علوم و تحقیقات بذر ایران
سال ششم/ شماره دوم/ ۱۳۹۸ (۲۴۳ - ۲۲۹)

DOI: 10.22124/jms.2019.3602

اثر هورمون‌پرایمینگ و زوال بذر بر ویژگی‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم های آنتی-اکسیدانت در بذور ارقام ذرت (*Zea mays* L.)

سعیده رشیدی[۱]، حمید عباس‌دخت[۲]*، احمد غلامی[۲]، رضا توکل افشاری[۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۷/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۲۹

چکیده

زوال بذر یکی از عوامل کاهش‌دهنده بنیه و محدودکننده جوانه‌زنی در بذر می‌باشد. شناسایی عوامل تاثیرگذار بر زوال بذر بسیار با اهمیت است. به‌منظور بررسی اثر هورمون‌های گیاهی بر ویژگی‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت بذور فرسوده ذرت آزمایشی در سال ۱۳۹۴ در آزمایشگاه بذر گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده علوم زراعی و دامی دانشگاه تهران انجام گرفت. این تحقیق به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل عامل رقم در دو سطح (رقم ۷۰۴و ۲۶۰)، عامل پیری زودرس در ۴ سطح (۰، ۵، ۱۰ و ۱۵ روز) و عامل هورمون در دو سطح (هورمون جیبرلین و هورمون سیتوکینین) بودند. زوال بذر سبب کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت پراکسیداز و کاتالاز شد. تیمار بذرهای زوال‌یافته با هورمون‌های سیتوکینین و جیبرلین سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت شد. هورمون سیتوکینین نسبت به هورمون جیبرلین اثر بیش‌تری بر افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در بذرهای زوال‌یافته داشت. نتایج نشان داد که بنیه ضعیف بذر سبب کاهش فعالیت آنزیم‌ها می‌شود و هورمون‌های گیاهی به‌عنوان یک رهیافت زراعی سبب جبران خسارت در بذرهای با بنیه پایین استفاده می‌شوند. رقم ۷۰۴ با بنیه بالاتر فعالیت آنزیمی بیش‌تری را نسبت به رقم ۲۶۰ نشان داد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، جیبرلین، ذرت، زوال بذر، سیتوکینین

۱- دانشجوی دکترای زراعت، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران
۲- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران
۳- استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
*نویسنده مسئول: habbasdokht@yahoo.com

مقدمه

ارزیابی کیفیت بذر جایگاه ویژه‌ای در تولید و کنترل و گواهی بذر دارد. بذرهای اغلب گیاهان معمولا پس از برداشت به‌مدت چند روز تا چند ماه یا سال در انبار نگه-داری می‌شوند. شرایط محیطی نگهداری بذر تعیین‌کننده مدت زمانی است که جوانه‌زنی و قدرت آن حفظ می‌شود. زوال بذر در طی انبارداری باعث کاهش کیفیت بذر می-شود. زوال بذر شامل برخی تغییرات بیوفیزیکی و بیوشیمیایی، شامل تغییر در ساختار مولکولی اسیدهای نوکلئیک تا کاهش فعالیت برخی آنزیم‌های کلیدی در جوانه‌زنی، افزایش فعالیت برخی از آنزیم‌های هیدرولیزکننده، اختلال در یکپارچگی غشا و کاهش سرعت جوانه‌زنی و رشد گیاهچه، کاهش توانایی جوانه‌زنی بذر ها تحت شرایط تنش، کاهش درصد استقرار بوته و در نهایت کاهش عملکرد می‌گردد و در صورت زوال شدید ممکن است هیچ بذری جوانه نزند (Corbineau *et al*., 2002). طی زوال بذر تعداد زیادی گونه‌های فعال اکسیژن تولید می‌شوند که سبب پراکسیداسیون لیپیدها می‌شوند. رادیکال‌های‌آزاد شامل یک گروه از اتم‌ها هستند که یک الکترون جفت‌نشده دارند. در فیزیولوژی بذر تجمع گونه-های فعال اکسیژن شامل پراکسیدهیدروژن، رادیکال سوپراکسید و رادیکال هیدروکسیل سبب پراکسیداسیون چربی‌ها، غیرفعال‌شدن آنزیم‌ها، خسارت به اسیدهای نوکلئیک و تخریب غشا سلول می‌شود (Bailly, 2004). آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز، گلوتاتیون‌ریداکتاز و سایر آنزیم‌ها باعث حذف و غیرفعال شدن انواع فعال اکسیژن می‌شوند (Bailly, 2000; McDonald, 1999). موفقیت در جوانه‌زنی به مکانیسم آنتی‌اکسیدانت گیاهی که به‌هنگام جوانه‌زنی در گیاه فعال است بستگی زیادی دارند. همچنین گزارش شده است که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت نقش مهمی در کنترل پراکسیداسیون هیدروژن دارند. آنزیم کاتالاز با حذف بخش عمده‌ای از H_2O_2 سلول تغییراتی را در سطح غلظت پراکسیدهیدروژن ایجاد می‌کند (Vandenabeele *et al*., 2004). آسکوربات‌پراکسیداز نیز یکی از آنزیم‌های اکسیداتیو کلیدی در سیستم دفاعی گیاهان و به‌عنوان یک احیاکننده برای رادیکال‌های آزاد از جمله H_2O_2 محسوب شده و لذا خسارت ناشی از تنش اکسیداتیو را به حداقل می‌رساند (Arora *et al*., 2002). شاخص‌های جوانه‌زنی از پارامترهای مهم کیفیت بذر می‌باشندکه از اهمیت خاصی برخوردار هستند. قدرت بذر تحت تاثیر پیری و زوال بذر می‌باشد و در پی آن شاخص‌های جوانه-زنی کاهش می‌یابد (Basra *et al*. , 2003; Chen *et al*., 2007; Kapoor *et al*., 2010; Seiadat *et al*., 2012; Rastegar *et al*., 2011).گزارشات مختلف حاکی از آن است که استفاده از تیمارهای مختلف بذری سبب افزایش در شاخص‌های جوانه‌زنی بذرهای زوال‌یافته می‌شود (Ansari and Sharifzadeh, 2012; Seiadat *et al*., 2012; Kang *et al*., 2007). خیساندن بذور با مطلوب‌ترین غلظت هورمون‌های رشد گیاهی افزایش جوانه‌زنی و همچنین افزایش کارایی و رشد و عملکرد را در پی دارد. هورمون‌های گیاهی که به‌طور معمول برای پرایمینگ استفاده می‌شوند: اکسین، جیبرلین سیتوکینین، اسید آبسیزیک، پلی آمین‌ها و اسید سالیسیلیک می‌باشند. جیبرلین‌ها شامل گروهی از هورمون‌ها هستند که بیش-ترین دخالت مستقیم را در کنترل و تسهیل جوانه‌زنی بذر دارند. افزایش سنتز و آزادسازی اسید جیبرلیک در بذر موجب تجزیه نشاسته و تبدیل آن به مواد قابل استفاده جنین شده و جوانه‌زنی شروع می‌شود (Afzal *et al*., 2006). پرایمینگ موجب افزایش آنزیم‌های آنتی-اکسیدانت مانند گلوتاتیون و آسکوربات در بذر می‌شود. این آنزیم‌ها فعالیت پراکسیداسیون لیپید را در طی جوانه-زنی کاهش می‌دهند و در نتیجه موجب افزایش درصد جوانه‌زنی خواهند شد (Rouhi *et al*., 2012). شاپفرو همکاران (Schoper *et al*., 2001) نشان دادند که کاربرد اسید جیبرلیک برون‌زا موجب افزایش معنی‌دار جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت بذرها گردید. توکل افشاری و همکاران (Tavakol Afsahari *et al*., 2007) در تحقیق خود نشان دادند که هورمون اسید آبسیزیک سبب ترمیم بذرهای زوال‌یافته کلزا شد که این امر منجر به افزایش درصد جوانه‌زنی نسبت به بذور بدون پرایمینگ گردید. هورمون‌پرایمینگ با سیتوکینین، اکسین و جیبرلین تحت غلظت ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ پی پی‌ام بر روی بروموس باعث افزایش صفات مختلف جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های زوال‌یافته بروموس شد (Esvand *et al*., 2010). لذا با توجه به اهمیت بذر به‌عنوان یک نهاده مهم کشاورزی و نقش کلیدی بذرهای سالم در عملکرد در این تحقیق از طریق اجرای آزمایش اثر هورمون‌های گیاه

به‌عنوان یک رهیافت کاربردی جهت بهبود بنیه بذرهای زوال‌یافته و اثر این هورمون‌ها بر تغییرات آنزیمی بذرهای زوال‌یافته ذرت مورد استفاده قرارگرفته است.

مواد و روش‌ها

به‌منظور مطالعه اثر هورمون‌های سیتوکینین و جیبرلین بر فعالیت های‌آنزیمی بذرهای ارقام ذرت با بنیه-های متفاوت از دو رقم بذر ذرت استفاده شد. ارقام مورد استفاده در این مطالعه شامل رقم هیبرید سینگل‌کراس ۷۰۴ و رقم هیبرید سینگل کراس ۲۶۰ بودند. بذرها از موسسه اصلاح و نهال بذر کرج تهیه گردید. بذرها در سال ۱۳۹۳ تولید شده بودند. کلیه آزمایش‌ها در آزمایشگاه بذر، زراعت و اصلاح نباتات دانشکده علوم زراعی و دامی دانشگاه تهران در سال ۱۳۹۴ اجرا گردید.

آزمایش پیری زودرس

جهت ایجاد بنیه‌های متفاوت در ارقام مورد بررسی، روش آزمون پیری زودرس[1] (AAT) به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در چهار تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل دو رقم بذر ذرت و بنیه‌های متفاوت ایجاد شده از طریق آزمون پیری زودرس در ۴ سطح زمان پیرشدن (۰، ۵، ۱۰ و ۱۵ روز) بود (Modaresi *et al*., 2002). به‌منظور انجام آزمون پیری زودرس ۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به درون جعبه‌های پلاستیکی اضافه شد. سپس ۵۰ عدد بذر بر روی تور سیمی پایه‌دار استریل‌شده قرار داده شد. توری‌ها درون جعبه‌های پلاستیکی قرار گرفتند. پس از آن هر جعبه در داخل ژرميناتور در دمای ۴۰ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۹۰ درصد در مدت‌های متفاوت قرار داده شدند. پس از گذشت زمان‌های فوق جعبه‌ها از ژرميناتور خارج شدند سپس بذرها به شرایط استاندارد جوانه‌زنی انتقال داده شدند تا جوانه‌زنی صورت پذیرد. ظهور ریشه‌چه به طول ۲ میلی‌متر به عنوان جوانه‌زنی بذر تلقی و در پایان روز هفتم بذرهای جوانه‌زده شمارش شدند. به‌منظور محاسبه سرعت جوانه‌زنی[2] شمارش بذرهای جوانه‌زده در هر روز به‌مدت هفت روز انجام شد (رابطه ۱) (Nichols and Heydecker, 1968). داده‌های حاصل از شمارش بذرهای جوانه‌زده در آخرین روز شمارش برای محاسبه درصد جوانه‌زنی[3] استفاده گردید (رابطه ۲) (Nichols and Heydecker, 1968). در پایان جوانه‌زنی صفاتی همچون طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه بر حسب سانتی-متر و وزن تر ریشه‌چه، وزن تر ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه برحسب گرم با ترازویی با دقت ۰/۰۰۰۱گرم اندازه‌گیری‌شد.

رابطه (۱)
$$GR = \sum \frac{N_i}{T_i}$$

N_i: تعداد بذرهای جوانه‌زده در یک بازه زمانی مشخص

T_i: تعداد روزهای پس از شروع جوان‌هزنی

GR: سرعت جوانه‌زنی

رابطه (۲)
$$GP = \frac{S}{T} \times 100$$

S: تعداد بذور جوانه‌زده

T: تعداد کل بذور

GP: درصد جوانه

آزمایش بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت پراکسیداز و کاتالاز در بذرهای ارقام ذرت با بنیه-های متفاوت

بررسی فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در بذرهای ذرت تحت تیمار بنیه قوی و ضعیف انجام شد. این بررسی به‌روش آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در ۴ تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل دو رقم بذر ذرت، سه تیمار پیری زودرس در سه سطح بدون پیری، ۱۰ روز پیری و ۱۵ روز پیری و تیمار جذب آب در سه زمان ۶، ۱۲ و ۱۸ ساعت بودند. تعداد ۱۰۰عدد بذر از هر رقم بر روی کاغذ صافی استریل درون هر پتری قرار داده شدند و ۵ میلی‌لیتر ساکارز ۲ درصد به هر پتری اضافه شد. سپس نمونه‌ها دردمای ۲۵ درجه سلسیوس و در شرایط تاریکی قرار داده شدند. در پایان مدت آبگیری بذرها در نیتروژن مایع منجمد و تازمان انجام آزمایش در فریزر ۷۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز نمونه‌ها در هاون چینی به وسیله ازت مایع کاملا پودر شدند و سپس ۳ میلی‌لیتر بافر تریس به آن اضافه شد. سپس محلول به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس

[1] Accelerated Aging Test

[2] Germinaition Rate

[3] Germinaition Percentage

سانتریفیوژ شد. بعد از آن محلول روشناور برای اندازه-گیری فعالیت آنزیم استفاده شد. برای اندازه‌گیری فعالیت

آنزیم پراکسیداز و کاتالاز از روش برنال و همکاران (Bernal *et al*., 2000) استفاده شد. فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر به‌ترتیب در طول موج ۴۷۰ و ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

آزمایش بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت پراکسیداز و کاتالاز در بذرهای پیرشده تیمارشده با هورمون سیتوکینین و جیبرلین

این بررسی به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در ۴ تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل دو رقم ذرت، دو تیمار پیری زودرس ۱۰ روز و ۱۵ روز پیری، دو تیمار هورمون جیبرلین و سیتوکینین با غلظت ۵۰ و ۱۵۰ میکرومول و سه تیمار جذب آب در سه زمان ۶، ۱۲ و ۱۸ ساعت بودند. در مرحله اول آزمایش، بذرهای دورقم ذرت تحت تیمار ۱۰ روز و ۱۵ روز پیری زودرس قرار گرفتند و پس از این مرحله غلظت‌های ۵۰ و ۱۵۰ میکرومول هورمون سیتوکینین و جیبرلین آماده شد و بذرهای با غلظت‌های متفاوت هورمون سیتوکینین و جیبرلین به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۰ درجه سلسیوس تیمار شدند (Alivand *et al*., 2012). در پایان این مدت تمامی بذور سه بار با آب معمولی و یک‌بار با آب مقطر شستشو و سپس بذور به‌مدت یک روز در دمای ۲۰ درجه سلسیوس نگهداری شدند تا خشک شوند. سپس بذرها بر روی کاغذ صافی استریل درون هر پتری قرار داده شدند و ۵ میلی لیتر ساکارز ۲ درصد به هر پتری اضافه شد. سپس نمونه ها در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و در شرایط تاریکی قرار داده شدند. در پایان مدت آب‌گیری بذرها در نیتروژن مایع منجمد شدند و تازمان انجام آزمایش در فریزر ۷۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز از روش برنال و همکاران (Bernal *et al*., 2000) استفاده شد.

داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از برنامه آماری MSTAT-C تجزیه شدند. آزمون مقایسه میانگین‌ها نیز به روش آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصدانجام گرفت. شکل‌ها با استفاده از نرم‌افزار Excel ترسیم شدند.

نتایج وبحث

آزمون اثر پیری تسریع‌شده بر شاخص‌های جوانه‌زنی ارقام ذرت

بر اساس نتایج تجزیه و تحلیل داده‌ها (جدول۱) تمام اثرات اصلی بر روی کلیه شاخص‌های اندازه‌گیری‌شده معنی‌دار شدند. اثر متقابل رقم و بنیه‌های متفاوت برای صفت وزن تر ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه معنی‌دار شدند.

درصد جوانه‌زنی

نتایج حاصل از مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی نشان داد که در شرایط بدون پیری میانگین درصد جوانه‌زنی ارقام ۹۱/۵۰ بود و با افزایش مدت زمان پیری زودرس(جدول۲) کاهش معنی‌داری در میانگین درصد جوانه‌زنی مشاهده شد. کاهش درصد جوانه‌زنی بر اثر زوال در اکثر تحقیقات مشاهده شده است که از دلایل اصلی آن می‌توان به پراکسیداسیون چربی‌ها، خسارت به غشاهای سلولی، آسیب به فرایند سنتز RNA، تخریب DNA، رسوب و غیرفعال‌شدن آنزیم‌ها اشاره‌کرد (Lehner *et al*., 2008).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر پیری تسریع‌شده بر شاخص‌های جوانه‌زنی ارقام ذرت

Table 1. Analysis of variance of the accelerated aging effect on germination characteristics of corn varieties

منابع تغییرات S.O.V	درجه‌آزادی (df)	میانگین مربعات (Mean Squares)							
		درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	طول‌ریشه‌چه Radicle length	طول ساقه‌چه Shoot length	وزن تر ریشه‌چه Radicle fresh weight	وزن تر ساقه‌چه Shoot fresh weight	زن خشک ریشه‌چا Radicle dry weight	وزن خشک ساقه‌چه Shoot dry weight
رقم Variety (V)	1	480.50**	126.127**	9.658**	6.753**	0.047**	0.001**	0.0001**	0.0001**
پیری زودرس Accelerated Aging (AA)	3	5994.333**	128.965**	8.129**	5.277**	0.008**	0.004**	0.00033**	0.000066**
V×AA	3	3.500ns	4.391ns	0.245ns	0.067ns	0.0001ns	0.001**	0.000033**	0.00033**
خطا Error	24	7.250	4.381	0.165	0.127	0.000125	0.0000039	0.0000040	0.00000044
ضریب تغییرات CV (%)	-	4.49	14.12	9.53	11.30	5.19	1.35	8.56	3.36

ns ,**به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

ns and ** not significant and significant at 1% probability level, respectively

جدول ۲- اثر پیری تسریع شده بر میانگین شاخص های جوانه‌زنی ارقام ذرت

Table 2. The effect accelerated aging on means germination characteristics corn varieties

تیمارپیری‌زودرس Accelerated Aging Treatment (day)	درصد جوانه‌زنی Germination percentage (%)	سرعت جوانه‌زنی Germination rate (n/day)	طول‌ریشه‌چه Radicle length (cm)	طول‌ساقه‌چه Shoot length (cm)	وزن تر ریشه‌چه Radicle fresh weight (gr)	وزن تر ساقه‌چه Shoot fresh weight (gr)	وزن‌خشک‌ریشه‌چه Radicle dry weight (gr)	وزن خشک ساقه چه Shoot dry weight (gr)
شاهد	91.50a	20.07a	5.40a	3.98a	0.234a	0.177a	0.0324a	0.0234a
5	70.75b	14.6b	4.62b	3.78a	0.222a	0.159b	0.0233b	0.0219a
10	50.00c	13.13bc	4.10b	2.83b	0.191b	0.137c	0.0214b	0.0179b
15	27.75d	10.63d	3c	2.10c	0.162c	0.123d	0.0175c	0.0159b

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد اختلاف معنی دار ندارد.

Means followed by similar letters in the same column don't have significant difference based on Duncan multiple rang test at 5% level of probability.

سرعت جوانه‌زنی

نتایج حاصل از مقایسه میانگین سرعت جوانه‌زنی تحت تاثیر تیمار پیری تسریع‌شده نسبت به تیمار بدون پیری (جدول۲) نشان داد که در شرایط بدون پیری (شاهد) میانگین سرعت جوانه‌زنی ارقام ذرت ۲۰/۰۷ بود و با افزایش مدت زمان پیری کاهش معنی‌داری در میانگین سرعت جوانه‌زنی مشاهده شد.کاهش سرعت جوانه‌زنی احتمالاً به‌دلیل وقفه ای است که در شروع جوانه‌زنی در بذرهای فرسوده‌شده ایجاد می شود ., *et al* Bailly) .2000)

طول ریشه‌چه

نتایج حاصل از مقایسه میانگین طول ریشه‌چه تحت تاثیر تیمار پیری تسریع‌شده نسبت به تیمار بدون پیری (جدول۲) نشان داد که در شرایط بدون پیری میانگین طول ریشه‌چه ارقام ۵/۴۰ سانتی‌متر بود و با افزایش مدت زمان پیری زودرس کاهش معنی‌داری در میانگین طول ریشه‌چه مشاهده شد.

طول ساقه‌چه

نتایج حاصل از مقایسه میانگین طول ساقه‌چه تحت تاثیر تیمار پیری تسریع‌شده نسبت به تیمار بدون پیری (جدول۲) نشان داد که در شرایط بدون پیری میانگین طول ساقه‌چه ارقام ذرت ۳/۹۸ سانتی‌متر بود و با افزایش مدت زمان پیری زودرس کاهش معنی‌داری در میانگین طول ساقه‌چه ارقام مشاهده شد.

وزن تر ریشه‌چه

نتایج حاصل از مقایسه میانگین وزن تر ریشه‌چه تحت تاثیر تیمار پیری تسریع‌شده نسبت به تیمار بدون پیری (جدول۲) نشان داد که در شرایط بدون پیری میانگین وزن تر ریشه‌چه ارقام ۰/۲۳۴ گرم بود و با افزایش مدت زمان پیری کاهش معنی‌داری در میانگین وزن تر ریشه‌چه مشاهده شد.

وزن تر ساقه‌چه

نتایج حاصل از مقایسه میانگین وزن تر ساقه‌چه اثر متقابل رقم و بنیه‌های متفاوت (جدول۳) نشان داد که در تیمار بدون پیری تفاوت بین دو رقم معنی‌دار شد. میانگین وزن تر ساقه‌چه رقم ۲۶۰ (۰/۱۹۱) گرم و میانگین وزن تر ساقه‌چه رقم ۷۰۴ (۰/۱۶۱) گرم بودکه با افزایش مدت زمان پیری وزن تر ساقه‌چه ارقام ذرت کاهش‌یافت ولی کاهش وزن تر ساقه‌چه در رقم ۲۶۰ نسبت به رقم ۷۰۴ محسوس‌تر بود.

وزن خشک ریشه‌چه

نتایج حاصل از مقایسه میانگین وزن خشک ریشه چه اثر متقابل رقم و بنیه های متفاوت (جدول۳) نشان داد که در تیمار بدون پیری تفاوت بین دو رقم معنی‌دار شد. میانگین وزن خشک ریشه‌چه رقم ۲۶۰ (۰/۰۳۵۶) گرم و رقم ۷۰۴ (۰/۰۲۹۳) گرم بود. زمانی که بذرها به‌مدت پنج روز تحت تیمار پیری زودرس قرار گرفتند. میانگین وزن خشک ریشه‌چه در هر دو رقم کاهش یافت ولی این کاهش در رقم ۲۶۰ محسوس‌تر بود.

وزن خشک ساقه‌چه

نتایج حاصل از مقایسه میانگین وزن خشک ساقه‌چه اثر متقابل رقم و بنیه های متفاوت (جدول ۳) نشان داد که در تیمار بدون پیری،تفاوت بین دو رقم معنی‌دار شد. زمانی که بذرها به‌مدت پنج روز تحت تیمار پیری زودرس قرار گرفتند میانگین وزن خشک ساقه‌چه رقم ۲۶۰ (۰/۰۰۲) گرم کاهش یافت و میانگین وزن خشک ساقه‌چه رقم ۷۰۴ (۰/۰۰۱) گرم کاهش یافت. نتایج نشان داد که

جدول ۳- اثر تیمار پیری تسریع‌شده بر شاخص‌های جوانه‌زنی دو رقم ذرت

Table 3. The effect accelerated aging on germination characteristics two corn varieties

تیمارپیری‌زودرس Accelerated Aging Treatment (day)	وزن تر ساقه‌چه Shoot fresh weight (gr)		وزن‌خشک‌ریشه‌چه Radicle dry weight (gr)		وزن خشک ساقه چه Shoot dry weight (gr)	
	260	704	260	704	260	704
شاهد	0.191a	0.161b	0.0356a	0.0293b	0.0290a	0.0197b
5	0.168b	0.149c	0.0197e	0.0261c	0.0262a	0.0177bc
10	0.137d	0.136d	0.0196e	0.02232cd	0.0205b	0.0153cd
15	0.120e	0.126e	0.0153f	0.0204de	0.0188b	0.0129d

میانگین های دارای حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون دانکن در سطح۵٪ اختلاف معنی دار ندارد.

Means followed by similar letters in the same column don't have significant difference based on Duncan multiple rang test 5% level probability.

در تیمار پنج روز و ده روز پیری زودرس در رقم ۲۶۰ وزن خشک ساقه‌چه کاهش محسوس‌تری را نسبت به وزن خشک ساقه‌چه رقم ۷۰۴ نشان داد. ولی درتیمار پانزده روز پیری زودرس میانگین وزن خشک ساقه‌چه رقم ۲۶۰(۰/۰۰۱) گرم کاهش یافت و میانگین وزن خشک ساقه‌چه رقم ۷۰۴ (۰/۰۰۲) گرم کاهش یافت. در این ارتباط کریشنان و همکاران (Krishnan *et al*., 2003) علت کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی بذرها تحت حرارت و رطوبت بالا را به از دست‌رفتن قابلیت حیات بذر نسبت داده‌اند. همچنین کریشنان و همکاران (Krishnan *et al.,*2003) گزارش کردند که از دست‌رفتن ساختار غشاء سلولی سبب کاهش قابلیت حیات بذر می‌شود. هامپتون و همکاران (Hampton *et al*.,2002) در مطالعه بر روی بذر نخود نتایج مشابهی را ارائه دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که افزایش مدت زمان نگهداری بذر تحت شرایط پیری زودرس سبب از دست‌رفتن قابلیت حیات بذر و افزایش زوال بذر می‌شود.

فعالیت آنزیم پراکسیداز

تجزیه آماری نشان داد که ارقام از نظر فعالیت آنزیم پراکسیداز تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد دارند (جدول۴). مقایسه میانگین ارقام از نظر فعالیت آنزیم پراکسیداز نشان داد که رقم ۷۰۴ میانگین فعالیت آنزیمی بالاتری نسبت به رقم ۲۶۰دارد. همچنین بین تیمارهای پیری زودرس از نظر فعالیت آنزیم پراکسیداز تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد وجود دارد (جدول۴). تیمار بدون پیری فعالیت آنزیمی بالاتری را نسبت به تیمارهای پیری نشان داده است. نتایج حاصل از تجزیه‌های آماری نشان دادکه اثر متقابل پیری زودرس و زمان آب‌گیری معنی دار ($P\leq$۰/۰۱) بوده است (جدول ۴). در تیمار بدون پیری و ۶ ساعت آب‌گیری میزان فعالیت آنزیم ۰/۰۰۵۹ واحد بر میلی‌گرم پروتئین و در تیمارهای ۱۰ روز و ۱۵ روز پیری و ۶ ساعت آب‌گیری به‌ترتیب میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز به (۰/۰۰۲۶) و (۰/۰۰۱۶) واحد بر میلی‌گرم پروتئین رسید. با افزایش ساعت آب-گیری به ۱۲ و ۱۸ ساعت میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار بدون پیری و تیمارهای ۱۰ روز و ۱۵ روز پیری افزایش یافت (شکل ۱). نتایج حاصل از تجزیه‌ها نشان می‌دهد که اثر متقابل رقم و زمان آب‌گیری معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۱) بوده است (جدول۴).

مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و زمان آب‌گیری نشان داد که در زمان ۶ ساعت آب‌گیری تفاوت میانگین فعالیت آنزیم پراکسیداز بین دو رقم معنی دار نیست. با افزایش زمان آب‌گیری به ۱۲ ساعت و ۱۸ ساعت میزان فعالیت آنزیم در هر دو رقم افزایش یافت (شکل ۲). تجزیه‌های آماری نشان داد که سایر اثرات متقابل شامل اثر متقابل رقم و پیری زودرس و اثر متقابل رقم، زمان آب‌گیری رقم، زمان آب‌گیری و پیری زودرس از لحاظ فعالیت پراکسیداز معنی‌دار نشد. در این تحقیق مشخص شد که نقش آنزیم پراکسیداز در اثر زوال بذر با اهمیت می‌باشد. همچنین میزان فعالیت این آنزیم در مراحل اولیه جوانه‌زنی دو رقم با بنیه پایین کاهش یافت. با افزایش ساعت آب‌گیری میزان فعالیت آنزیم در هر دو رقم افزایش یافت ولی میزان افزایش فعالیت در رقم ۷۰۴ از رقم ۲۶۰ بالاتر بود. بذر با بنیه بالاتر می‌تواند رادیکال‌های آزاد را که اثرات تخریبی بر رشد جنین دارند در سطح بهینه حفظ کنند.

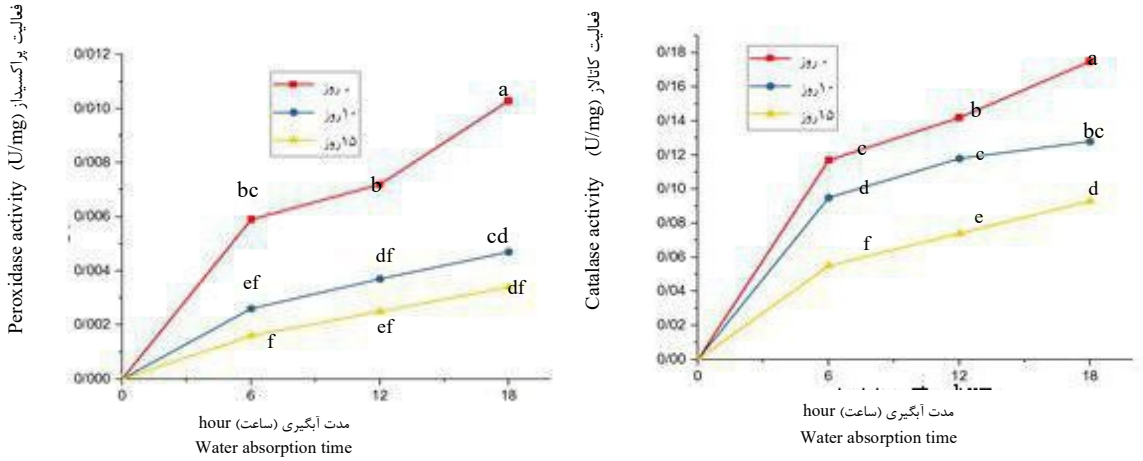
جدول ۴- تجزیه واریانس فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در دو رقم بذر ذرت با بنیه‌های متفاوت در مراحل اولیه جذب آب

Table 4. Analysis of variance activity peroxidase and catalase enzymes in two corn varieties with different vigors in elementary stages water absorption

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات Mean Squares	
			فعالیت آنزیم پراکسیداز Peroxidase enzyme activity	فعالیت آنزیم کاتالاز Catalase enzyme activity
Accelerated Aging	پیری زودرس	2	0.00001**	0.003**
Water Absorption Time	زمان آبگیری	2	0.00005**	0.011**
A A × WAT	زمان آبگیری × پیری زودرس	4	0.0000005**	0.0000019**
Variety	رقم	1	0.00003**	0.032**
A A × V	رقم × پیری زودرس	2	0.0000003 ns	0.00000036ns
WAT × V	رقم × زمان آبگیری	2	0.000001**	0.00036ns
A A × WAT × V	رقم × زمان آبگیری × پیری زودرس	4	0.00000001ns	0.0000015ns
Error	خطا	54	0.0000018	0.0000055
CV (%)	ضریب تغییرات (٪)	-	8.95	6.44

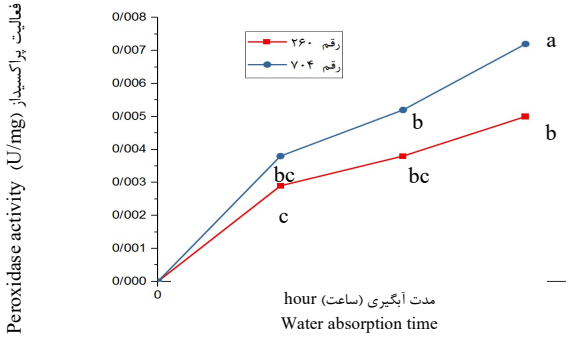
**, ns به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال یک درصد.

ns and ** not significant and significant at 1% probability level, respectively.



شکل ۱ – فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در ارقام ذرت با بنیه‌های متفاوت در مراحل مختلف آب‌گیری بذر

Figure 1. Peroxidase and catalase enzymes activity of corn varieties with different vigors in different stages of seed water absorption



شکل ۲ - مقایسه میانگین اثر متقابل ارقام و زمان آب‌گیری بر فعالیت آنزیم پراکسیداز

Figure 2. Mean comparison of varieties and water absorption time interaction on peroxidase enzyme activity

جدول ۵- تجزیه واریانس فعالیت آنزیم های پراکسیداز و کاتالاز در دو رقم بذر ذرت با بنیه‌های متفاوت تحت تیمار با هورمون سیتوکینین

Table 5. Analysis of variance activity peroxidase and catalase enzymes in two corn varieties with different vigors under treatment cytokinin hormone

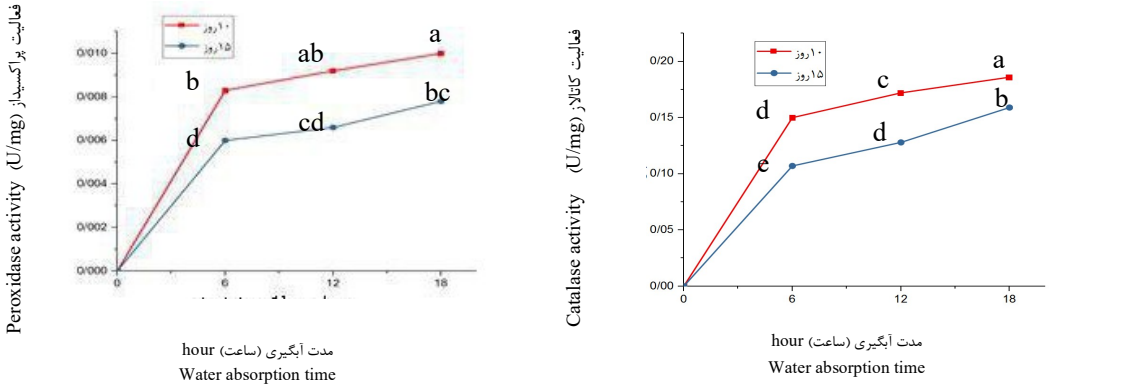
S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات Mean Squares	
			فعالیت آنزیم پراکسیداز Peroxidase enzyme activity	فعالیت آنزیم کاتالاز Catalase enzyme activity
Water Absorption time	زمان آبگیری	2	0.00004**	0.015**
Accelerated Aging	پیری زودرس	1	0.00002**	0.0034**
WAT × A A	زمان آبگیری × پیری زودرس	2	0.000005**	0.001**
Hormone concentration	غلظت هورمون	1	0.00003**	0.007**
HC × WAT	زمان آبگیری × غلظت هورمون	2	0.000003**	0.00003**
HC × A A	پیری زودرس × غلظت هورمون	1	0.00004ns	0.0000002ns
HC × A A × WAT	زمان‌آبگیری×پیری‌زودرس×غلظت‌هورمون	2	0.0000003ns	0.0000003ns
Variety	رقم	1	0.00005**	0.045**
V × WAT	زمان آبگیری × رقم	2	0.000003**	0.0000036ns
V × A A	پیری زودرس × رقم	1	0.000004ns	0.003ns
V × A A × WAT	زمان آبگیری × پیری زودرس × رقم	2	0.0000003 ns	0.00004ns
V × HC	غلظت هورمون × رقم	1	0.000001ns	0.0000015ns
V × HC × WAT	زمان آبگیری × غلظت هورمون × رقم	2	0.0000001ns	0.0000001ns
V × HC × AA	پیری زودرس × غلظت هورمون × رقم	1	0.0000003ns	0.0000004ns
V × HC × AA × WAT	مان آبگیری × پیری زودرس × غلظت هورمون ×رقم	2	0.00000003ns	0.0000003ns
Error	خطا	72	0.000013	0.000014
CV (%)	ضریب تغییرات	-	6.32	1.95

**, ns به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

ns and ** not significant and significant at 1% probability level, respectively

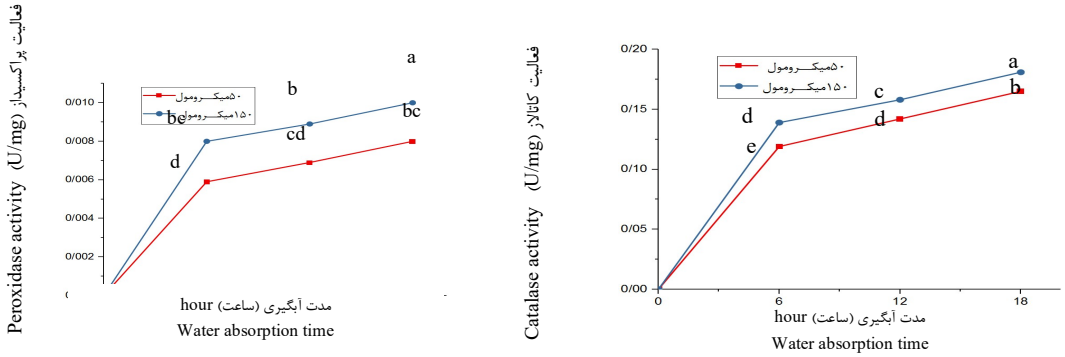
فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تیمار بذر با هورمون سیتوکینین

نتایج حاصل از مقایسه میانگین نشان داد که بذرهای زوال‌یافته زمانی که با هورمون سیتوکینین تیمارمی شوند فعالیت آنزیمی بالاتری را نشان می‌دهند به‌طوری‌که در تیمار پیری زودرس ۱۰ روز و ۱۵ روز و ۶ ساعت آب‌گیری فعالیت آنزیمی به‌ترتیب به (۰/۰۰۸۳) و (۰/۰۰۶۰) واحد بر میلی‌گرم پروتئین رسید و با افزایش ساعت آب‌گیری در ۱۲ و ۱۸ ساعت میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش یافت (شکل ۳). ثر متقابل زمان آب‌گیری و غلظت هورمون اثر معنی داری (P≤۰/۰۱) داشت (جدول۵). نتایج حاصل از مقایسه میانگین نشان داد که در تیمار ۶ ساعت آب‌گیری و غلظت هورمون ۵۰ و ۱۵۰ میکرومول به‌ترتیب فعالیت آنزیم پراکسیداز به (۰/۰۰۵۹) و (۰/۰۰۸) واحد بر



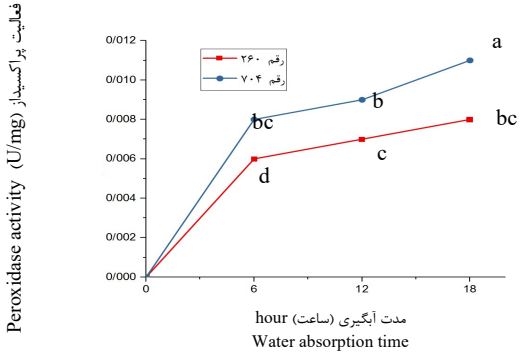
شکل ۳- فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در ارقام ذرت با بنیه‌های متفاوت در مراحل مختلف آبگیری بذر تحت تیمار با هورمون سیتوکینین

Figure 3. Peroxidase and catalase enzymes activity on corn varieties with different vigors in different stages seed water absorption under treatment cytokinin hormone



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل زمان آبگیری و غلظت هورمون سیتوکینین بر فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز

Figure 4. Mean comparison of water absorption time and cytokinin hormone concentration interaction on peroxidase and catalase enzyme activity



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل ارقام و زمان آب‌گیری بر فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تیمار با هورمون سیتوکینین

Figure 5. Mean comparison of varieties and water absorption time interaction on peroxidase enzyme activity under cytokinin hormone treatment

میلی‌گرم پروتئین رسید و با افزایش ساعت آب‌گیری همچنین نتایج حاصل از تجزیه آماری نشان داد که اثر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز بذرهای ذرت تحت تیمار با هورمون سیتوکینین افزایش یافت (شکل ۴).

اثر متقابل رقم و زمان آب‌گیری تحت تیمار با هورمون سیتوکینین معنی‌دار (P≤۰/۰۱) بوده است (جدول۵). نتایج حاصل از مقایسه میانگین نشان داد که با افزایش ساعت آب‌گیری از ۶ به۱۲ و ۱۸ ساعت میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز در هر دو رقم افزایش می‌یابد و از لحاظ مقایسه بین دو رقم ،رقم ۷۰۴ فعالیت آنزیمی بالاتری را نسبت به رقم ۲۶۰ نشان داده است. تجزیه‌های آماری نشان داد که سایر اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه از لحاظ فعالیت آنزیم پراکسیداز معنی‌دار نشده است (شکل ۵)

فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تیمار بذر با هورمون جیبرلین

تجزیه‌های آماری نشان داد که اثر متقابل هورمون جیبرلین و پیری زودرس از لحاظ فعالیت آنزیم پراکسیداز اثر معنی‌داری (P≤۰/۱) دارد (جدول۶). نتایج حاصل از مقایسه میانگین نشان داد که در تیمار پیری زودرس ۱۰ روز و غلظت هورمون ۵۰ میکرومول و ۱۵۰ میکرومول به‌ترتیب فعالیت آنزیم پراکسیداز به (۰/۰۰۶۴) و (۰/۰۰۸۵) واحد بر میلی‌گرم پروتئین رسید و درتیمار پیری زودرس ۱۵روز و غلظت هورمون ۵۰ میکرومول و۱۵۰ میکرومول به‌ترتیب فعالیت آنزیم پراکسیداز به (۰/۰۰۴۳) و (۰/۰۰۵۹) واحد بر میلی‌گرم پروتین رسید. تیمار پیری زودرس سبب کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز شد (شکل ۶). همچنین نتایج تجزیه آماری نشان داد که اثر متقابل پیری زودرس و رقم تحت تیمار با هورمون جیبرلین از

لحاظ فعالیت آنزیم پراکسیداز اثر معنی‌داری (P≤۰/۱) دارد (جدول ۶).

نتایج حاصل از مقایسه میانگین نشان داد که در تیمار پیری زودرس ۱۰ روز فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تیمار با هورمون جیبرلین در رقم ۲۶۰ (۰/۰۰۶۶) واحد بر میلی‌گرم پروتئین و در رقم ۷۰۴ (۰/۰۰۸۳) واحد بر میلی‌گرم پروتئین می‌باشد و در تیمار ۱۵ روز پیری زودرس میزان فعالیت این آنزیم در هر دو رقم کاهش یافت. ولی رقم ۷۰۴ فعالیت آنزیمی بالاتری را نسبت به رقم ۲۶۰ نشان‌داد (شکل۷). تجزیه‌های آماری نشان داد که سایر اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه از لحاظ فعالیت آنزیم پراکسیداز معنی‌دار نشده است. خواجه و همکاران (Khajeh *et al*., 2015) اثر هورمون‌پرایمینگ را بر روی بذرهای زوال‌یافته گلرنگ مورد بررسی قرار دادند. تیمار با هورمون جیبرلین سبب افزایش فعالیت آنزیمی در بذرهای زوال‌یافته شد.

جدول ۶- تجزیه واریانس اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در دورقم بذر ذرت با بنیه‌های متفاوت تحت تیمار با هورمون جیبرلین

Table 6. Analysis of variance of peroxidase and catalase enzymes activity measurement in two corn varieties with different vigors under gibberellin hormone treatment

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات Mean Squares	
			فعالیت آنزیم پراکسیداز Peroxidase enzyme activity	فعالیت آنزیم کاتالاز Catalase enzyme activity
Water Absorption time	زمان آب‌گیری	2	0.00002**	0.0014**
Accelerated Aging	پیری زودرس	1	0.00003**	0.039**
WAT × A A	زمان آب‌گیری × پیری زودرس	2	0.000004ns	0.0001**
Hormone concentration	غلظت هورمون	1	0.0002**	0.013**
HC × WAT	زمان آب‌گیری × غلظت هورمون	2	0.00003ns	0.00003**
HC × A A	پیری زودرس × غلظت هورمون	1	0.00005**	0.00004ns
HC × A A × WAT	زمان‌آب-گیری×پیری‌زودرس×غلظت‌هورمون	2	0.0000006ns	0.000003ns
Variety	رقم	1	0.00005**	0.048ns
V × WAT	زمان آب‌گیری × رقم	2	0.0000002ns	0.000014 ns
V × A A	پیری زودرس × رقم	1	0.000003**	0.000015ns
V × A A × WAT	زمان آب‌گیری × پیری زودرس × رقم	2	0.000003ns	0.000003ns
V × HC	غلظت هورمون × رقم	1	0.00000041ns	0.0000002ns
V × HC × WAT	زمان آب‌گیری × غلظت هورمون × رقم	2	0.0000007ns	0.00000014ns
V × HC × AA	پیری زودرس × غلظت هورمون × رقم	1	0.0000003ns	0.0000003ns
V × HC × AA × WAT	زمان آب‌گیری × پیری زودرس × غلظت هورمون ×رقم	2	0.0000002ns	0.0000016ns
Error	خطا	72	0.000041	0.000021
CV (%)	ضریب تغییرات	-	4.81	2.45

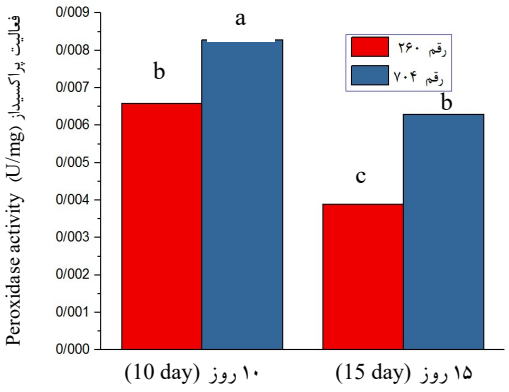
ns, ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد.

ns and ** not significant and significant at 1% probability level, respectively.

فعالیت آنزیم کاتالاز

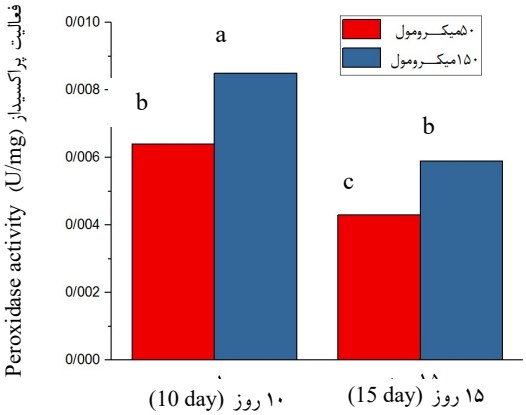
تجزیه آماری نشان داد که ارقام از نظر فعالیت آنزیم کاتالاز تفاوت معنی داری در سطح ۱ درصد دارند (جدول۴). مقایسه میانگین ارقام از نظر فعالیت آنزیم کاتالاز نشان داد که رقم ۷۰۴ میانگین فعالیت آنزیمی بالاتری نسبت به رقم ۲۶۰ نشان داده است. میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز در رقم۷۰۴ (۰/۱۳۲) و در رقم ۲۶۰ (۰/۰۹۰) واحد برمیلی‌گرم پروتئین است. همچنین بین تیمارهای پیری زودرس از نظر فعالیت آنزیم کاتالاز تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد وجود دارد (جدول۴).

تیمار بدون پیری فعالیت آنزیمی بالاتری را نسبت به تیمار پیری زودرس نشان داده است. فعالیت آنزیمی تیمار بدون پیری (۰/۱۴۵) و در تیمار ۱۰ روز پیری به (۰/۱۱۳) و در تیمار ۱۵ روز پیری به (۰/۰۷۴) واحد بر میلی‌گرم پروتئین رسیده است. نتایج حاصل از تجزیه‌های آماری نشان دادکه اثر متقابل پیری زودرس و زمان آب‌گیری معنی‌دار ($p \le 0.01$) بوده است (جدول۴). در تیمار



شکل ۷- مقایسه میانگین اثر متقابل پیری‌زودرس و ارقام بر فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تیمار با هورمون جیبرلین

Figure 7. Mean comparison of accelerated aging and varieties interaction on peroxidase enzyme activity under gibberellin hormone treatment



شکل ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل پیری زودرس و غلظت هورمون جیبرلین بر فعالیت آنزیم پراکسیداز

Figure 6. Mean comparison of accelerated aging and gibberellin hormone concentration interaction on peroxidase enzyme activity

بدون پیری و ۶ ساعت آب‌گیری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (۰/۱۱۷) واحد بر میلی‌گرم پروتئین و در تیمار ۱۰ روز و ۱۵ روز پیری و ۶ ساعت آب‌گیری به‌ترتیب به (۰/۰۹۵) و (۰/۰۵۵) واحد بر میلی‌گرم پروتئین رسیده است. تفاوت میانگین‌ها در این تیمارها معنی دار بود. با افزایش ساعت آب‌گیری به ۱۲ و ۱۸ ساعت میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار بدون پیری و تیمارهای ۱۰ روز و ۱۵ روز پیری افزایش یافت به‌طوری‌که در ۱۸ ساعت آب-گیری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار بدون پیری به (۰/۱۷۵) واحد بر میلی‌گرم پروتئین رسیده و در تیمارهای ۱۰ روز و ۱۵ روز پیری به‌ترتیب به (۰/۱۲۸) و (۰/۰۹۳) واحد بر میلی‌گرم پروتئین رسیده است (شکل ۱). تجزیه-های آماری نشان داد که سایر اثرات متقابل، شامل اثر متقابل رقم و پیری زودرس و اثر متقابل رقم و زمان آب-گیری و همچنین اثر متقابل رقم، زمان آب‌گیری و پیری زودرس از لحاظ فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار نشد. نتایج این بررسی با نتایج تحقیقات تیاراجه و کاپیلون (Thiayarajeh and Kapilon, 2015) هماهنگ بود. آن‌ها گزارش کردند که بنیه ضعیف بذر سبب کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی و کاهش فعالیت آنزیمی بذرهای آفتاب‌گردان شد. بگوم و همکاران (Begum *et al.*, 2014) اثر زوال بذر را در بذرهای بادام‌زمینی بر تغییرات آنزیمی مورد بررسی قرار دادند، زوال بذر سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و افزایش فعالیت آنزیم لیپاز شد.

فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تیمار بذر با هورمون سیتوکینین

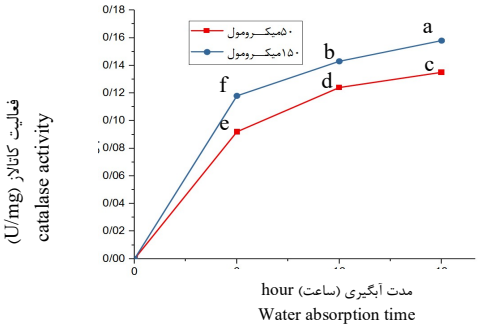
نتایج حاصل از تجزیه آماری نشان داد که اثر متقابل پیری زودرس و زمان آب‌گیری تحت تیمار با هورمون سیتوکینین معنی‌دار ($P\leq$۰/۱) بوده است (جدول۵). نتایج حاصل از مقایسه میانگین نشان داد که بذرهای زوال‌یافته زمانی که با هورمون سیتوکینین تیمار می‌شوند فعالیت آنزیمی بالاتری را نشان می‌دهند. به‌طوری‌که در تیمار پیری زودرس ۱۰ روز و ۱۵ روز و ۶ ساعت آب‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز به‌ترتیب به (۰/۱۵۰) و (۰/۱۰۷) واحد بر میلی‌گرم پروتئین رسیده و با افزایش ساعت آب‌گیری در ۱۲ ساعت و ۱۸ ساعت میزان فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش یافت (شکل۳).

اثر متقابل زمان آب‌گیری و غلظت هورمون اثر معنی-داری ($P\leq$۰/۱) داشت (جدول۵). نتایج حاصل از مقایسه میانگین نشان داد که در تیمار ۶ ساعت آب‌گیری و غلظت هورمون ۵۰ و ۱۵۰ میکرومول به‌ترتیب فعالیت آنزیم کاتالاز به (۰/۱۱۹) و (۰/۱۳۹) واحد بر میلی‌گرم پروتئین رسید و با افزایش ساعت آبگیری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز از بذرهای ذرت تحت تیمار با هورمون سیتوکینین افزایش یافت (شکل ۴). تجزیه‌های آماری نشان داد که

سایر اثرات متقابل دوگانه، سه گانه از لحاظ فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار نشده است.

فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تیمار بذر با هورمون جیبرلین:

نتایج حاصل از تجزیه آماری نشان داد که اثر متقابل پیری زودرس و زمان آب‌گیری تحت تیمار با هورمون جیبرلین معنی دار (P≤۰/۰۱) بوده است (جدول۶). نتایج حاصل از مقایسه میانگین نشان داد که بذرها تحت تیمار با هورمون جیبرلین با ۶ ساعت آب‌گیری در تیمار با پیری زودرس ۱۰ و ۱۵ روز به‌ترتیب فعالیت آنزیمی (۰/۱۲۴) و (۰/۰۸۶) میلی‌گرم بر واحد پروتئین دارند. با افزایش زمان آب‌گیری به ۱۲ ساعت میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به (۰/۱۵۷) و (۰/۱۱۰) میلی‌گرم بر واحد پروتئین رسیده و در تیمار آب‌گیری ۱۸ ساعت این میزان فعالیت به



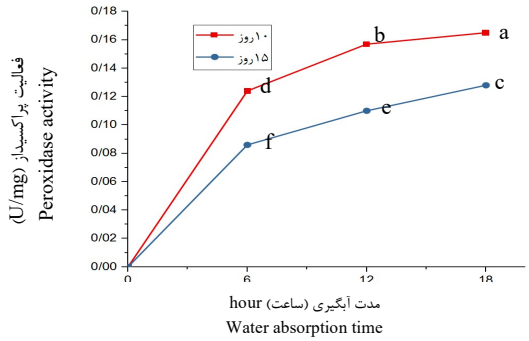
شکل ۹- مقایسه میانگین اثر متقابل زمان آب‌گیری و غلظت هورمون جیبرلین بر فعالیت آنزیم کاتالاز

Figure 9. Mean comparison of water absorption time and gibberellin hormone concentration interaction on catalase enzyme activity

پرایمینگ سبب کاهش فرسودگی و بهبود درصد و سرعت جوانه‌زنی می‌گردد. پرایمینگ با افزایش فعالیت آنتی‌کسیدانت موجب بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی می‌شود (Hsu *et al*., 2003). تنش‌های محیطی که فرسودگی نیز از آن جمله است موجب افزایش انواع اکسیژن فعال می‌شود. اکسیژن فعال نیز موجب انتقال سیگنال شده و پاسخ دفاعی را فعال می‌کند. افزایش پراکسیدهیدروژن و رادیکال‌های آزاد در سیتوپلاسم در طی فرسودگی، منجر به غیرفعال‌شدن فعالیت‌های فتوسینتیک شده و عدم تعادل بین رادیکال‌های آزاد و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت راسبب می‌شود. همچنین کاهش پیوستگی پروتئین‌ها در طی فرسودگی اتفاق افتاده و باعث افزایش حساسیت

(۰/۱۶۵) و (۰/۱۲۸) میلی‌گرم بر واحد پروتئین در تیمارهای پیری زودرس ۱۰ روز و ۱۵ روز رسیده، بنابراین افزایش ساعت آب‌گیری سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمارهای پیری زودرس شد (شکل ۸).

اثر متقابل زمان آب‌گیری و غلظت هورمون اثر معنی-داری (P≤۰/۰۱) داشت (جدول۶). نتایج حاصل از مقایسه میانگین نشان داد که در تیمار ۶ ساعت آب‌گیری و غلظت هورمون ۵۰ و ۱۵۰ میکرومول به‌ترتیب فعالیت آنزیم کاتالاز به (۰/۰۹۲) و (۰/۱۱۸) میلی‌گرم بر واحد پروتئین رسیده و با افزایش ساعت آب‌گیری بذرها تحت تیمار با غلظت‌های هورمون جیبرلین فعالیت آنزیمی بالاتری را نشان دادند (شکل ۹).



شکل ۸- مقایسه میانگین اثر متقابل پیری زودرس و زمان آب-گیری بر فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تیمار با هورمون جیبرلین

Figure 8. Mean comparison of accelerated aging and water absorption time interaction on catalase enzyme under gibberellin hormone treatment

پروتئین‌ها به آنزیم‌های تجزیه‌کننده می‌گردد و در نهایت کاهش قوه نامیه بذر مشاهده می‌شود (Berlette and Stadtman, 1997). بنابراین تغییرات درصد و سرعت جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز نیز بر همین اساس می‌باشد. پرایمینگ با کاهش عوارض زوال موجب ترمیم بیان ژن‌های مربوط به فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت می‌شود. همچنین پرایمینگ موجب کاهش خسارت غشای سلولی شده و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن را کاهش می‌دهد و از این طریق می‌تواند موجب افزایش جوانه‌زنی شود. آنتی‌اکسیدانت‌ها می توانند با کم-کردن میزان رادیکال‌های آزاد از فرسودگی بذر جلوگیری و روند آن را کندتر کنند (Thiayarajeh and Kapilon, 2015).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در تیمارهای بدون پیری بالاتر از تیمار پیری است. بنیه ضعیف بذر سبب کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی و کاهش فعالیت آنزیم‌های‌آنتی‌اکسیدانت می‌شود. همچنین میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت پراکسیداز و کاتالاز در رقم ۷۰۴ بالاتر از رقم ۲۶۰ است. پرایم بذرهای زوال‌یافته با هورمون‌های سیتوکینین و جیبرلین سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت پراکسیداز و کاتالاز می‌شود. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت از ابتدای جذب آب توسط بذر بیانگر اهمیت آن‌ها در کاهش نقش تخریبی رادیکال‌های آزاد اکسیژن و حفظ غلظت آن‌ها در حد بهینه می‌باشد. گونه‌های فعال اکسیژن و نقش آن‌ها در فیزیولوژی بذر امروزه مورد توجه بسیاری قرار گرفته است. اکثر تحقیقات انجام شده متمرکز بر نقش این مولکول‌ها در فرآیند پیری و همچنین اثر آن‌ها برقوه نامیه و بنیه بذر بوده است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان، مراتب تشکر و قدردانی خود را از مسئول آزمایشگاه بذر دانشکده علوم زراعی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران جهت همکاری ابراز می‌دارند.

منابع

Arora, A., Sariam, R.K. and Srivastava, G. 2002. Oxidative stress and antioxidant system in plants. Current Science Bangalore, 82(10): 1227-1238. **(Journal)**

Ansari, O. and Sharifzadeh, F. 2012. Enzyme activity and germination characteristics improved with treatment that extend vigor of primed Mountain Rye Seeds aging. Journal of Plant Physiology, 25(3): 1-6. **(Journal)**

Afzal, I., Basra, S., Faroog, M. and Nawaz, A. 2006. Alleviation of salinity stress in spring wheat by hormonal priming with ABA, salicylic acid and ascorbic acid. International Journal of Agriculture and Biology, 1: 23-28. **(Journal)**

Alivand, R., Tavakol Afshari, R. and Sharifzadeh, F. 2012. Effect of gibberellin, salicylic acid and ascorbic acid on seed germination characteristics in deteriorated rape seed. Iranian Jourral of Field Crop Science, 43(4): 561-571. (In Persian)**(Journal)**

Bailly, C. 2004. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. Seed Science Research, 14: 93-107. **(Journal)**

Bailly, C., Benamar, A., Corbineau, F. and Come, D. 2000. Antioxidant systems in sunflower (*Helianthus annus* L.) seed as affected by priming. Seed Science Reserch, 10: 35-42. **(Journal)**

Basra, S.M.A., Ahmad, N., Khan, M.M., Igbal, N. and Cheema, M.A. 2003. Assessment of cotton seed deterioration during accelerated. Seed Science and Technology, 31: 531-540. **(Journal)**

Bernal, L., Camacho, A. and Carhallo, A. 2000. Effect of seed aging on the enzymic antioxidant System of maize cultivars. PP.157-160 In: Black, M., K.j. Bradford and J. Vazgez-Ramos (eds). CABI Publshing. HK. **(Book)**

Begum, M., Balamurugan, P., Vanagamadi, K., Prabakar, K. and Ramakrishnan, R. 2014. Enzyme changes during seed storage in ground nut (*Arachis hypogaea* L.). Journal of Applied and Natural Science, 6(2): 748-750. **(Journal)**

Berlette, B.S. and Stadtman, E.R. 1997. Protein oxidation in aging disease, and oxidative Strees. The Journal of Biological Chemistry, 272: 20313-20316. **(Journal)**

Corbineau, F., Gay mathieu, C., Vinel, D. and Come, D. 2002. Decrease in sunflower seed viability caused by high temperature as related to energy metabolism, member damage and lipid composition. Physilogia Plantarum, 116: 489-496. **(Journal)**

Chen, J., Cheng, Z. and Zhong, S. 2007. Effect of exogenous salicylic acid on growth and H_2O_2 metabolizing enzymes in rice seedlings lead stress**.** Journal of Environmental Sciences, 12: 44-49. **(Journal)**

Esvand, H.R., Alizadeh, M.A. and Fekri, A. 2010. How hormonal of aged and non aged seeds of brome grass affects Seedling Physilogical Characters**.** Journal of New Seeds, 1: 52-64. **(Journal)**

Hampton, J.C., Cookson, W.R., Raula, A.G., Rowrth, J.S., Mcyill, C.R. and Hill, M.J. 2002. Temperature and time variable for accelerated aging testing of perennial ryegrass. Seed Science and Technology, 28: 861-863. **(Journal)**

Hsu, C.C., Chen, C.L., Chen, J.J. and Suny, J.M. 2003. Accelerated aging enhanced lipid peroxidation in bitter gourd seeds and effects of priming and hot water soaking treatments**.** Scientia Horticulturae, 8: 201-212. **(Journal)**

Kapoor, N., Arya, A., Siddigui, M.A., Amir, A. and Kumar, H. 2010. Seed deterioration in chickpea (*Cicer arietinam* L.) under accelerated aging. Asian Journal of Plant Science, 9(3): 158-162. **(Journal)**

Kang, G.Z., Wang, Z.X., Xia, K.F. and Sun, G.C. 2007. Protection of ultrastructure in chilling-stressed banana levels by salicylic acid. Journal of Zhejiang University Science B, 8(4): 277-282. **(Journal)**

Khajeh, M., Tabatabaei, S.A., Ansari, O. and Sharifzadeh, F. 2015. Improvement of germination characteristics and enhacement of antioxidant enzymes activity of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) aged seeds by use of gibberellin**.** Cercetari Agronomic in Moldova, 3(163): 33-41. **(Journal)**

Krishnan, P., Nagarajan, S., Dadlani, M. and Moharir, A.V. 2003. Characterization of wheat (*Triticam aestiavm* L.) and soybean (*Glycine max* L.) seeds under accelerated aging condition by proton nuclear magnetic spectroscopy. Seed Science and Technology, 31: 541-550**. (Journal)**

Lehner, A., Mamadou, N.P. and Corbineau, F. 2008. Change in soluble carbohydrates lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in the embryo during aging in wheat grains. Journal of Cereal Science, 47: 555-565. **(Journal)**

McDonald, M.B. 1999. Seed deterioration, physiology, repair and assessment. Seed Science and Technology, 27: 177-237. **(Journal)**

Modarresi, R., Rucher, M., and Tchrory, D.M. 2002. Accelerating aging test for comparing wheat seed vigor. Seed Science and Technology, 30: 683-687. **(Journal)**

Nichols, M.A. and Heydecker, W. 1968. Two approaches to the study of germination date. Internaional Seed Testing Association, 33:531-540. **(Handbook)**

Rastegar, Z., Sedghi, M. and Khomari, S. 2011. Effects of accelerated aging on soybean seed germination indexes at laboratory conditions. Notulae Scientia Biologicae, (3): 126-129. **(Journal)**

Rouhi, H.R., Abountalebian, M.A. and Moosavi, S.A. 2012. Change in several antioxiclant enzymes activity of berseem clover (*Trifolium alexandrinum* L.) by priming. International Journal of Agriculture Science, 2(3): 237-243. **(Journal)**

Seidat, S.A., Moosalei, A. and Sharifzadeh, F. 2012. Effect of seed priming on antioxidant activity and germination characteristics of maize seeds under different treatments**.** Research Journal of Seed Science, 5(2): 51-62. **(Journal)**

Schopfer, P., Plachy, C. and Frahry, G. 2001. Release of reactive oxygen intermediates (superoxide radicals, hydrogen peroxide, and hydroxyl radicals) and peroxidase in germination radish seeds controlled by light, gibberellin, and abscisic acid. Plant Physiology, 125: 1591-1602. **(Journal)**

Tavakkol Afshari, R., Rashidy, S. and Majnon Hoseini, N. 2007. Effect of abscisic acid and cytokinin on seed germination and vigor of deterioration rape seed high drought stress**.** Journal of Agronomy Science, 32: 167-176. **(Journal)**

Thiayarajeh, M. and Kapilan, R. 2015. Effect of aging on the germination characteristics and enzyme activity of sunflower seeds. International Journal of Research and Innovations in Earth Science, 2(6): 147-150. **(Journal)**

Vandenbeele, S., Vanderauwera, S., Vaylsteke, M. and Vanbreasegem, F. 2004. Catalase deficiency drastically affects gene expression induced by high light in *Arabidopsis thaliana*. The Plant Journal, 39(1): 45-58. **(Journal)**

Effect of hormone priming and deterioration of seed germination characteristics and antioxidant enzymes activity in corn cultivars seed (*Zea mays* L.)

Saedeh Rashidi[1], Hamid Abbasdokht[2]*, Ahmad Gholami[2], Reza Tavakol Afshari[4]

Received: October 13, 2017 Accepted: February 18, 2018

Abstract

Deterioration of seed is one of the vigor reducer factors and germination limiting. An evaluation effective factors on seed deterioration is important. In order to determine the effect plant hormones on germination characteristics and antioxidant enzymes activity corn deteriorated seed the experiment was carried out at seed and biotechnology laboratories of College of Agriculture, Tehran University in 2015.This exam was designed with a factorial experiment based on completely randomized design (CRD) with four replications. The experiment treatment include varieties factor at 2 levels (704 single cross hybrid and 260 single cross hybrid), accelerated aging factor at 4 levels (0,5,10,15 day) and hormone factor at 2 levels (gibberellin hormone and cytokinin hormone). Seed deterioration reduces germination indexes and reduces peroxidase and catalase enzymes activity. Treatments deterioraterd seeds with cytokinin and gibberellin increased antioxidant enzymes activity. The cytokinin hormone was more effective than gibberellin hormone in increasing the activity of antioxidant enzymes in deteriorated seeds. The results indicated seed aging decrease the activity of enzymes and plant hormones to tittle agronomy achievement reduced damage recovery using low vigor seeds. 704 cultivar, with a higher vigor indicated amore enzyme activity than 260 cultivar.

Key words: Antioxidant enzymes; Corn; Cytokinin; Gibberellin; Seed aging

How to cite this article

Rashidi, S., Abbasdokht, H., Gholami, G. and Tavakkol Afshari, R. 2019. Effect of hormone priming and deterioration of seed germination characteristics and antioxidant enzymes activity in corn cultivars seed (*Zea mays* L.). Iranian Journal of Seed Science and Research, 6(2): 229-243. (In Persian)**(Journal)**

DOI: 10.22124/jms.2019.3602

COPYRIGHTS

Copyrights for this article are retained by the author(s) with publishing rights granted to the Iranian Journal of Seed Science and Research

The content of this article is distributed under Iranian Journal of Seed Science and Research open access policy and the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY4.0) License. For more information, please visit http://jms.guilan.ac.ir/

1. Ph.D candidate of Agronomy, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Polytechnic University of Shahrood. Shahrood, Iran
2. Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Polytechnic University of Shahrood, Shahrood, Iran
3. Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

*Corresponding auhtor: habbasdokht@yahoo.com