علوم و تحقیقات بذر ایران
سال سوم/ شماره سوم/ ۱۳۹۵ (۱۰ - ۱)

بررسی تاثیر پیش‌تیمارهای مختلف بذر بر جوانه‌زنی و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه سرخارگل (*Echinacea purpurea*. L)

خاتون انصاری [۱]، امین صالحی [۲*]، محسن موحدی دهنوی [۳] و ساناز حیدری [۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۹/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۲/۲۵

چکیده

به منظور بررسی اثر پیش‌تیمارهای مختلف بر خصوصیات جوانه‌زنی و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه سرخارگل، آزمایشی به صورت طرح کاملا" تصادفی با چهار تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج در سال ۱۳۹۴ اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل چهار پیش‌تیمار اسید جیبرلیک ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر (۱۲ و ۲۴ ساعت)، نیترات پتاسیم ۲۹/۷ میلی‌مولار (۱۲ و ۲۴ ساعت)، بذور پیش‌تیمار شده با آب مقطر (۱۲ و ۲۴ ساعت)، اسید سالیسلیک ۲۰۰ میلی‌مولار (۱۲ و ۲۴ ساعت) و شاهد (بدون پیش تیمار) بودند. در این تحقیق، صفات متوسط مدت جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی، فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز مورد اندازه گیری و ارزیابی قرار گرفت. نتایج آزمایش نشان داد پیش تیمارهای اعمال شده اثر معنی‌داری بر صفات متوسط مدت جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی، فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز داشتند. بذرهای پیش‌تیمارشده با اسید جیبرلیک ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتربه مدت ۱۲ ساعت بالاترین شاخص‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم کاتالاز را نشان دادند. بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در پیش تیمار آب مقطر ۱۲ ساعت مشاهده شد. همچنین نتایج نشان داد که افزایش مدت پیش‌تیمار تأثیر منفی بر اکثر صفات داشت. به طور کلی در بین پیش‌تیمارها، پیش‌تیمار اسید جیبرلیک ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر در مدت‌زمان ۱۲ ساعت برای بهبود جوانه‌زنی و تولید گیاهچه قوی‌تر توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پیش‌تیمار، سرخارگل، جوانه‌زنی

۱و۴- دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج
۲- استادیار، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج
۳- دانشیار، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج
* نویسنده مسئول: aminsalehi@yu.ac.ir

مقدمه

در حال حاضر تقاضا برای گیاهان دارویی به عنوان تولیدات قابل مصرف در صنایع بهداشتی و دارویی در حال افزایش است (Kochaki *et al*., 2008). رویکرد روز افزون به استفاده از گیاهان دارویی در سطح جهان، اهمیت کشت و تولید این گیاهان را روشن‌تر می‌سازد. سرخارگل [*Echinaceae purpurea*(L.)Moench] گیاهی علفی چند ساله و از تیره *آستراسه* یا گل ستاره[1] است. این گیاه بومی آمریکای شمالی است، ولی امروزه در اکثر نقاط اروپا، آسیا و همچنین ایران کشت می‌شود. در گذشته این گیاه را برای درمان مارگزیدگی، بیماری‌های لثه و دهان، سرماخوردگی، سرفه و گلودرد استفاده می‌کردند. در ۵۰ سال اخیر این گیاه به دلیل خواص ضد ویروسی، ضد قارچی و ضد باکتریایی شهرت جهانی یافته است و ترکیبات حاصل از آن در گروه مواد تقویت کننده سیستم ایمنی بدن به شمار می‌رود. همچنین فرآورده‌های سرخارگل به عنوان تصفیه‌کننده خون، ضدعفونی‌کننده و آرام‌بخش معرفی شده است (Gladisheva, 1995).

امروزه اگرچه ارقام اصلاح شده دارای قوه نامیه بالایی می‌باشند ولی به دلیل وجود تنش‌های محیطی زیستی و غیرزیستی، تولید گیاهچه در آنها با مشکل روبرو می‌شود و درصد ظهور گیاهچه کاهش می‌یابد. یکی از روش‌های رایج جهت افزایش بهبود جوانه‌زنی بذرها، اعمال روش پیش‌تیمار (پرایمینگ)[2] روی بذرها می‌باشد (Coolbear and, 1978)، در این راستا پنالوسا و ایرا (Penalosa and Eira, 1993) بیان نمودند که تعیین زمان مناسب پیش‌تیمار موجب جلوگیری از تأثیر منفی آن بر ویژگی‌های جوانه‌زنی از جمله درصد و سرعت جوانه‌زنی و رشد گیاهچه بذرهای پیش‌تیمار شده می‌شود.

پیش‌تیمار (پرایمینگ) به تیمارهای خاصی گفته می‌شود که برای افزایش درصد و یکنواختی جوانه‌زنی بذر، بهبود رشد گیاهچه‌ها و شاخص‌های بنیه بذر در برابر تنش‌های محیطی به کار گرفته می‌شود (Ansari and Sharifzadeh, 2012). پیش‌تیمار شامل فرایندی است که طی آن تا اندازه ای به بذر اجازه جذب آب داده می‌شود که فعالیت‌های فیزیولوژیکی جوانه‌زنی شروع شود ولی خروج ریشه‌چه رخ ندهد (Badek *et al*., 2006).

[1] *Asteracea*
[2] Priming

کروچ و همکاران (Koroch *et al*., 2002)، عملیات تولید سرخارگل را به خاطر ظهور ضعیف گیاهچه و هزینه بالای بذر، بسیار متغیر گزارش کردند و بیان داشتند که بذرپاشی مستقیم در مزرعه باعث ظهور تعداد گیاهچه کم و غیر قابل‌قبول می‌شود. گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد پیش‌تیماربذرها، اجازه رونویسی زودهنگام DNA، افزایش RNA و پروتئین سنتتاز را به بذور داده و موجب افزایش رشد رویان می شود، بخش‌های آسیب دیده بذور را ترمیم می‌کند و سنتز متابولیت‌ها را کاهش می‌دهد. این عوامل می‌تواند میزان و یکنواختی جوانه‌زنی بذرها و ظهور گیاهچه‌ها را بهبود بخشد (Omidi *et al*., 2005).

پیش‌تیمار بذر باعث بهبود جوانه‌زنی بذر، از طریق یکنواختی بیشتر و افزایش بنیه و در نهایت عملکرد بالاتر در زیره سبز[3] شد (Nematollahi *et al*., 2009). پیش‌تیمار بذرهای سیاه دانه تحت شرایط تنش شوری با نیترات پتاسیم ۰/۲ درصد به مدت ۷۲ ساعت و اسید جیبرلیک با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۴۸ ساعت سبب بهبود ویژگی‌های جوانه‌زنی بذرهای گیاه سیاه دانه[4] شد (Fathiamirkhez *et al*., 2012). بیات و همکاران (Bayat *et al*., 2014) نیز گزارش دادند روش‌های مختلف پیش‌تیمار، تأثیر مثبتی بر ویژگی‌های گیاه سرخارگل و پیش‌تیمارهای هاردنینگ[5] (روش خشک و خیس کردن بذر) و کلرید پتاسیم در مدت‌زمان ۶ ساعت بیشترین اثر مثبت را بر صفات درصد، سرعت و قدرت جوانه‌زنی داشتند.

تأثیر پیش‌تیمار و پیش‌تیمار با آب مقطر و مانیتول در بذور نخود موجب افزایش تعداد شاخه‌های فرعی، طول ریشه‌چه و بیوماس گره‌های ریشه می‌گرددکه می‌تواند به دلیل توزیع بیشتر مواد فتوسنتزی به گره‌ها و همچنین افزایش فعالیت ساکارز سنتتاز و گلوتامین سنتتاز باشد (Kaur, 2006). در آزمایشی تأثیر پیش‌تیمارهای مختلف GA_3، نیترات پتاسیم و IAA روی جوانه‌زنی بذر گیاه نی نهاوندی[6] بررسی و مشخص شد که پیش‌تیمار با GA_3 درصد جوانه‌زنی این گیاه را نسبت به شاهد تا ۹۶ درصد افزایش و متوسط مدت جوانه‌زنی را به طور معنی‌داری کاهش داد (Bhatt *et al*., 2005).

[3] *Cuminum cyminum* L.
[4] *Nigella sativa* L.
[5] Hardening
[6] *Swertia angustifolia*

میزان تجمع انواع فعال اکسیژن در زمان جوانه‌زنی بوسیله میزان تولید و آزاد شدن انواع فعال اکسیژن و همچنین فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی تعیین می‌شود که تعادل بین انواع فعال اکسیژن و فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی تعیین کننده میزان خسارت وارده است. انواع اکسیژن فعال باعث آسیب به غشای سلولی، DNA و پروتئین می‌گردد که منجر به تولید ترکیبات سمی در گیاه می‌شود (Bailly, 2004). سیستم آنتی اکسیدانی شامل آنزیم‌ها و متابولیت‌های آنتی اکسیدان هستند که باعث حذف انواع فعال اکسیژن می‌شوند. آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و دیگر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان با شکستن پراکسید هیدروژن آن را به آب و اکسیژن تبدیل می‌کند و باعث حذف و غیر فعال شدن انواع فعال اکسیژن می‌شوند (Mittler, 2002).

سیادت و همکاران (Siadat *et al*., 2012) گزارش دادند که پیش‌تیمار بذر ذرت با KNO_3 و جیبرلین اثر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به تیمار شاهد داشت. آنها گزارش کردند بذرهای با فعالیت آنزیمی بیشتر دارای درصد جوانه‌زنی بیشتری بودند. همچنین یونسی و همکاران (Uonesi *et al.,* 2013) گزارش کردندکه اعمال پیش‌تیمار در بذر ارزن مرواریدی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به ویژه آنزیم کاتالاز و نیز افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی نسبت به تیمارهای پیش‌تیمار نشده شد.

احمدپور دهکردی و بلوچی Ahmadpour Dehkordi (and Balouchi, 2012) نیزگزارش کردند پیش‌تیمار بذر سیاهدانه با اسید سالیسیلیک، نیترات پتاسیم و آب مقطر سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در مقایسه با گیاهچه‌های تیمار نشده گردید. در مطالعات فاتح و همکاران (Fateh *et al*., 2011) بر بذر نخود نیز مشخص شد بذرهای پیش‌تیمار شده با کلرید کلسیم و کلرید پتاسیم دارای فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز بیشتر، وزن هزار دانه بیشتر، تعداد دانه در بوته بیشتر و شاخص برداشت بیشتری نسبت به بذرهای پیش‌تیمار نشده بودند.

بیشونی و همکاران (Bishnoi *et al*., ۲۰۱۰) گزارش نمودند که پیش‌تیمار بذرهای سرخارگل با پلی‌اتیلن گلیکول ۸۰۰۰ در پتانسیل آبی ۰/۵- مگا پاسکال با خراش‌دهی مکانیکی، میانگین روز تا جوانه‌زنی و همچنین درصد جوانه‌زنی بذرهای سرخارگل را به طور معنی‌داری افزایش داد. پراور و همکاران (Paraver *et al*., 2015) نیز بیان نمودند پیش‌تیمار بذرهای سرخار گل با آب مقطر به مدت زمان ۱۰ ساعت باعث افزایش معنی‌دار درصد و سرعت جوانه‌زنی، شد.

با توجه به اثر مثبت پیش‌تیمار بذر بر ویژگی‌های جوانه‌زنی گیاهان مختلف و مشکلات جوانه‌زنی گیاه سرخارگل و همچنین اهمیت این گیاه در صنایع دارویی این تحقیق جهت تعیین بررسی تاثیر پیش‌تیمارهای مختلف بذر بر خصوصیات جوانه‌زنی و برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بذر سرخارگل انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر پیش‌تیمارهای مختلف بر خصوصیات جوانه‌زنی و برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بذرهای سرخارگل، آزمایشی به صورت طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در سال ۱۳۹۴ در دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج اجرا شد. بذرهای سرخارگل اکوتیپ نجف آباد از مزرعه شرکت پاکان بذر اصفهان در مهرماه ۹۴ تهیه گردید. تیمارهای آزمایش شامل چهار پیش‌تیمار اسید جیبرلیک ۵۰۰ قسمت در میلیون (۱۲ ساعت و ۲۴ ساعت)، اسید سالیسلیک ۲۰۰ میلی‌مولار (۱۲ ساعت و ۲۴ ساعت)، نیترات پتاسیم ۲۹/۷ میلی‌مولار (۱۲ ساعت و ۲۴ ساعت)، آب مقطر (۱۲ و ۲۴ ساعت) و شاهد (بدون پیش تیمار) بود.

قبل از اعمال پیش‌تیمار، بذرها با هیپوکلریت سدیم پنج درصد به مدت ۳۰ ثانیه ضدعفونی گردید و سپس چندین بار با آب مقطر شستشو داده شدند. بعد از پیش‌تیمار، بذرها در دمای اتاق خشک و کشت انجام شد. در هر تیمار، ۲۵ عدد بذر داخل هر پتری به قطر ۹ سانتی‌متر روی کاغذ صافی واتمن شماره یک قرار داده شدند. به هر پتری پنج میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد و به منظور کاهش تبخیر آب دور پتری‌ها با پارافیلم بسته شد. جوانه‌زنی بذرها از روز پنجم شروع شد که در این روز اولین شمارش انجام و تا ۱۴ روز ادامه یافت. در پایان، ویژگی‌های مختلف مانند متوسط مدت‌زمان جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی، فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز محاسبه و اندازه‌گیری شد. به هنگام شمارش، بذرهایی جوانه‌زده تلقی شدند که طول ریشه‌چه آنها از

۲ میلی‌متر بیشتر بود (Gholami *et al*., 2015). برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز، آزمایشی جداگانه با تیمارهای آزمایش جوانه‌زنی طراحی شد و بعد از ۱۴ روز ساقه‌چه حاصل برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز استفاده شد.

با شمارش روزانه بذرهای جوانه‌زده، درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی طبق روابط زیر تعیین گردید.

متوسط مدت جوانه‌زنی از رابطه (۱) محاسبه شد (Ellis and Roberts, 1981):

رابطه (۱) $MGT=\frac{\sum fn}{N}$

که در آن MGT، متوسط مدت جوانه‌زنی، f، روز شمارش، n تعداد بذر جوانه‌زده در همان روز و N کل بذر جوانه‌زده می‌باشد.

سرعت جوانه‌زنی از رابطه (۲) محاسبه شد (Verma *et al*., 2005):

رابطه (۲) $GR = \Sigma \left(\frac{NI}{TI}\right)$

که در آن GR=سرعت جوانه‌زنی، NI: تعداد بذرهای جوانه‌زده در هرروز، TI: تعداد روزها از زمان شروع آزمایش‌می‌باشد.

درصد جوانه‌زنی از رابطه (۳) محاسبه شد (Ikic *et al*., 2012):

رابطه (۳) $GP= (n/N) \times 100$

که در آن GP=درصد جوانه‌زنی، n=تعداد بذور جوانه‌زده و N=تعداد کل بذرها می‌باشد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز

برای این منظور ۰/۱ گرم از بافت تازه ساقه‌چه در هاون چینی سرد با قرار دادن در ظرف یخ با ۲ میلی‌متر بافر فسفات ۰/۱ مولار با pH= ۶/۸ هموژن شد و سپس به‌مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. فاز بالایی عصاره به‌دست آمده برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز مورد استفاده قرار گرفت و فعالیت آنزیم بر حسب واحدگرم بر دقیقه بر بافت تازه ساقه‌چه محاسبه شد.

به ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH=7 حاوی آب اکسیژنه ۳۰ میلی‌مولار، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه و در طول موج ۲۴۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر مدل Lambda EZ 210 میزان کاهش جذب در مدت ۶۰ ثانیه قرائت شد. با افزودن H_2O_2 تجزیه آن شروع شده و موجب کاهش جذب می‌گردد. فعالیت آنزیمی بر حسب میلی‌مول بر گرم بافت تازه بر دقیقه محاسبه شد. ضریب خاموشی برای کاتالاز ۰/۰۳۹۴ میلی‌مول بر سانتی‌متر می‌باشد (Aebi, 1984).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز

به ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۶۰ میلی‌مولار با pH=۶/۱ ، ۰/۵ میلی‌لیتر گایاکول ۲۸ میلی‌مولار و ۰/۵ میلی‌لیتر H_2O_2 ۵ میلی‌مولار اضافه کرده و در طول موج ۴۷۰ نانومتر قرائت گردید. فعالیت آنزیمی به صورت افزایش جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۷۰ نانومتر در دقیقه به ازای هر میکروگرم پروتئین در عصاره آنزیمی بر حسب گرم بر دقیقه بر بافت تازه ساقه‌چه محاسبه گردید (Ghanati *et al*., 2002).

نتایج و بحث

فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر پیش‌تیمارهای مختلف بر فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز از پیش‌تیمار اسید جیبرلیک ۵۰۰ قسمت در میلیون و آب مقطر در مدت‌زمان ۱۲ ساعت به‌دست آمد که به‌ترتیب نسبت به شاهد ۱۷۵ و ۱۰۰ درصد افزایش داشتند. اسید سالیسیلیک ۰/۲ مولار و نیترات پتاسیم ۲۹/۷ میلی‌مولار اثر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم کاتالاز در مقایسه با تیمار شاهد نداشتند (جدول ۵). بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز از پیش‌تیمار آب مقطر در مدت‌زمان ۱۲ و ۲۴ ساعت به‌دست آمد که به‌ترتیب نسبت به شاهد ۱/۵۸ و ۱/۲۹ برابر افزایش نشان دادند. اسید سالیسیلیک ۰/۲ مولار و نیترات‌پتاسیم ۲۹/۷ میلی‌مولار اثر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم کاتالاز در مقایسه با تیمار شاهد نداشتند (جدول ۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثرات پیش‌تیمارهای مختلف بر صفات مورد مطالعه در بذر سرخارگل

Table 1. Variance analysis of the effect of different priming on studied traits of *Echinacea purpurea* seed

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	فعالیت آنزیم کاتالاز Catalase activity enzyme	فعالیت آنزیم پراکسیداز Peroxidase activity enzyme	متوسط مدت جوانه‌زنی Means of germination time	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	درصد جوانه‌زنی Germination Percentage
پیش‌تیمار Priming	8	0.64**	18.75**	10.56**	13.54**	393.44**
خطا Error	27	0.02	0.71	0.68	1.21	32.14
ضریب تغییرات (درصد) CV(%)		14.4	12.4	10.0	15.4	8.84

** : معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

** :significant at 1 percent probability level

طبق نتایج مشاهده می‌شود که آنزیم پراکسیداز و کاتالاز در گیاهان رشد کرده از بذرهای پیش‌تیمار شده بیشتر از بذرهای پیش‌تیمار نشده است. موسوی و همکاران (Moosavi *et al*., 2009) نیز نشان دادند پیش‌تیمار بذرهای گل همیشه‌بهار[1] فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، بخصوص کاتالاز و پراکسیداز را در مقایسه با بذرهای پرایم نشده افزایش می‌دهد. در مطالعه فرهودی و همکاران (Farhoudi *et al*., 2011) بر گیاه خربزه[2] نیز مشخص شد که گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پیش‌تیمار شده در مقایسه با گیاهچه‌های رشد یافته از بذرهای پیش‌تیمار نشده، فعالیت کاتالاز بیشتری را نشان دادند. دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در اثر پیش‌تیمار، می‌تواند در اثر ساخت DNA در جنین در مدت پیش‌تیمار و در غیاب سلول‌های تقسیم‌شونده و به دنبال آن افزایش سرعت سنتز DNA در بافت جنین باشد. افزایش در سرعت سنتز DNA در بذرهای پیش‌تیمار شده، تنها پس از شش تا ۱۲ ساعت پس از اعمال پیش‌تیمار گزارش شده است Bray *et al.,* (1989).

متوسط مدت، سرعت و درصد جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد، اثر پیش‌تیمار روی صفات متوسط مدت جوانه‌زنی، سرعت و درصد جوانه‌زنی در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین متوسط مدت جوانه‌زنی از تیمار شاهد به‌دست آمد که در مقایسه با پیش‌تیمار اسید سالیسیلیک در مدت‌زمان ۱۲ و ۲۴ ساعت اختلاف معنی‌داری نداشت. کمترین میانگین مدت‌زمان جوانه‌زنی از پیش‌تیمار اسید جیبرلیک ۵۰۰ قسمت در میلیون در مدت‌زمان ۱۲ و ۲۴ ساعت به‌دست آمد که در مقایسه با پیش‌تیمار آب مقطر در مدت‌زمان ۱۲ و ۲۴ ساعت اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (جدول ۲).

بیشترین درصد جوانه‌زنی نیز از پیش‌تیمار اسید جیبرلیک ۵۰۰ قسمت در میلیون در مدت‌زمان ۱۲ ساعت و نیترات‌پتاسیم ۲۹/۷ میلی‌مولار در مدت‌زمان ۲۴ به‌دست آمد که به‌ترتیب نسبت به شاهد ۷۳/۹ درصد و ۴۵/۸ درصد افزایش داشتند. بیشترین سرعت جوانه‌زنی نیز از پیش‌تیمار با اسید جیبرلیک ۵۰۰ قسمت در میلیون و آب مقطر در مدت‌زمان ۱۲ ساعت به‌دست آمد که به‌ترتیب نسبت به شاهد ۱۲۶/۸ و ۱۰۶/۴ درصد افزایش نشان دادند (جدول ۲).

سرعت جوانه‌زنی بیشتر در بذرهای پیش‌تیمار شده با آب مقطر می‌تواند به علت جذب سریع‌تر آب و شروع زودتر فعالیت‌های متابولیسمی در هنگام جذب آب مانند همانندسازی DNA (Jaap *et al*., 1966)، تحریک فعالیت RNA و در نتیجه پروتئین‌سازی (Davison *et al*., 1991)، ترمیم غشای سلولی و افزایش غلظت هورمون‌های محرک جوانه‌زنی از جمله اتیلن (Chojnowski and Come, 1997) باشد که مجموعه این عوامل مقدمات جوانه‌زنی را فراهم می‌آورند و باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی می‌شوند. ملک‌زاده و فلاح (Malekzadeh and Fallah, 2014) نیز نشان دادند اثر پیش‌تیمار با آب مقطر باعث افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی زنیان[3] شد. آن‌ها نشان دادند در بذرهای پیش‌تیمار شده با آب مقطر به‌مدت ۲۴ ساعت، درصد و سرعت جوانه‌زنی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت.

[1] *Calendula officinalis*
[2] *Cucomin melon*
[3] *Carum copticum* L.

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه در سطوح مختلف پیش‌تیماردر بذر سرخارگل

Table 2. Means comparison of studied traits in different priming levels of *Echinacea purpurea* seed

پیش‌تیمار priming	مدت‌زمان پیش‌تیمار PrimingTime	فعالیت آنزیم کاتالاز (میلی‌مول بر گرم بر دقیقه) Catalase activity enzyme (M mol gr^{-1} min^{-1})	فعالیت آنزیم پراکسیداز (میلی‌مول بر گرم بر دقیقه) peroxidase activity enzyme (M mol gr^{-1} min^{-1})	متوسط مدت جوانه‌زنی (روز) Means of germination time day	سرعت جوانه‌زنی Germination rate Seed day^{-1}	درصد جوانه‌زنی Germination Percentage (%)
اسید جیبرلیک	12	1.98a	7.84bc	5.66cd	10.14a	83.00a
Gibberllic acid	24	1.21bc	6.99ce	6.73cd	7.99bc	69.00b
اسید سالیسیلیک	12	0.78e	5.92cd	10.73a	5.33fg	58.00c
Salysilhc acid	24	0.90de	5.24cd	9.71ab	6.11def	57.00c
نیترات پتاسیم	12	1.01cd	3.67f	7.80c	6.02gef	62.00bc
KNO3	24	0.82de	6.63ce	9.10b	7.67bcd	70.00b
آب مقطر	12	1.44b	9.12a	6.13d	9.23ab	68.00b
Distilled water	24	1.01cd	8.09ab	6.73cd	7.00cde	62.00bc
شاهد Control	-	0.72e	3.53f	9.66ab	4.47g	48.00d

میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف معنی‌دار با آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد می‌باشند.

Means in each column followed by similar letter (s) are not significantly different at 5% probability levels using Lsd test

همچنین عموآقایی (Amoaghaee., 2006) در مطالعات خود روی بذر گیاه کما[4] بیان کرد که افزودن اسید جیبرلیک، درصد جوانه‌زنی را تا ۳۵ درصد افزایش داد. طویلی و همکاران (Tavili *et al*., 2008) نیز گزارش دادند پیش‌تیمار بذرهای علف‌شور[5] با اسید جیبرلیک و نیترات‌پتاسیم باعث افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی شد. آنها بیان داشتند پیش‌تیمار با اسید جیبرلیک سبب تسریع فرایندهای بیوشیمیایی و هیدرولیز قندها، فعال نمودن ژن‌های کد کننده آنزیم‌های دخیل در جوانه‌زنی بذر به‌ویژه آلفا آمیلاز می‌شود و بذر را برای جوانه‌زنی آماده‌تر می‌کند. همچنین گزارش شده است پیش‌تیمار با نیترات‌پتاسیم باعث توزیع مواد فتوسنتزی بیشتر به اندام‌های هوایی و افزایش فعالیت ساکارز سنتتاز و گلوتامین سنتاز می‌شود که در نتیجه باعث افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی و ظهور سریع‌تر گیاهچه می‌شود (Omidi *et al*., 2005).

سرعت جوانه‌زنی همبستگی مثبت و معنی‌داری با فعالیت آنزیم کاتالاز (r=۰/۷۵**) و پراکسیداز (r=۰/۷۳**) داشت (جدول ۳)؛ به‌طوری‌که با افزایش فعالیت این دو آنزیم سرعت جوانه‌زنی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. درصدجوانه‌زنی نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری با فعالیت آنزیم کاتالاز (r=۰/۷۶**) و پراکسیداز (r=۰/۷۱**) داشت (جدول ۳)؛ به‌طوری‌که با افزایش فعالیت این دو آنزیم درصد جوانه‌زنی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت.

به نظر می‌رسد که استفاده از پیش‌تیمار بخصوص اسید جیبرلیک باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز شده که در اثر این افزایش فعالیت آنزیمی در بذرها، درصد و سرعت جوانه‌زنی بهبود یافت. احمدپور دهکردی و بلوچی Ahmadpour Dehkordi and (Balouchi, 2012) گزارش دادند پیش‌تیمار بذر سیاه‌دانه با سالیسیلیک اسید، نیترات‌پتاسیم و آب مقطر، فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز، درصد و سرعت جوانه‌زنی بالاتری در مقایسه با گیاهچه‌های تیمار نشده نشان دادند. در مطالعات فاتح و همکاران Fateh *et al.,* (2011) بر بذر نخود نیز مشخص شد بذرهای پیش‌تیمار شده با کلسیم‌کلرید و پتاسیم‌کلرید دارای فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز بیشتر، وزن هزاردانه بیشتر، تعداد دانه در بوته بیشتر و شاخص برداشت بیشتری نسبت به بذرهای پیش‌تیمار نشده داشتند.

به‌طور کلی، مطالعه روابط همبستگی (جدول ۳) بین صفات نشان داد که بین کلیه صفات مورد مطالعه به جز متوسط مدت جوانه‌زنی، اثر مثبت و معنی‌داری وجود دارد که این امر بیانگر این موضوع است که بهبود در فعالیت آنزیم‌ها باعث بهبود در درصد و سرعت جوانه‌زنی، متوسط مدت جوانه‌زنی شده که این امر در نهایت باعث بهبود قدرت جوانه‌زنی و کاهش مدت‌زمان جوانه‌زنی می‌شود.

[4] *Ferula ovina*

[5] *Salsola rigida*

جدول ۳- ضرایب همبستگی ساده بین صفات مورد بررسی در سرخارگل

Table 3. The simple correlation coefficient between studied traits in *Echinacea purpurea* seed

	1	2	3	4	5
	فعالیت آنزیم کاتالاز Catalase activity enzyme	فعالیت آنزیم پراکسیداز Peroxidase activity enzyme	متوسط مدت جوانه‌زنی Means of germination time	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	درصد جوانه‌زنی Germination percentage
1	1				
2	0.45^{ns}	1			
3	-0.63^{**}	-0.60^{*}	1		
4	0.75^{**}	0.73^{**}	-0.47^{*}	1	
5	0.76^{**}	0.71^{**}	-0.61^{*}	0.81^{**}	1

ns، * و ** به‌ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و یک درصد

ns, * and** are non significant, signification at 5 and 1 % in probability levels respectively

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که بذرهای پیش تیمار شده دارای مؤلفه‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیمی بهتری بوده و پیش‌تیمار بذر در مجموع باعث بهبود ویژگی‌های جوانه‌زنی گیاهچه شد. پیش‌تیمار اسید جیبرلیک و آب مقطر در اکثر صفات مورد بررسی نسبت به سایر تیمارها مؤثرتر بودند. به‌طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد پیش‌تیمار بذر با اسید جیبرلیک ۵۰۰ قسمت در میلیون در مدت‌زمان ۱۲ ساعت نسبت به سایر تیمارها، بهترین تیمار برای بهبود جوانه‌زنی و فعالیت آنزیمی بذر سرخارگل بود.

منابع

Aebi, H.E. 1984. Catalas in vitro. Metods Enzymology, 105: 121-126. **(Journal)**

Ahmadpour Dehkordi, S. and Balouchi H.R. 2012. Effect of seed priming on antioxidant enzymes and lipids peroxidation of cell membrane in Black cumin (*Nigella sativa*) seedling under salinity and drought stress. Electronic Journal of Crop Production, 5(4): 63-85. (In Persian)**(Journal)**

Amoaghaee, R. 2006. Effect of gibberellic acid and chilling on dormancy breaking seed *Ferrula ovina* Boiss. Journal of Sciences and Technology of Agricultural and Natural Researches, 11 (40): 471-481. (In Persian)**(Journal)**

Ansari, O. and Sharifzadeh, F. 2012. Osmo and hydropriming mediated germination improvment under cold stress conditions in mountain rye (*Secale montanum*). Cercetari Agronomice in Moldova, 3: 53-62. (In Persian)**(Journal)**

Arin, L.E. and Kiyak, D.Y. 2003. The effect of pre_sowing treatments on emergence and seedling growth of tomato seed (*Liycopersicon esculentum* Mill.) under several stress conditions. Pakistan Journal of Biological Science, 6(11): 990-994. **(Journal)**

Badek, B., Duijn, B.V. and Grzesik, M. 2006. Effect of water supply methods and seed moisture content on germination of China aster and tomato seeds. Journal of Agronomy, 24: 45-51. **(Journal)**

Bayat, M., Rahmani, A., Amirnia, R. and Alavi Siney, M. 2014. Determine the best method and time of priming of *Echinacea purpurea* seed in vitro and pot conditions. Iranian Journal of Seed Science and Research, 1(1): 1-15. (In Persian)**(Journal)**

Bhatt, A., Rawal, R.S. and Dhar, U. 2005. Germination improvement in *Swertia angustifolia*: a high value medicinal plant of Himalaya. Current Science, 89(6): 1008-1012. **(Journal)**

Bishnoi, U.R., Willis, J.E. and Rao Mentreddy, S. 2010. Methods to improve seed germination of purple coneflower (*Echinacea purpurea* L. Moench). Agriculture and Biology Journal of North America, 6(4): 624-622. **(Journal)**

Bray, C.M., Davision, P.A., Ashraf, M. and Taylor, R.M. 1989. Biochemical changes during osmopriming of leek seed. Annals of Botany, 63: 185-193. **(Journal)**

Chojnowski, F.C. and Come, D. 1997. Physiological and biochemical changes induced in sunflower seeds by osmopriming and subsent drying, storage and aging. Seed Science Research, 7: 323-331. **(Journal)**

Davison, P.A., Taylor, R.M. and Bray, C.M. 1991. Changes in ribosomal RNA integrity in leek (*Alliumporrum* L.) seeds during osmopriming and drying osmopriming and drying-bak treatments. Seed Science Research, 1: 37-44. **(Journal)**

Demir Kaya, M., Games, O., Atak, M., Cikili, Y. and Kolsarici, O. 2006. Seed treatment to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). European Journal of Agronomy, 24: 291-295. **(Journal)**

Ellis, R.A. and Roberts, E.H. 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. Seed Science and Technology, 9: 373-409. **(Journal)**

Farhoudi. R., Saeedipour, S. and mohammadreza, D. 2011. The effect of NaCl seed priming on salt tolerance, antioxidant enzyme activity, and proline and carbohydrate accumulation of Muskmelon (*Cucumis melo* L.) under saline condition. African Journal of Agricultural Research, 6: 1363-1370. **(Journal)**

Fathiamirkhez, K., Omidi, H., Heshmati, S. and Jafarzadeh, L. Effects accelerates on seed vigour and germination Parameters (*Nigella sativa* L.). Iranian Journal of Field Crops Research, 10 (2): 299-310. (In Persian)**(Journal)**

Fateh, H., Siosemardeh, A. and Karimpoor, M. 2011. Effects of seed priming and sowing date on antioxidant enzymes activity and yield of chickpea under dryland condition. Technology of Plant Production, 10 (2): 1-16. (In Persian)**(Journal)**

Ghanati, F., Morita, A., and Yokota, H. 2002. Induction of suberin and increase of lignin content by exess boron in tobacco cell. Soil Science and Plant Nutrition, 48: 357-364. **(Journal)**

Gladisheva, O.N. 1995. Experimental studies on production and processing technology and establishment of raw material uses and seed plantation of *E. purpurea* under samara region. Russian Academy of Agricultural Science, p: 214. **(Journal)**

Gholami, S., Salehi, A and Moradi, A. 2015. Effects of maternal plant nutrition on the absorption of some nutritional elements and germination characteristics of Cumin (*Cuminum cyminum* L.). Iranian Journal of Seed Science and Technology, 4(1): 119-118. (In Persian)**(Journal)**

Heydecker, W. and Coolbear, P. 1978. Seed treatment for improved performance: Survey and attempted prognosis. Seed Science and Technology, 4: 384-394. **(Journal)**

Ikic, I., Maric evic, M., Tomasovic, S., Gunjaca, J., Atovic, Z.S. and Arcevic, H.S. 2012. The effect of germination temperature on seed dormancy in Croatian-grown winter wheats. Euphytica, 188: 25-34. **(Journal)**

Jaap, G.V.P., Groot, S.P.C., Kraak, H.L., Bergervoet, J.H.U. and Bino, R.J. 1996. Effects of pre-storage hydration treatments on germination performance, moisture content, DNA synthesis and controlled deterioration tolerance of tomato (*Lycopersicon esculentum Mill.*) seeds. Seed Science Research, 6: 57-63. **(Journal)**

Jabbari, R., Amini Dehaghi, M., Ganji Arjenaki, F. and Agahi, K. 2011. How duration and methods of priming may affect the germination of cumin seeds (*Cuminum cyminum* L.). Journal of Agronomy, 4(4): 23-30. **(Journal)**

Kaphi, M., Zand, E., Kamkar, B., Mahdavi damghani, A. and Abbasi, F. 2008. Plant Physiology (2), Publication of Jahad Daneshgahi Mashhad, pp.676. (In Persian)**(Book)**

Kaur, S., Gupta A.K. and Kaur, N. 2006. Effect of hydro and osmo priming of chickpea (*Cicer arientinum* L.) seeds on anzymes of sucrose and nitrogen metabolism in nodules. Plant Growth Regulation, 49: 177-182. **(Journal)**

Koocheki, A., Tabrizi, L. and Ghorbani, R. 2008. Effect of biofertilizers on agronomic and quality criteria of Hyssop (*Hyssopus officinalis* L.). Iranian Journal of Field Crops Research, 6 (1): 127 – 37. (In Persian)**(Journal)**

Koroch, A., Juliana, H.R., Kapetyn, J. and Simon, J.E. 2002. Invitro regeneration of *Echinacea purpurea* from leaf explant. Plant Cell Tissue and Organic Cell Culture, 69: 79-83. **(Journal)**

Lee, J.H., Hong, S.B, Yuu, S.H. and Park, E.H. 1998. Priming effect of rice seed on seedling establishment under adverse soil condition. Korean Journal of Crop Science, 43(3): 194-198. **(Journal)**

Malekzadeh, S. and Fallah, S. 2014. Effects of seed priming methods on germination parameters of Ajowan (*Carum copticum L.)* seed. Iranian Journal of Seed Science and Research, 1(2): 91-101. (In Persian)**(Journal)**

Moosavi, A., Tavakkol-Afshari, R., Sharif-Zadeh, F. and Aynehband, A. 2009. Effect of seed priming on germination characteristics, polyphenol oxidase, and peroxidase activities of four amaranth cultivars. Journal of Food Agriculture Environment, 7: 353-358. (In Persian)**(Journal)**

Nematollahi, E., Banayan, M., Souhani Darban, A. and Ghanbari, A. 2009. Hydropriming and osmopriming effects on cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds germination. World Academy of Science Engineering and Technology, 57: 526-529. **(Journal)**

Omidi, H., Soroushzadeh, A., Salehi, A. and Ghezeli, F. 2005. Evaluation of priming pretreatments on germination rapeseed. Agricultural Science and Technology, 19(2): 1-10. (In Persian)**(Journal)**

Paraver, A., Omidi, H., Sadat Ehsannezhad, H. and Amirzadeh, M. 2015. Effect of hydropriming on coneflower (*Echinacea purpurea*) seed germination and seedling growth under salt stress. Journal of Seed Ecophysiology, 1(1): 57-69. (In Persian)**(Journal)**

Penalosa, A.P.S. and Eira, M.T.S. 1993. Hydration dehydration treatments on tomato seeds (*Lycopersicom esculentum* mill.). Seed Science and Technology, 86: 461-469. **(Journal)**

Siadat, S.A., Moosavi, A., Sharafi-Zadeh, M. 2012. Effects of seed priming on antioxidant activity and germination characteristics of maize seeds under different ageing treatment. Research Journal of Seed Science, 5: 51-62. **(Journal)**

Tavili, A., Safari, B. and Saberi, M. 2008. Comparing the impact of the application of gibberellic acid and potassium nitrate on improving germination characteristics of *Salsols rigida*. Grassland, 3(2): 272-280. (In Persian)**(Journal)**

Verma, S.K., Bjpai, G.C., Tewari, S.K. and Singh, J. 2005. Seedling index and yield as influenced by seed size in pigeon pea. Legume Research, 28(2): 143-145. **(Journal)**

Yonesi, A., Bahadori, A., Azadi, M. and Ansari, O. 2013. The effect hydropriming and accelarated ageing on germination parameters and catalase enzyme in *Panucum miliaceum* (*Pennisitum americanum* L.). Journal of Seed Researches, 3(4): 61-70. (In Persian)**(Journal)**

Effect of different seed priming on germination characteristics and some antioxidant enzymes activity of *Echinacea purpurea*

Khatoon Ansari[1], Amin Salehi[2], Mohsen Movahedi Dehnavi[3], Sanaz Heydari[4]

Received: December 16, 2015 Accepted: March 15, 2016

Abstract

To find outthe effect differen**t** priming on germination characteristics and some antioxidant enzyme activity of *Echinacea purpureal*, an experiment was conducted in completely randomized design with four replications in 2015 at the Faculty of Agriculture, University of Yasouj. The experimental treatments consisted of four levels of priming included of gibberellic acid 500 mg/L(12 and 24 h), potassium nitrate 29.7mM (12 and 24 h), seeds priming with distilled water (12 and 24 h), salisilic acid 200 mM(12 and 24 h) and control. In this study, means of germination time, germination rate, germination percent, Catalase and Peroxidase activity enzyme measured and evaluated. The results showed that priming treatments had a significant effect on means of germination time, germination rate, germination percent, Catalase and Peroxidase activity enzyme. Priming with gibberellic acid 500 mg/L in 12 hours was more effective to achieve the highest germination characteristics and catalase activity. The highest peroxidase activity was achieved from priming with distilled water for 12 hours. Also, the results showed that increase in priming time had a negative effect on most of the measured characteristics. Overall, priming with gibberellic acid 500 mg/L for 12 hours is recommended to improve germination and vigourous seedling production.

Key words: Antioxidant enzymes; *Echinacea purpurea;* Germination; Priming

1 and 4- MSc student of Agronomy, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Yasouj, Yasouj, Iran

2- Assistant professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Yasouj, Yasouj, Iran

3- Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Yasouj, Yasouj, Iran

*Corresponding Author. E mail: aminsalehi@yu.ac.ir