageing. Biol. Plantarum 46: 429-434.

Goel,A., A.K.Goel, and I. Sheoran. 2003. Changes in oxidative stress enzymes during artificial ageing in cotton (Gossypium hirsutum L.) seeds J. Plant Physiol. 160: 1093–1100.

Grilli, I., E. Bacci, T. Lombardi, C. Spano, and C. Floris. 1995. Natural Aging: Poly (A) polymerase in germination embryos of *Triticum durum* wheat. Ann. Bot. 76: 15–21.

Ghaderi-Far, F., A.Soltani, H. Sadeghipour. 2014. Changes in soluble carbohydrates and reactive oxygen species -scavenger enzymes activity in Medicinal Pumpkin during storage at different temperature and seed moisture. *EJCP*., 7 (1): 157-179.

Ghahremani,S., M. Sedghi, and H. Tavakoli. 2014. Effect of gibberellin and salicylic acid on germination and enzyme activity Antioxidant in of aging cucurbit. J. Seed Res. 2:20-29.

Hampton, J.G., and D.M. TeKrony. 1995. Handbook of Vigor Test Methods. The International Seed Testing Association, Zurich.

Heath, R.L., and L. Packer. 1969. Photoperoxidation in isolated chloroplast, Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Arch. Biochem. Biophys. 125: 189-198.

Hoseinikhah, F.S., S. Parsa, R. Tavakkol Afshari, M. Jami Al Ahmadi, A.Esmaeili. 2014. Effect of Salicylic Acid and Glycerol Acid on Prevention Processes Improve the decay of two sesame seeds (Sesamum indicum).Iranian Crop Sci. 5:425-431. (In Persian)

Hu, D., M.a. Gang, Q. Wang, J. Yao, Y. Wang, H.W. Pritchard, and X.F. Wang. 2012. Spatial and temporal nature of reactive oxygen species production and programmed cell death in elm (Ulmus pumila L.) seeds during controlled deterioration. Plant Cell. Environ. 35: 2045-2059.

Jeng, T.L., and J.M. Sung. 1994. Hydration effect on lipidperoxidation and peroxide-scavenging enzymes activity of artificially age peanut seed. Seed Sci.Technol. 22: 531-539.

Justice, O.L., and L.N. Bass. 1979. Principles and practices of seed storage. Castele House publications, London.

Kalpana, R., and K.V. Madhava Rao. 1994. Absence of the role of lipid peroxidation during accelerated ageing of seed of pigeon pea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) Cultivars. Seed Science and Technology 22: 253-260.

Klimezak, I., and M. Malecka. 2006. Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. J. Food Composition and Analysis. 20: 313- 322.

Karta, k.k., and A. Bekele. 2012. Influence of seed priming on germination and vigor traits of Vicia villosa. Afr. J. Agric. Res. 7 (21): 3202- 3208.

Lehner, A., N. Mamadou., P. Poels., D. Come, C. Bailly, and F. Corbineau. 2008. Change in soluble carbohydrates, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activityes in the embryo during aging in wheat grains. J. Cereal Sci. 47: 555-565.

Lu, X.X., X.L. Chen, and Y.H. Guo. 2005. Seed germinability of 23 crop species after a decade of storage in the National Gene Bank of China. Agric. Sci. China 4: 408-412.

McDonald, M.B. 1999. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. Seed Science and Technology 27: 177–237.

Mehravar, M., A. Sateii, A. Hamidi, M. Ahmadi, M. Salehi. 2014. Evaluation of lipid peroxidation and antioxidant enzymes activity in seeds of two soybean cultivars Accelerated by aging. Science and Technology of Seeds of Iran.1 (3):17-30.

Mo'aveni, P., A. Voldabadi, A. Ebrahimi. 2010. Wheat. First Edition. University Press Azad Islamic Library Shahre-Ghods unit. Shahre-Ghods. (In Persian)

Sairam, R.K., and D.C. Saxena. 2000. Oxidative stress and antioxidant in wheat genotypes,possible mechanism of water stress tolerance. Journal of Argonomy and Grop Science. 184: 55-61.

Shaaban, M. 2016. Effect of aging on enzymatic and non-enzymatic antioxidant changes and biochemical characteristics in barley (*Hordeum vulgare* L.) seeds cv. Valfajr. Iranian J. Seed Sci. Res. 3(3): 79-93. (In Persian, with English Abstract)

Simic, A., S. Sredojevic, M. Todorovic, L. Đukanovic, and C. Radenovic. 2004. Studies on the relationship between the content of total phenolics in exudates and germination ability of maize seed during accelerated aging. Seed Sci. Technol. 32(1): 213-218.

Slinkard, K., V.L.Singleton. 1977. Total phenol analysis; automation and comparison with manual methods. Am. J. Enol. Viticult. 28: 49-55.

Soltani, A., M. Gholipoor, and E. Zeinali. 2006. Seed reserve utilization and seedling growth of wheat as affected by drought and salinity. J. Environ. Exp. Bot. 55: 195-200.

Spanò, C., M.R. Castiglione, S. Bottega, and I. Grilli. 2004. Natural ageing of wheat seeds. J. Curr. Topics in Plant Biol. 5: 89–94.

Srivall, B., and R. Khanna-Chopra. 2004. The developing reproductive sink induces oxidative stress to mediate nitrogen mobilization during monocarpic senescence in wheat. Biochem. Biophys. Res. Commun. 325: 198- 202.

Stewart, R. R. C., and J. D. Bewley.1980. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean. Plant Physiol. 65: 245-248.

Sung, J.M., T.L. Jeng. 1994. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes associated with accelerated ageing of peanut seed. Physiol Plant. 91: 51–55.

Veselovsky, V.A., and T.V. Veselova. 2012. Lipid peroxidation, carbohydrate hydrolysis, and amadori-maillard reaction at early stages of dry seed aging. Russ. J. Plant Physiol. 59: 763-770.

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