علوم و تحقیقات بذر ایران
سال ششم/ شماره سوم/ ۱۳۹۸ (۳۹۸ - ۳۸۱)

DOI: 10.22124/jms.2019.3835

اثر پرایمینگ با اسیدسالیسیلیک و اسیدآسکوربیک بر شاخص‌های جوانه‌زنی و صفات بیوشیمیایی گندم (*Triticum aestivum* L) رقم پیشتاز در شرایط زوال بذر

سعید موری[۱]، حمیدرضا عیسوند[۲*]

تاریخ دریافت: ۹۵/۲/۸ تاریخ پذیرش: ۹۵/۴/۱۳

چکیده

هدف از انجام این آزمایش بررسی اثر اسیدسالیسیلیک و اسیدآسکوربیک بر بهبود خصوصیات جوانه‌زنی و کیفیت فیزیولوژیک بذرهای زوال‌یافته گندم (*Triticum aestivum* L.) بود. تیمارهای آزمایش شامل دو سطح پیری تسریع‌شده و شرایط نرمال و تنظیم‌کننده رشد گیاهی اسیدسالیسیلیک و اسیدآسکوربیک در سه سطح ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ قسمت در میلیون و هیدروپرایمینگ بود. تیمار بدون پرایمینگ به‌عنوان شاهد استفاده شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار انجام شد. صفات مورد بررسی در این پژوهش شامل درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، میانگین زمان جوانه‌زنی، شاخص طولی بنیه گیاهچه، شاخص جوانه‌زنی، ضریب سرعت جوانه‌زنی، هدایت الکتریکی بذرها، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز و محتوای مالون‌دی‌آلدهید، پروتئین محلول، قند محلول و پرولین بودند. نتایج نشان داد که اثر متقابل زوال در پرایمینگ برای درصد جوانه‌زنی معنی‌دار نبود درحالی‌که برای صفات میانگین زمان جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، شاخص جوانه‌زنی و ضریب سرعت جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد و برای شاخص طولی بنیه گیاهچه در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. در این پژوهش بهترین تیمار برای بهبود خصوصیات جوانه‌زنی بذرهای زوال‌یافته استفاده از اسیدآسکوربیک ۱۰۰ بود که ۲۳ درصد توانست جوانه‌زنی را بهبود بخشد. در شرایط نرمال نیز بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی اسیدسالیسیلیک ۱۰۰ به‌دست آمد که سبب افزایش ۲۲/۳۱ درصدی در جوانه‌زنی نهایی گردید. همچنین نتایج نشان داد که پیری تسریع‌شده به‌طور معنی‌داری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و پروتئین محلول را کاهش داده و در مقابل سبب افزایش معنی‌داری در هدایت الکتریکی و محتوای مالون‌دی‌آلدهید، قند محلول و پرولین می‌شود.

واژه های کلیدی: پرایمینگ، پیری تسریع‌شده، جوانه‌زنی، گندم

۱- دانشجوی دکترای زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران
۲- دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران
*نویسنده مسئول: eisvand.hr@lu.ac.ir

مقدمه

بذرها در طی دوره انبارداری زوال پیدا می‌کنند که در نهایت منجر به کاهش کیفیت آن ها می‌گردد (Basra *et al*., 2003). زوال بذر قدرت بذر را که اولین جزء از کیفیت آن است کاهش می‌دهد و به دنبال آن ظرفیت جوانه‌زنی و قوه نامیه نیز کاهش نشان می دهد. فرسودگی یا پیری بذر به فرآیند از دست‌رفتن کیفیت بذر با گذشت زمان اطلاق می‌شود که توانایی بذر برای زنده ماندن را کاهش می‌دهد. پیری بذر یک خصوصیت ناخواسته در کشاورزی است و سبب کاهش محصول دانه و ضرر اقتصادی می‌شود. زوال بذر باعث کاهش درصد جوانه‌زنی، ظهور گیاهچه‌های ضعیف، از دست دادن قدرت بذر و نهایتاً مرگ بذر می‌گردد (Tilebeni and Golpayegani, 2011). بذرهای زوال‌یافته استقرار نامناسب در مزرعه دارند و گیاهان سالم کم‌تری را در هکتار تولید می‌کنند. در صورت وجود زمان و شرایط مناسب برای مکانیسم‌های ترمیمی یک بذر پیرشده ممکن است توانایی ایجاد یک گیاه طبیعی و سالم را پیدا کند. (Mc Donald, 2004). میانگین عملکرد جهانی گندم در سال زراعی ۲۰۱۴، ۷۲۶/۵ میلیون تن بود (FAO, 2014). مطابق آخرین آمار ارائه شده توسط وزارت جهاد کشاورزی در سال زراعی ۹۳-۹۲ سطح زیر کشت گندم در کشور ۶۰۶۱۲۴۸ هکتار بود که از این میزان سطح، ۱۰۵۷۸۶۹۹ تن گندم برداشت شد.

فرسودگی یا پیری بذر به فرآیند از دست‌رفتن کیفیت بذر با گذشت زمان اطلاق می‌شود که توانایی بذر برای زنده ماندن را کاهش می‌دهد. تاکنون پدیده‌های زیادی شناخته شده‌اند که در خلال پیری بذر رخ می‌دهد اما هنوز مطالب بسیاری برای تحقیق باقی مانده است و اطلاعات کاملی در زمینه اهمیت نسبی هر یک از پدیده‌ها در فرآیند پیری بذر بدست نیامده است (Walters *et al.,* 2004).

در بذر های زوال‌یافته به‌علت اختلال‌های ایجاد شده در اندامک‌های سلول نظیر میتوکندری و گلی‌اکسی‌زومها میزان تولید گونه‌های فعال اکسیژن شامل پراکسیدهیدروژن، رادیکال هیدروکسیل و رادیکال سوپر اکسید افزیش می‌یابد (Bailly, 2004). آزاد شدن گونه-های فعال اکسیژن موجب افزایش پراکسیداسیون چربی‌ها و پروتئین‌های غشاء شده و با تخریب ساختار غشاء زوال بذر افزایش می‌یابد (Goel and Sheoran, 2003). حتی تحت شرایط مطلوب نگهداری بذر نیز خسارات مختلف بیوشیمیایی و تغییرات متابولیک شامل پراکسیداسیون لیپیدها، غیرفعال سازی آنزیم‌ها و شکستن غشای سلولی در طی زوال بذر رخ می‌دهد (Rajjou *et al.,* 2008; Kaewnaree *et al.,* 2011; Hu *et al.,* 2012).

پیری تنفس بذر به آرامی افزایش می‌یابد و نهایتاً منجر به از دست‌رفتن قدرت جوانه‌زنی می‌گردد. کاهش در تنفس ارتباط نزدیکی با پیری و زوال بذر دارد (Walters, 1998). برخی مکانیسم‌های حفاظتی درگیر در از بین-بردن رادیکال‌های آزاد نظیر کاتالاز، گایکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، و سوپراکسید دیسموتاز در مکانیسم‌های پیری بذر ارزیابی شده‌اند (Pukacka and Ratajczak, 2007). در فیزیولوژی زوال بذر گونه‌های فعال اکسیژن شامل هیدروژن پراکسید (H_2O_2)، رادیکال سوپراکسید (O_2^-) و رادیکال هیدروکسیل (OH^-) معمولا به‌عنوان مولکول‌های سمی مورد توجه‌اند که تجمع آن‌ها باعث پراکسیداسیون چربی‌ها، غیرفعال‌شدن آنزیم‌ها، خسارت به اسیدهای نوکلئیک و تخریب غشاهای سلول می‌شود (Rajjou *et al.,* 2008; Bellani *et al.,* 2012; Hu *et al.,* 2012; Yao *et al.,* 2012). افزایش تولید و آزادشدن گونه‌های فعال اکسیژن موجب افزایش پراکسیداسیون چربی‌ها و پروتئین‌های غشاهای سلولی می‌شود و به این ترتیب غشاها سلامت خود را از دست می‌دهند، در نتیجه میزان نشت الکترولیت‌ها از سلول افزایش می‌یابد (Goel *et al.,* 2003). سیستم‌های آنتی اکسیدانت از تجمع گونه‌های فعال اکسیژن در طی زوال بذر جلوگیری می‌کنند (Bailly *et al.,* 2002; Yao *et al.,* 2012).

آزمون پیری تسریع‌شده به‌عنوان یک آزمون مناسب جهت پیش‌بینی توان انبارمانی و همچنین آزمونی برای برآورد بنیه بذر غلات شناخته شده است. مکانیسم‌های دخیل در زوال بذر در شرایط مختلف متفاوت است و سهم پراکسیداسیون لیپیدها، هیدرولیز قندها و واکنش‌های میلارد در زوال بذر بستگی زیادی به محتوای آب بذر و دمای محیط نگهداری بذر دارد (Kibinza *et al.*, 2006; Walters, 1998). پیری بذر می‌تواند سبب کاهش قابلیت حیات و کاهش قدرت جوانه‌زنی بذر گردد (Eisvand *et al.*, 2010a, McDonald, 1999).

پرایمینگ بذر تکنیکی است که می‌تواند نرخ و درصد جوانه‌زنی را افزایش داده و حتی آن را تحت شرایط تنش مانند شوری، خشکی و تنش دمای بالا بهبود بخشد (Sedghi *et al.,* 2010). چندین روش مختلف برای پرایمینگ بذر وجود دارد که از آن جمله می‌توان به اسموپرایمینگ، هیدروپرایمینگ، ماتریک پرایمینگ، پرایمینگ هورمونی و بیو پرایمینگ اشاره کرد (Eisvand *et al.,* 2010b). در پرایمینگ اجازه داده می‌شود که بذرها مقداری آب جذب کنند به گونه‌ای که مراحل اولیه جوانه‌زنی انجام شود به بیان دیگر بذرها تا مرحله دوم جوانه‌زنی (فعالیت آنزیم‌ها) پیش می‌روند اما وارد مرحله سوم یعنی ظهور ریشه‌چه نمی‌شوند. بعد از تیمار پرایمینگ بذرها خشک و همانند بذرهای تیمارنشده ذخیره و کشت می‌شوند (McDonald, 1999). پرایمینگ بذر عمدتاً از طریق تأثیر بر متابولیسم، بیوشیمی و فعالیت‌های آنزیمی بذر می‌تواند سبب کارایی بهتر فرایندهای بیولوژیک بذر نظیر جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه گردد (Demir and Mavi, 2004).

تنظیم کننده‌های رشد گیاهی اثرات واضح و مشخصی بر جوانه‌زنی و مقاومت بذرها در برابر شرایط نامساعد محیطی دارند. طی پرایمینگ بذر محتوای مواد محلول سازگار درون بذرها نظیر مالون‌دی‌آلدئید، پرولین و قندهای محلول و همچنین فعالیت آنزیم‌های محافظت-کننده نظیر سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز از مهم‌ترین شاخص‌هایی می‌باشند که تحت تاثیر قرار می-گیرند (Bohnert Shen, 1999). تا به حال اثرات تیمار پرایمینگ بر جوانه‌زنی و مقاومت به شرایط نامساعد نظیر تنش اکسیداتیو در بذرهای پنبه (Goel *et al*, 2003) و برنج (Sun *et al*., 2011) مطالعه شده است.

با توجه به اثرات مثبت تنظیم کننده‌های رشد گیاهی از جمله اسی آسکوربیک واسیدسالیسیلیک روی صفات مختلف، این پژوهش با هدف یافتن تأثیر مواد تنظیم‌کننده رشد بر ویژگی‌های جوانه‌زنی و فیزیولوژیک بذر و یافتن بهترین غلظت از این ترکیبات جهت جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های گندم صورت گرفت. همچنین با توجه به اهمیت نقش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و اسمولیت‌های سازگار (پروتئین محلول، قند محلول و پرولین) در محافظت از سلول‌های گیاهی در مقابل تنش اکسیداتیو ناشی از شرایط پیری تسریع‌شده، نحوه فعالیت گروهی از این آنزیم‌ها و ترکیبات اسمزی در مراحل جوانه‌زنی و رشد گیاهچه گندم بررسی می‌گردد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر زوال بذر و پیش‌تیمار بذر با اسیدسالیسیلیک و اسیدآسکوربیک بر شاخص‌های جوانه-زنی و صفات فیزیولوژیک گیاهچه گندم رقم پیشتاز آزمایشی به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملا تصادفی و با سه تکرار در آزمایشگاه بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان اجرا شد. بذرهای گواهی‌شده گندم نان رقم پیشتاز از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمانشاه تهیه شدند. رقم پیشتاز که متحمل به خشکی، نسبتا دیررس، تا حدودی حساس به خوابیدگی بوته و عملکرد بالا می‌باشد. گندم پیشتاز ار تلاقی یک لاین پیشرفته که بعدها الوند نام گرفت با یک لاین مقاوم به زنگ زرد (aldan/las58) با منشاء کشور برزیل در سال ۱۳۶۷ به‌دست آمد. این رقم به‌علت مقاومت به بیماری‌ها و کیفیت نانوائی مطلوب، در سال ۱۳۸۱ نامگذاری و معرفی شده است. فاکتورهای مورد مطالعه شامل پیری بذر (پیری تسریع‌شده و پیرنشده) و پرایمینگ بذر با تنظیم‌کننده رشد گیاهی اسیدسالیسیلیک و اسیدآسکوربیک در سه سطح ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ قسمت در میلیون و هیدروپرایمینگ بود. بذرهای گندم رقم پیشتاز با هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت ۵ دقیقه ضدعفونی شده و سپس به‌مدت ۳۰ ثانیه در الکل ۹۶ درصد قرار داده شدند. برای انجام پیری تسریع‌شده، مقدار ۲۰ گرم بذر در دمای ۱± ۴۰ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۱۰۰ درصد قرار گرفت (Eisvand *et al.,* 2010a).

برای پیش‌تیمار بذرها، ۲۵ گرم از آن‌ها در محلول-هایی با سه غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ قسمت در میلیون (ppm) از اسیدآسکوربیک ($C_6H_8O_6$, Merck) و اسیدسالیسیلیک ($C_7H_6O_3$, Merck) در دمای ۲۱ درجه سلسیوس و به‌مدت ۱۴ ساعت قرار داده شد (Khan *et al.,* 2010). از هیدروپرایمینگ و تیمار بدون پرایمینگ نیز به‌عنوان شاهد استفاده شد. برای اعمال تیمار هیدروپرایمینگ حدود ۵ گرم بذر به مدت ۱۲ ساعت در ظروف حاوی ۵۰۰ سانتی‌متر مکعب آب مقطر قرار گرفت (Artola *et al.,* 2003). بعد از خشک شدن بذرهای

تیمارشده و بذر شاهد، تعداد ۵۰ بذر از هر تیمار به پتری-هایی با قطر ۹ سانی‌متر بر روی کاغذ صافی منتقل شدند. آزمون جوانه‌زنی با سه تکرار و در دمای ۱ ± ۲۰ درجه سلسیوس در ژرمیناتور به‌مدت هفت روز انجام شد (Eisvand *et al.,* 2010a). بذرها به‌صورت روزانه شمارش و تعداد بذرهای جوانه‌زده ثبت و در پایان روز آخر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، شاخص طولی بنیه گیاهچه، ضریب سرعت جوانه‌زنی و شاخص جوانه‌زنی و متوسط زمان جوانه‌زنی محاسبه شدند.

ظهور ریشه‌چه به طول دو میلی‌متر به‌عنوان معیار جوانه‌زنی بذر در نظر گرفته شد. پس از اتمام اجرای آزمون جوانه‌زنی، شاخص‌های جوانه‌زنی شامل درصد جوانه‌زنی (رابطه ۱)، سرعت جوانه‌زنی (رابطه ۲)، میانگین زمان جوانه‌زنی (رابطه ۳)، شاخص طولی بنیه گیاهچه (رابطه ۴)، شاخص جوانه‌زنی (رابطه ۵) و ضریب سرعت جوانه‌زنی (رابطه ۶) محاسبه شدند (Ikic *et al*., 2012; Agrawal, 2004; Ellis and Robert., 1981; Abdul-baki and Anderson, 1973; Espanany *et al*., 2015)

$G=Gi/N$ (رابطه ۱)

که در این رابطه G درصد جوانه‌زنی، Gi تعداد کل بذرهای جوانه‌زده پس از ۷ روز و N تعداد کل بذرها می-باشند.

$GR = \Sigma Ni/Ti$ (رابطه ۲)

که در این رابطه GR سرعت جوانه‌زنی بر حسب تعداد بذر جوانه‌زده در روز، Ni تعداد بذور جوانه‌زده در روزiام و Ti تعداد روز تا شمارش iام می‌باشند.

$MG= \Sigma niti/\Sigma ni$ (رابطه ۳)

که در این رابطه MG میانگین جوانه‌زنی، t تعداد روز پس از کشت و ni تعداد بذور جوانه‌زده در روز iام می‌باشند.

$SVLI=G*L$ (رابطه ۴)

SVLI -شاخص طولی بنیه گیاهچه

G- درصد جوانه‌زنی

L- طول گیاهچه (mm)

Ni/Ti=شاخص جوانه‌زنی (رابطه ۵)

Ni= تعداد کل بذرهای جوانه‌زده

Ti= شماره روز

$\Sigma n/\Sigma(t*n)*100$= ضریب سرعت جوانه‌زنی (رابطه ۶)

n= تعداد بذور جوانه‌زده در روز

t= زمان

به‌منظور آزمون نفوذپذیری غشاء تعداد ۵۰ بذر از هر نمونه در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر غوطه‌ور شده و به‌مدت ۲۴ ساعت در ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند. نهایتاً هدایت الکتریکی محلول محتوی بذر با استفاده از هدایت‌سنج الکتریکی مدل NPC 360 D بر اساس dSm^{-1} $seed^{-1}$ ثبت گردید (Geol *et al*., 2003).

به‌منظور تعیین میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کلیه نمونه‌های برداشت‌شده از گیاهچه در تیمارهای مختلف در نیتروژن مایع منجمد شده و تا زمان اندازه‌گیری در دمای ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز از روش اسپکتروفتومتری (UV/VIS2100, Unico) و به‌ترتیب با روش‌های دهیندزا و همکاران (Dhindsa *et al*., 1981)، چنس و مهلی (Chance and Maehly, 1955) و لاسپینا و همکاران (Laspina *et al*., 2005) استفاده شد.

تعیین میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء به روش پیشنهاد شده توسط دی وس و همکاران (De Vos *et al*., 1991) و از طریق اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان فرآورده نهایی پراکسیداسیون لیپیدی انجام گرفت. نمونه‌های گیاهچه‌ای که قبلا نمونه‌برداری و منجمد شده بودند به مقدار ۰/۳ گرم در ۳ میلی‌لیتر اسیدتری‌کلرواستیک ۱۰ درصد عصاره‌گیری شدند. سپس به یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون صاف‌شده مربوط به هر کدام از نمونه‌ها، یک میلی‌لیتر تیوباربی توریک اسید[1] ۰/۵ درصد افزوده شد و در حمام آب گرم ۱۰۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه لوله از حمام خارج و پس از سردشدن، میزان مالون‌دی‌آلدئید با اندازه‌گیری میزان جذب توسط اسپکتروفتومتر در طول موج های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر محاسبه شد.

جهت استخراج و اندازه‌گیری پروتئین محلول، یک گرم بافت گیاهچه در حضور بافر استخراج (تریس اسیدکلریدریک pH=7.5) همگن شد. به‌منظور عصاره-گیری، مخلوط حاصل به لوله‌های سانتریفیوژ انتقال داده شد و در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سلسیوس

[1]Thiobarbituric acid

به‌مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. در ادامه غلظت پروتئین‌های محلول طبق روش برادفورد اندازه‌گیری شد. جهت رسم منحنی استاندارد از غلظت‌های مختلف پروتئین آلبومین سرم گاوی (BSA) استفاده گردید (Bradford, 1976).

برای سنجش میزان قندهای محلول بر روی ۰/۱ گرم از بافت گیاهچه به‌طور جداگانه ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد اضافه و به‌مدت یک هفته در یخچال نگهداری شدند، پس از آن از محلول رویی نمونه‌ها برای برگ ۰/۵ میلی‌لیتر برداشته شده و حجم آن به ۲ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس ۱ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد و ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ به آن اضافه گردید. شدت رنگ زرد به دست آمده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۸۵ نانومتر خوانده شده و مقادیر قند نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد بر اساس میلی‌گرم بر گرم وزن خشک ارزیابی شد (Dubois *et al*., 1956).

برای اندازه‌گیری غلظت پرولین از روش بیتز و همکاران (Bates *et al.,* 1973) استفاده شد. بر اساس این روش ۰/۵ گرم از بافت گیاهچه مربوط به هر نمونه در۱۰ میلی لیتر محلول آبی اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد قرار داده شده و مخلوط حاصل در حاون چینی کاملا هموژنیزه گردید. در مرحله بعد ۲ میلی‌لیتر از این محلول را با ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین مخلوط نموده و ۲ میلی‌لیتر اسیداستیک به هر لوله اضافه شد. سپس نمونه‌ها به مدت یک ساعت در حمام بن ماری در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار گرفته و بلافاصله پس از خارج-کردن از حمام به‌مدت چند دقیقه درحمام یخ قرار داده شدند. بعد از این مرحله به هر لوله آزمایش ۴ میلی‌لیتر تولوئن افزوده شد. سپس لوله‌ها برای مدتی در محیط آزمایشگاه قرار داده شدند. در این مدت در داخل لوله آزمایش ۲ فاز کاملا مجزا قابل تشخیص شد که از فاز رویی برای تعیین غلظت پرولین (با توجه به منحنی استاندارد پرولین) در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر استفاده شد.

محاسبات آماری داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 انجام شد و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد. میانگین‌ها نیز با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

شاخص‌های جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که درصد جوانه‌زنی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر زوال بذر قرار گرفت. همچنین در این جدول نشان داده شده است که پرایمینگ بذر نیز تأثیر معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی داشته است.

بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی به‌ترتیب در تیمارهای آسکوربیک‌اسید ۱۰۰ و سالیسیلیک‌اسید ۱۰۰ مشاهده شد. در شرایط نرمال و زوال کاربرد سالیسیلیک اسید ۵۰ کم‌ترین اثر را بر درصد جوانه‌زنی دارا بود (جدول ۲). اثر سطوح مختلف هورمون‌ها و تیمار پیری بر سرعت جوانه-زنی معنی‌دار بود. اثر متقابل زوال، نوع و سطح هورمون بر سرعت جوانه‌زنی نیز معنی‌دار بود (جدول ۱). بیش‌ترین میزان سرعت جوانه‌زنی در شرایط نرمال و زوال به‌ترتیب در تیمارهای سالیسیلیک‌اسید ۱۰۰ و آسکوربیک‌اسید ۱۰۰ مشاهده شد. در شرایط زوال کاربرد سالیسیلک‌اسید ۵۰ کم‌ترین اثر را بر سرعت جوانه‌زنی بذور دارا بود (جدول ۲). اعمال تیمار پیری تسریع‌شده شاخص طولی بنیه گیاهچه را به‌شکل معنی‌داری کاهش داد (جدول ۱). اما پرایمینگ سبب بهبود این شاخص شد. بیش‌ترین میزان شاخص طولی بنیه گیاهچه در بذرهای پیرشده و پیرنشده به‌ترتیب در هیدروپرایمینگ و سالیسیلیک‌اسید ۱۰۰ مشاهده شد (جدول ۲). زوال بذر باعث کاهش میانگین زمان جوانه‌زنی شد (جدول ۲). پرایمینگ هورمونی بر میانگین زمان جوانه‌زنی اثر معنی‌داری داشت. نوع هورمون و سطح کاربرد آن نیز بر میانگین زمان جوانه‌زنی اثر گذار بود (جدول ۱). بیش‌ترین میزان میانگین زمان جوانه‌زنی در شرایط نرمال در تیمار بدون پرایمینگ در شرایط زوال در تیمار سالیسیلیک‌اسید ۵۰ به‌دست آمد (جدول ۲).

تیمار پیری شاخص جوانه‌زنی را به میزان قابل توجهی کاهش داد. کاربرد اسیدسالیسیلیک ۱۰۰ و هیدروپرایمینگ به‌ترتیب در شرایط نرمال و پیری مناسب‌ترین اثر را بر بهبود ضریب جوانه‌زنی بذرهای گندم دارا بودند. تیمار پیری و تنظیم‌کننده رشد ضریب سرعت جوانه‌زنی را تحت تاثیر قرار دادند (جدول ۲). اثر تیمارهای مختلف بر ضریب سرعت جوانه‌زنی در

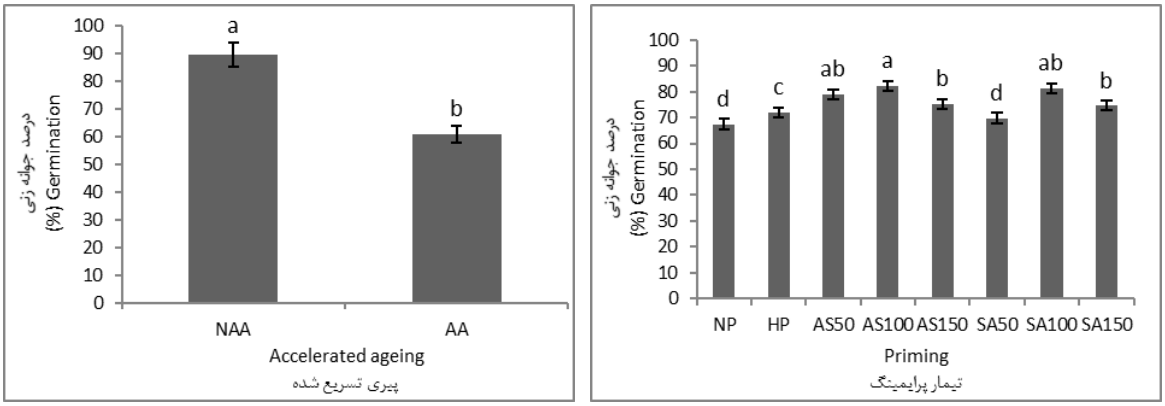
جدول ۱- تجزیه واریانس اثر پیری تسریع‌شده و پرایمینگ بر شاخص‌های جوانه‌زنی و هدایت الکتریکی در بذر گندم

Table 1. Analysis of variance for effects of accelerated ageing and priming on germination indices and electrical conductivity in wheat seeds

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination Percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination Rate	میانگین زمان جوانه‌زنی Mean Time Germination	شاخص طولی بنیه گیاهچه Seedling vigour index	شاخص جوانه‌زنی Germination Index	ضریب سرعت جوانه‌زنی Coefficient of germination rate	هدایت الکتریکی Electrical Conductivity
پیری تسریع‌شده Accelerated ageing(AA)	1	9964.23**	381.94**	3.167**	10377238.59**	1827.80**	0.3366**	0.191**
پرایمینگ(P) Priming	7	168.75**	11.99**	0.085**	326569.38**	55.22**	0.0058**	0.017**
P×AA	7	26.52^{ns}	4.46**	0.018**	170580.31*	24.13**	0.0025**	0.004*
خطا Error	32	12.62	1.00	0.005	67080.51	4.30	0.0005	0.002
ضریب تغییرات C.V %		4.73	12.92	2.71	15.57	10.42	7.56	8.51

ns غیر معنی‌دار، * معنی‌دار در سطح ۵ درصد و ** معنی‌دار در سطح ۱ درصد

ns, * and **: Non significant, significant at the 5 and 1% levels of probability respectively



شکل ۱- تاثیر تیمارهای مختلف پرایمینگ بر درصد جوانه‌زنی بذر های گندم در شرایط زوال بذر (تفاوت بین اعداد مربوط به ستون‌ها که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند معنی‌دار می باشد) ($p<0.05$)

(بدون پرایمینگ= NP، هیدروپرایمینگ= HP، اسیدآسکوربیک (50, 100 and 150 ppm)= AS، اسیدسالیسیلیک (50,100 and 150 ppm)= SA).

Figure 1. Effect of different priming treatments on germination percentage of accelerated aged wheat seeds (the difference between the numbers of columns that are shown with different letters are meaningful) (p<0.05)

(NP= no priming, HP= Hydropriming, AS= ascorbic acid (50, 100 and 150 pmm), SA= salicylic acid (50, 100 and150 ppm)

جدول ۲ نشان داده شده است. تیمار اسیدسالیسیلیک ۱۰۰ در شرایط نرمال بیش‌ترین ضریب سرعت جوانه‌زنی را نشان داد که اختلاف معنی‌داری با تیمار اسیدآسکوربیک ۱۰۰ نداشت. در شرایط پیری تسریع‌شده نیز تیمار هیدروپرایمینگ بیش‌ترین مقدار این شاخص را دارا بود. در مطالعات قبلی عیسوند و همکاران (2010a) گزارش کردند که پرایمینگ هورمونی بذرهای علف گندمی می‌تواند منجربه بهبود جوانه‌زنی بذر و و متعاقبا استقرار بهتر گیاهچه در شرایط زوال بذر گردد. نتایج ما این اطلاعات را تایید کرد (شکل ۱).

افزایش قدرت جوانه‌زنی و استقرار بهتر گیاهچه از جمله عواملی هستند که باعث افزایش محصول می‌شوند بنابراین شناخت اثر مواد شیمیایی بر جوانه‌زنی گیاهان از اهمیت خاصی برخوردار است. در پژوهش حاضر کاربرد اسیدسالیسیلیک و اسیدآسکوربیک تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر افزایش جوانه‌زنی گندم داشت.

نتایج تحقیقات به‌دست از آمده از تحقیقات سایر پژوهشگران نیز مبین نقش مثبت اسیدسالیسیلیک در بهبود جوانه‌زنی بود (Tasgin *et al*., 2003). همچنین اسیدسالیسیلیک باعث افزایش بعضی از هورمون‌های گیاهی شامل اکسین‌ها و سیتوکینین‌ها می‌شود که در تحریک جوانه‌زنی موثرند. اسیدآسکوربیک نیز با کاهش اثرات نامطلوب رادیکال‌های آزاد در بذر نقش موثری در بهبود جوانه‌زنی ایفا می کند (McDonald, 2004).

کاهش در سرعت جوانه‌زنی احتمالاً به‌دلیل وقفه‌ای است که در شروع فرآیند جوانه‌زنی در بذرهای پیرشده ایجاد می‌شود (Bailly *et al*., 2000). علت وقفه ایجاد شده احتمالاً این است که بذرها برای تعمیر خسارت‌های وارد شده به غشاء و دیگر قسمت‌های سلول همچنین آغاز مجدد فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانت و جلوگیری از بروز تنش اکسیداتیو نیاز به زمان دارد و ترمیم این خسارت‌ها فقط پس از جذب آب توسط بذر امکان پذیر است (Ansari and Sharif-Zadeh, 2012). کاهش شاخص بنیه گیاهچه ناشی از کاهش اجزاء آن، یعنی درصد جوانه‌زنی و طول گیاهچه است که هر دو در شرایط پیری بذر کاهش می‌یابند (Sung and Jeng, 1994). افزایش مدت زمان جوانه‌زنی در بذرهای فرسوده‌شده در تحقیقات دیگر نیز (Basra *et al*, 2003) گزارش شده است که نتیجه آن کاهش سرعت جوانه‌زنی (Bailly *et al*., 2000) است. افزایش متوسط زمان جوانه‌زنی احتمالا به دلیل وقفه‌ای است که در شروع جوانه‌زنی در بذرهای فرسوده‌شده ایجاد می‌شود. علت وقفه ایجادشده احتمالاً این است که بذر برای ترمیم خسارت‌های وارد شده به غشاء و دیگر قسمت‌های سلول و همچنین آغاز مجدد سیستم آنتی‌اکسیدانت و جلوگیری از بروز تنش اکسیداتیو نیاز به زمان دارد و ترمیم این خسارت‌ها فقط پس از پرایمینگ امکان‌پذیر است، بنابراین مدت زمان لازم برای تکمیل فرایند جوانه‌زنی در بذرهای فرسوده افزایش می‌یابد.

نتایج مطالعات دیگر نیز کاهش ضریب سرعت جوانه‌زنی در شرایط بروز تنش‌ها را تایید کرده است (Omidi *et al*., 2009 ; Jamaati-e-Somarin *et al*., 2010). پیری تسریع‌شده باعث کاهش قابلیت حیات و قدرت جوانه‌زنی در بادام زمینی (*Arachis hypogaea*) و سویا (*Glycine max*) شده است (Sung, 1996; Sung and Jeng, 1994) بذرهای پرایم‌شده و پرایم‌نشده که تحت تاثیر تیمار پیری تسریع‌شده قرا گرفتند در مقایسه با بذرهای پیرنشده درصد جوانه‌زنی کم‌تری داشتند. همچنین این بذرها در مقایسه با بذرهای پیرنشده شاخص‌های جوانه‌زنی پایین‌تری داشتند (جدول ۲).

تیمار پیری تسریع‌شده دارای اثر معنی‌دار بر هدایت الکتریکی بود. (جدول ۱). در شرایط نرمال بیش‌ترین میزان هدایت الکتریکی در تیمار بدون پرایمینگ و کم‌ترین هدایت الکتریکی در تیمار اسیدسالیسیلیک ۱۰۰ مشاهده شد (جدول ۲). به‌طورکلی در شرایط زوال هدایت الکتریکی افزایش یافت. بیش‌ترین هدایت الکتریکی در شرایط زوال بذر در تیمار بدون پرایمینگ و در کم‌ترین مقدار آن از تیمارهای اسیدآسکوربیک ۱۰۰ و اسیدسالیسیلیک ۱۰۰ به‌دست آمد (جدول ۲).

هدایت الکتریکی بذرهای گندم به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر اثر متقابل تیمار پرایمینگ و زوال بذر قرار گرفت. میزان خسارت به غشای سلولی از طریق اندازه‌گیری نشت الکترولیت‌ها از بذر مشخص می‌شود. میزان هدایت الکتریکی در بذرها یک شاخص مناسب برای اندازه‌گیری نشت یونی می‌باشد که پس از اعمال تیمار پیری تسریع‌شده افزایش می‌یابد (Geol *et al*., 2003). به‌طورکلی هدایت الکتریکی بذرهای گندم به‌شکل معنی‌داری پس از پیش‌تیمار با تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی کاهش یافت (جدول ۱). در شرایط زوال بذر در بذرهای پیش‌تیمار شده نیز شاهد افزایش هدایت الکتریکی در مقایسه با بذرهایی که زوال نیافته بودند، بودیم.

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز با اعمال پیری تسریع‌شده کاهش یافت (شکل ۱). به‌طور کلی با اعمال پرایمینگ هورمونی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت بهبود یافت. بیش‌ترین مقدار فعالیت کاتالاز در تیمار اسیدآسکوربیک ۱۰۰ در شرایط زوال بذر مشاهده شد. بیش‌ترین فعالیت این آنزیم در شرایط نرمال از تیمار اسیدسالیسیلیک ۱۰۰ گزارش شد (شکل ۲). فعالیت پراکسیداز تحت تاثیر تیمار پرایمینگ قرار گرفت (جدول ۳). تیمار اسیدآسکوربیک ۱۰۰ بیش‌ترین فعالیت پراکسیداز را در هر دو شرایط نرمال و زوال از خود نشان داد (شکل ۲). زوال بذر دارای اثر معنی‌داری بر فعالیت سوپراکسید دیسموتاز بود (جدول ۳). تیمار زوال سبب کاهش فعالیت این آنزیم شد. در شرایط زوال بیش‌ترین فعالیت آنزیم در تیمار اسیدآسکوربیک ۵۰ و در شرایط نرمال در تیمار اسیدآسکوربیک ۱۰۰ مشاهده شد (شکل ۲).

مطالعات زیادی نشان داده‌اند که زوال بذر ارتباط نزدیکی با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن دارد (Rajjou *et al*., 2008). به‌طور طبیعی بذرها توانایی ایجاد تعادل در تولید رادیکال‌های آزاد و از بین بردن آن‌ها طی فرآیند جوانه‌زنی را دارند. به‌منظور کنترل خسارت و

جدول ۲- مقایسه میانگین شاخص‌های جوانه‌زنی بذر و هدایت الکتریکی بذرهای گندم در شرایط نرمال و پیری تسریع‌شده
Table 2. Mean comparison of germination indices and electrical conductivity of wheat seeds under accelerated ageing and normal conditions

زوال Ageing	پرایمینگ Priming	شاخص طولی بنیه گیاهچه Seedling vigour index	میانگین زمان جوانه‌زنی Mean time germination	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	شاخص جوانه‌زنی Germination index	ضریب سرعت جوانه‌زنی Coefficient of germination rate	هدایت الکتریکی Electrical Conductivity
نرمال Normal	NP	1835.68± 33.55ef	2.56 ±0.02f	8.38 ±0.27f	18.90 ±0.10f	0.31± 0.00f	0.48± 0.01e
	HP	1894.08 ±121.97ef	2.46± 0.06g	9.80 ±0.95d	28.27 ±1.89c	0.41± 0.01c	0.41± 0.01g
	AS 50	2031.82 ±134.04d	2.41 ±0.06h	9.92± 0.56d	28.17± 0.30c	0.41± 0.00c	0.46± 0.02f
	AS 100	2415.37± 284.29b	2.20± 0.08j	13.21± 1.27b	30.70 ±1.61b	0.43± 0.01a	0.36± 0.05i
	AS 150	2295.46 ±180.14c	2.34 ±0.06i	11.09± 1.30c	26.73± 2.35d	0.40± 0.01d	0.41±0.03g
	SA 50	1786.50± 69.05f	2.48 ±0.02g	8.95± 0.08e	22.43± 1.28e	0.37± 0.01e	0.39± 0.00h
	SA 100	2838.36 ±328.35a	2.13 ±0.02k	14.38± 0.18a	31.83± 0.39a	0.44± 0.00a	0.32± 0.01j
	SA 150	1932.30 ±128.93de	2.46 ±0.01g	9.04± 0.02e	21.60± 0.60e	0.36 ±0.01e	0.40± 0.01h
پیری تسریع‌شده Accelerated ageing	NP	1166.59 ±58.32hi	3.00± 0.02a	4.02± 0.02j	13.63± 2.16ij	0.22± 0.04j	0.65± 0.00a
	HP	1470.20± 80.57g	2.97± 0.01b	4.29 ±0.23ij	17.10 0.70g	0.27± 0.01g	0.54 ±0.01c
	AS 50	1115.87± 76.71ij	2.75 ±0.05e	6.11± 0.54g	15.40± 0.91h	0.24± 0.01h	0.49± 0.02e
	AS 100	1189.46 ±44.87hi	2.73 ±0.03e	6.35 ±0.22g	15.47 0.80h	0.25 0.01h	0.46 0.01f
	AS 150	1021.66± 66.15jk	2.96± 0.04b	4.31± 0.29ij	11.30± 0.70k	0.19± 0.01k	0.550.02c
	SA 50	949.09± 90.48k	3.02 ±0.03a	4.30 ±0.28ij	10.23± 0.55l	0.17± 0.01l	0.59 0.02b
	SA 100	1452.52± 83.12g	2.82 ±0.01d	5.54±0.25h	13.97± 0.09i	0.23± 0.00i	0.46±0.02f
	SA 150	1224.76± 209.08h	2.90± 0.04c	4.71± 0.35i	12.80± 1.25j	0.21 ±0.01j	0.50 ±0.05d

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح آماری ۵ درصد می باشند. (بدون پرایمینگ= NP، هیدروپرایمینگ= HP، اسیدآسکوربیک (50, 100 and 150 ppm)= AS، اسیدسالیسیلیک (50,100 and 150 ppm)= SA).

Means with the same letter in each column have no significant difference (P<0.05).(NP= no priming, HP= Hydropriming, AS= ascorbic acid (50, 100 and 150 pmm), SA= salicylic acid (50, 100 and 150 ppm).

محافظت از ماکرومولکول‌ها در این شرایط گیاهان سیستم‌های هضم کننده رادیکال‌های اکسیژن را فعال می‌کنند که می‌تواند شامل آنزیم‌های آنتی اکسیدانت و آنتی‌اکسیدانت‌های غیر آنزیمی باشد (Sharma *et al*, 2012). همبستگی زیادی بین قابلیت حیات بذر و سطح فعالیت سیستم‌های آنتی اکسیدانت وجود دارد (Mittal *et al*., 2012; Yin *et al*., 2014).

یافته‌های ما همچنین نشان داد در بذرهای گندم فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز با اعمال تیمار پرایمینگ افزایش یافت (شکل ۲). بنابراین پرایمینگ می‌تواند کارایی بذر را بهبود بخشد و باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدها در فرآیند جوانه‌زنی گردد. پیش تیمار بذرهای گندم با تنظیم کننده‌های رشد مختلف شاخص‌های جوانه‌زنی را نیز بهبود بخشید (جدول ۲). واکنش‌های مشابهی در بذرهای کوکومبر (*Cucumis sativus*) مشاهده گردید (Jennings and Saltveit, 1994). آنزیم‌ها نقش مهمی در پیشرفت پیری بذر و تغییرات در فعالیت آن‌ها می‌تواند منجر به کاهش کیفیتبذر گردد (Copeland and McDonald, 1995).

ارتباط میان پیری بذر و آنزیم‌های درگیر در پراکسیداسیون لیپیدها، از بین بردن رادیکال‌های آزاد و مکانیسم‌های تنفسی بذر همچنین مورد مطالعه قرار گرفته شده است (Shen and Odén, 1999) .

بر طبق نتایج و مشاهدات اسیدآسکوربیک به‌عنوان یک آنتی اکسیدانت مؤثر عمل می‌کند. اسیدآسکوربیک به‌دلیل حذف رادیکال‌های آزاد حاصل از تنش‌ها، به‌خصوص اکسیژن رادیکالی، و نقش آن در تحریک و انبساط سلولی و جذب مواد به درون سلول، می‌تواند از خطر اکسیده شدن گیاهان در برابر تنش‌های محیطی جلوگیری کند. اسیدسالیسیلیک موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت نظیر پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز می‌گردد. وقتی که این هورمون به‌صورت خارجی استفاده شد سبب بهبود مقاومت به تنش در گوجه فرنگی شد (Szepesi *et al.,* 2008).

تنش اکسیداتیو حاصل افزایش سطح رادیکال‌های آزاد اکسیژن درون سلولی است. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت ممکن است راهی برای تحمل گیاه به تنش‌های محیطی باشد (Janda *et al*., 1999). اثر

پیش‌تیمارهای مختلف بذر بر افزایش فعالیت آنزیم‌ها در پژوهش دیگری نیز گزارش شده است (Bailly, 2004). دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت تحت شرایط تنش اکسیداتیو در اثر پرایمینگ، می‌تواند در اثر ساخت DNA در جنین در مدت پرایمینگ و در غیب سلول‌های تقسیم‌شونده و به‌دنبال آن افزایش سرعت سنتز DNA در بافت جنین باشد. افزایش در سنتز پروتئین و DNA در بذرهای پرایم‌شده گزارش شده است (Bray *et al*., 1989). برخی از تحقیقات پیشین از تاثیر مثبت پرایمینگ بر جوانه‌زنی بذر گیاهان از مسیرهای مختلفی نظیر افزایش فعالیت آنزیم‌های پاکسازی‌کننده گونه‌های فعال اکسیژن و فعال‌سازی ATPase، اسید فسفاتاز و RNA سینتتاز می باشد (Jie *et al*., 2002).

تغییرات پراکسیداسیون لیپیدها در تیمارهای مختلف پرایمینگ در شکل ۳ ارائه شده است. نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که زوال بذر بر محتوای مالون‌دی‌آلدئید معنی‌دار بود (جدول ۳). محتوای مالون‌دی‌آلدئید در شرایط زوال نسبت به تیمار شاهد بیش‌تر بود (شکل ۳). بیش‌ترین میزان محتوای مالون‌دی‌آلدئید در شرایط نرمال و زوال از تیمار بدون پرایمینگ گزارش شد و کم‌ترین میزان محتوای مالون‌دی‌آلدئید نیز در شرایط نرمال و زوال به‌ترتیب در تیمارهای اسیدسالیسیلیک ۱۰۰ و اسیدآسکوربیک ۱۰۰ به‌دست آمد (شکل ۳).

در این پژوهش اسیدسالیسیلیک باعث کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدهید شد که احتمالا به‌علت کاهش اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد و حفاظت از غشا توسط آن می‌باشد که بدین وسیله از صدمه اسیدهای چرب غیر اشباع و کاهش نفوذپذیری غشا جلوگیری می‌کنند. نتایج حکایت از آن داشت که پرایمینگ با اسیدسالیسیلیک و اسیدآسکوربیک باعث کاهش یا به تعویق افتادن خسارات اکسیداتیو ناشی از تیمار زوال می‌شود. و در نتیجه سطح تولید مالون‌دی‌آلدئید را کاهش می‌دهد. کاربرد اسیدسالیسیلیک در گیاهان باعث کاهش تولید گونه‌های آزاد اکسیژن (ROS) می‌گردد که به دنبال آن مقاومت در گیاه ایجاد می‌شود. همچنین اسیدسالیسیلیک باعث افزایش بعضی از هورمون‌های گیاهی شامل اکسین‌ها و سیتوکینین‌ها (Shakirova *et al*., 2003) و کاهش نشت یونی از سلول‌های گیاهی می‌گردد (Ghoulam *et al*., 2001)

مطالعات دیگری نشان می‌دهد اسیدسالیسیلیک خارجی می‌تواند فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت را تنظیم کند و مقاومت گیاه به تنش‌های غیرزنده را افزایش دهد (He *et al*., 2002). اسیدسالیسیلیک با کاهش پراکسیداسیون لیپیدها از طریق اثر بر مکانیسم‌های آنزیمی و غیرآنزیمی، گیاه گندم را در مقابل تنش‌های اکسیداتیو محافظت می‌کنند. اسیدسالیسیلیک با اثر بر H_2O_2 توان اکسیداتیو را کاهش می‌دهد (Davis, 2005) و همچنین بر روی ACC سینتتاز و ACC اکسیداز نیز موثر می‌باشد (Zhu, 2001). یکی از دلایل بهبود صفات فیزیولوژیک توسط ویتامین اسیدآسکوربیک وجود خاصیت آنتی‌اکسیدانت آن و محدودکردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن باشد. توانایی آسکوربات در کم‌کردن یا اهدای الکترون برای تولید MDHA اساس مزیت بیولوژیک استعداد آنتی‌اکسیدانت آن می‌باشد (Buettner and Schafer, 2004). محتوای مالون‌دی‌آلدئید با افزایش زمان پیری افزایش یافت. مالون‌دی‌آلدئید یک شاخص مهم جهت نشان‌دادن خسارت به غشای سلولی است. بنابراین می‌توان گفت سطح مالون‌دی‌آلدئید نشان‌دهنده درجه خسارت است. لیپید پراکسیداسیون اولین نشانه خسارت اکسیداتیو است. این پدیده موجب می‌شود سیالیت غشا کاهش یابد، نشت از سلول و غشا بیش‌تر گردد و به پروتئین‌های غشا، آنزیم‌ها و کانال‌های یونی آسیب وارد شود. هدایت الکتریکی بذرها به‌طور قابل ملاحظه‌ای در اثر پیری افزایش یافت. در این پژوهش کاهش درصد جوانه‌زنی همبستگی زیادی با افزایش هدایت الکتریکی بذرها داشت. افزایش هدایت الکتریکی بذرها می تواند نشانه‌ای از ناتوانی سلول‌ها در انسجام غشای سلولی باشد که نهایتاً منجر به کاهش قدرت و درصد جوانه‌زنی می گردد (Chang and Sung, 1998). پژوهش‌های زیادی نشان دادند که بذرهایی که در معرض پیری تسریع‌شده قرارگرفتند با افزایش پراکسیداسیون لیپیدها مواجه می‌شوند (Bailly *et al*., 1998; McDonald, 1999). پراکسیداسیون لیپیدها با آزادشدن رادیکال‌های آزاد اکسیژن آغاز می‌شود. در حضور اکسیژن رادیکال‌های آزاد تولیدشده اتواکسیداسیون لیپیدها در بذر را انجام می‌دهند. این ترکیبات زیان‌آور همچنین فرایند متابولیسم اکسیداتیو میتوکندری در بذرهایی که فعالیت متابولیکی

دارند تولید می‌شوند (Leprience *et al*., 1994). تولید رادیکال‌های آزاد باعث خسارت به محتوای سلولی مانند غشاهای لیپیدی پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها در طی حالت سکون و جوانه‌زنی بذر می‌شوند (McDonald, 1999).

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر پیری تسریع‌شده بر صفات بیوشیمیایی گیاهچه‌های گندم

Table 3. Analysis of variance for accelerated ageing on biochemical traits of wheat seedlings

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	فعالیت کاتالاز Catalase	فعالیت پراکسیداز Peroxidase	فعالیت سوپراکسید دیسموتاز Super oxide dismutase	محتوای مالون دی آلدهید Malondialdehyde	محتوای پروتئین محلول Soluble protein	محتوای قند محلول Soluble sugar	محتوای پرولین Proline content
پیری تسریع‌شده Accelerated ageing(AA)	1	290.56**	402.52**	1086.80**	55.69**	323.44**	84.54**	54465.95**
پرایمینگ Priming (P)	7	51.56**	19.68*	73.16**	4.74**	4.97**	3.02**	995.50**
AA×P	7	8.03*	7.58ns	39.56**	0.62ns	1.16*	0.44ns	230.00ns
خطا Error	32	3.09	6.99	10.83	0.28	0.39	0.24	167.48
ضریب تغییرات CV%		5.09	12.46	5.67	5.88	6.05	6.70	7.54

ns غیر معنی‌دار، * معنی‌دار در سطح ۵ درصد و ** معنی دار در سطح ۱ درصد

ns, * and **: Non significant, significant at the 5 and 1% levels of probability respectively

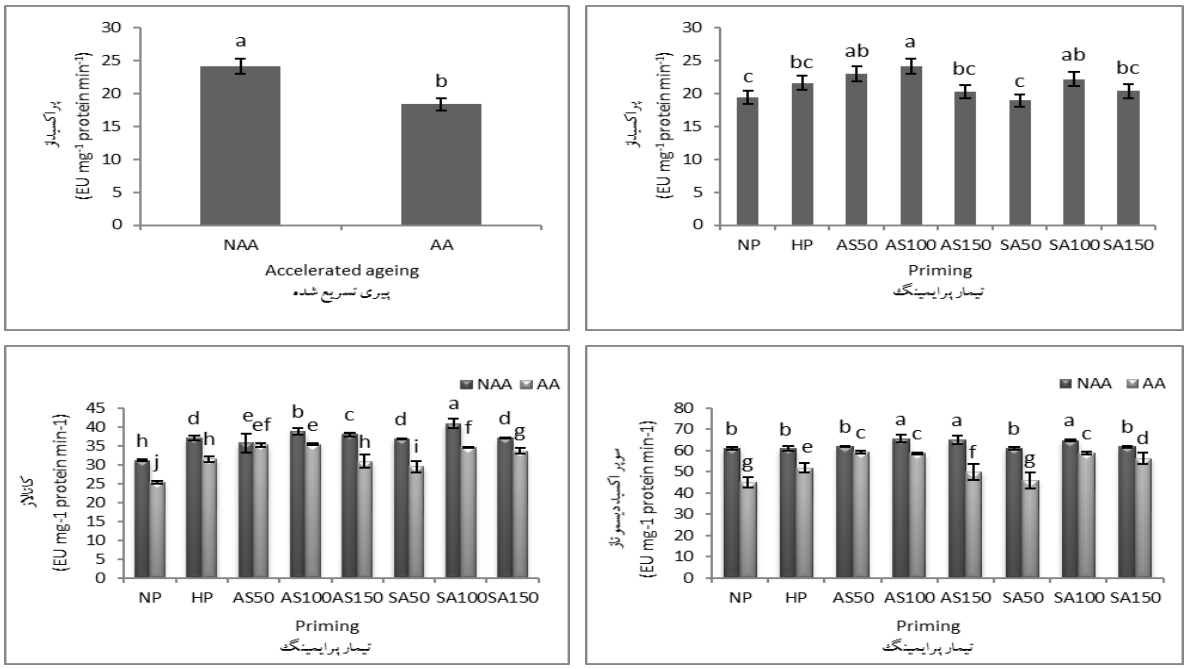
محتوای پروتئین محلول به‌شکل معنی‌داری تحت تاثیر تیمار زوال و پرایمینگ و اثرات متقابل آن‌ها قرار گرفت (جدول ۳). زوال بذر باعث کاهش در محتوای پروتئین محلول گیاهچه‌های گندم گردید. بیش‌ترین میزان محتوای پروتئین محلول در شرایط نرمال و زوال در تیمار اسیدآسکوربیک ۱۰۰ مشاهده شد. در این مطالعه ما دریافتیم که پیری تسریع‌شده منجر به کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت در بذرها می‌گردد. زوال بذر کاهش فعالیت آنزیمی را القا می‌کند و همزمان با آن مقادیر پروتئین محلول را کاهش می‌دهد (شکل ۳). مطابق با پژوهش‌های پیشین اضمحلال پروتئین‌ها می‌تواند به‌دلیل افزایش فعالیت پروتئاز و یا دیگر آنزیم‌های کاتابولیک باشد که در شرایط تنش فعال می‌شوند و یا به دلیل تکه تکه‌شدن پروتئین‌ها به دلیل اثرات سمی رادیکال‌های آزاد اکسیژن باشد که نهایتاً منجر به کاهش محتوای پروتئین می‌شود (Davies, 1987). کاهش غلظت پروتئین یک شاخص و نشانه معمول در استرس‌های اکسیداتیو است که در تحقیقات پیشین ثابت شده است (Moran *et al*., 1994; Seel *et al*., 1992). محتوای پروتئین محلول یکی از مهم‌ترین شاخص‌های خسارت به پروتئین‌ها در متابولیسم گیاهان، دناتوره‌شدن پروتئین‌ها و سایر فرآیندهای متابولیکی در گیاهان است (Shao *et al*., 2008).

این احتمال وجود دارد که پیری تسریع شده از سنتز پروتئین‌ها جلوگیری می‌کند. با این حال وقتی که تیمار پیری اجرا شد به‌دلیل شوک حرارتی مناطق آبگریز پروتئین‌ها می‌توانند فرایندهای تاخوردگی مجدد سطح پروتئین‌های دناتوره شده را تسهیل کنند. به‌علاوه خسارت به سیستم آنزیمی پروتئولیتیک منجر به افزایش محتوای پروتئین محلول در بذرهای گندم می‌گردد. سرانجام می‌توان گفت که سیستم غشایی بذر به‌شدت آسیب دیده و تراوشات جریان تنظیم اسمزی محلول‌ها در بذر افزایش یافته که نهایتاً باعث کاهش محتوای پروتئین محلول می‌شود.

محتوای قندهای محلول نیز به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر زوال بذر و اثرات متقابل آن با پیش‌تیمار هورمونی قرار گرفت (جدول ۳). محتوای قندهای محلول با اعمال تیمار زوال بذر در بذرهای پرایم‌شده و نشده افزایش یافت.

بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار قندهای محلول از تیمارهای اسید سالیسیلیک ۵۰ در شرایط زوال و بدون پرایمینگ در شرایط نرمال گزارش شد. بذرهای پرایم‌شده در مقایسه با بذرهای پرایم‌نشده محتوای قندهای محلول بیش‌تری را دارا بودند (شکل ۳).

مهم‌ترین عامل افزایش قندهای محلول می‌تواند تخریب کربوهیدرات‌های نامحلول توسط آبسیزیک اسید

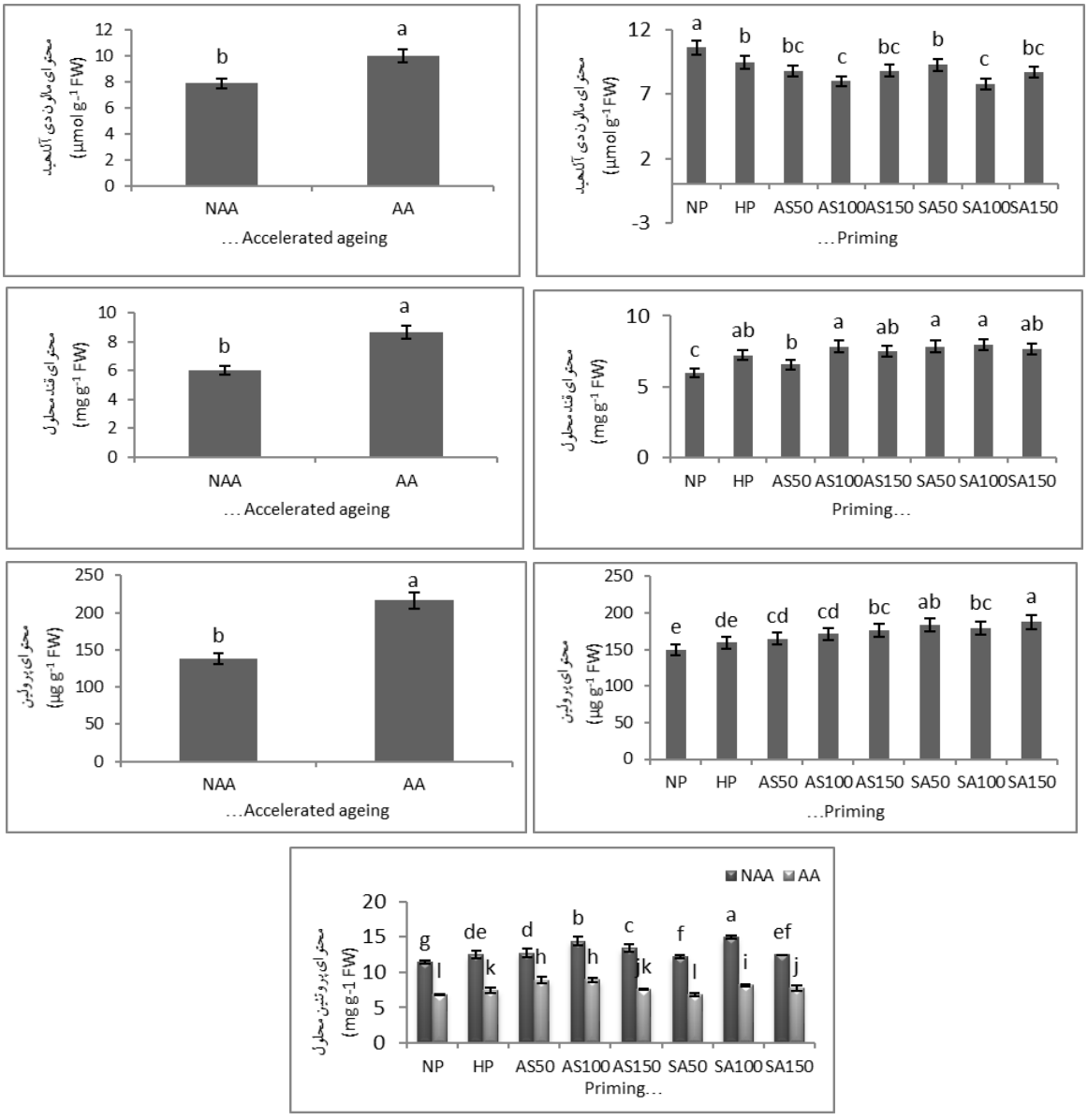


شکل ۲- تاثیر تیمارهای مختلف پرایمینگ بر فعالیت کاتالاز، پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز در گیاهچه های گندم در شرایط زوال بذر (تفاوت بین اعداد مربوط به ستون‌ها که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند معنی‌دار می باشد) ($p<0.05$)
(بدون پرایمینگ= NP، هیدروپرایمینگ= HP، اسیدآسکوربیک (AS =(50, 100 and 150 ppm، اسیدسالیسیلیک (SA =(50,100 and 150 ppm)

Figure 2. Effects of different priming treatments on peroxidase, catalase and superoxide dismutase activity in wheat seedlings in accelerated ageing condition (the difference between the numbers of columns that are shown with different letters are meaningful) ($p<0.05$)
(NP= no priming, HP= Hydropriming, AS= ascorbic acid (50, 100 and 150 pmm), SA= salicylic acid (50, 100 and 150 ppm)

باشد که نهایتاً منجر به افزایش قندهای محلول می‌شود. کاهش تجمع ساکاروز در گیاهچه‌های حاصل از بذور زوال‌یافته به دلیل کاهش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده نشاسته می‌باشد که موجب کاهش متابولیسم نشاسته در لپه‌ها و انتقال ساکارز از لپه‌ها به محور جنین می‌شود. افزایش مقدار قندهای محلول بر اثر شرایط تنش‌زا در سویا و سورگوم نیز گزارش شده است (Newton *et al*., 1986; Fututoku and Yamada, 1981). پرایمینگ بذرها با اسیدآسکوربیک مرتبط است با کاهش معنی‌دار در فعالیت آمیلاز همزمان با افزایش محتوای قندهای محلول و نامحلول. این ویتامین می‌تواند اثرات بازدارندگی استرس‌ها را از طریق جلوگیری از فعالیت آمیلاز کاهش دهد. به خوبی شناخته شده است که مواد آلی محلول نقش مهمی در کاهش اثرات تنش‌های مختلف دارند (Azooz and Al-Fredan, 2009). تجمع مواد محلول سازگار باعث کاهش پتانسیل اسمزی در سیتوپلاسم می‌گردد و همچنین در نگهداری هموستازی آب در میان فضاهای خالی بین سلولی شرکت می‌کنند (Sairan and Tyagi, 2004). از میان همه مواد محلول آلی ثابت شده است که قندهای محلول بیش‌ترین فعالیت اسمزی را دارند (Ashraf and Harris, 2004). افزایش در قندهای محلول نظیر منوساکاریدها و دی‌ساکاریدها به‌عنوان ترکیبات اسمزی در شرایط تنش رخ می‌دهد که حفاظت از پروتئین‌ها در برابر خسارات تنش اکسیداتیو ناشی از رادیکال های آزاد اکسیژن در این شرایط مهم می‌باشد (Muchow, 1989; Sanchez *et al*., 1998). افزایش در قندهای محلول به‌عنوان یک مکانیسم در تنظیم پتانسیل اسمزی بین سیتوپلاسم و واکوئل سلول‌ها می تواند در شرایط تنش رخ می‌دهد. تجمع قندهای محلول در گیاهان در شرایط استرس‌های مختلف به‌دلیل کاهش در فعالیت گلوکوکیناز می‌باشد. کاهش فعالیت گلوکوکیناز از طریق تجمع قندهای محلول یک از مهم‌ترین جنبه‌های

مقاومت به تنش‌های اکسیداتیو در شرایط کاربرد اسیدسالیسیلیک می‌باشد. پیش‌تیمار گندم با اسیدسالیسیلیک موجب افزایش قندهای محلول در شرایط تنش شوری می‌شود (Hamid *et al.*, 2008)



شکل ۳- تاثیر تیمارهای مختلف پرایمینگ بر محتوای مالون‌دی‌آلدئید، قند محلول، پرولین و پروتئین محلول در گیاهچه‌های گندم در شرایط زوال بذر (تفاوت بین اعداد مربوط به ستون‌ها که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند معنی‌دار می‌باشد) ($p<0.05$)

(بدون پرایمینگ= NP، هیدروپرایمینگ= HP، اسیدآسکوربیک (AS =(50, 100 and 150 ppm، اسیدسالیسیلیک (SA =(50,100 and 150 ppm)

Figure 3. Effects of different priming treatments on MDA, soluble sugar, proline and soluble protein contents in wheat seedlings in accelerated ageing condition (the difference between the numbers of columns that are shown with different letters are meaningful) (p<0.05)
(NP= no priming, HP= Hydropriming, AS= ascorbic acid (50, 100 and 150 pmm), SA= salicylic acid (50, 100, 150 ppm)

محتوای متابولیت پرولین در شرایط پیری به‌شکل معنی‌داری افزایش یافت. بیش‌ترین اثر پیری بر محتوای پرولین در تیمار اسیدسالیسیلیک ۵۰ در شرایط نرمال مشاهده شد. بذرهای پرایم‌شده افزایش معنی‌داری در محتوای پرولین خود در مقایسه با تیمار شاهد نشان دادند. در شرایط زوال نیز بیش‌ترین و کم‌ترین محتوای پرولین در تیمارهای اسیدسالیسیلیک ۵۰ و بدون پرایمینگ گزارش شد (شکل ۳). انباشتگی پرولین ممکن است برای تنظیم اسمزی در سطح سلولی ادامه پیدا کند (Ashraf and Tufail, 1995). تجمع پرولین در شرایط تنش‌زا باعث افزایش فشار اسمزی درون سلولی می‌شود که خود یکی از ساز و کارهای مقاومت به تنش‌های اکسیداتیو در گیاهان است. احتمالا ساخت پرولین در گیاه باید در نتیجه واکنش غیراختصاصی به پتانسیل کم آب باشد. همچنین اختصاص کربن بیش‌تر در ساختار آلی و موثر در تنظیم اسمزی از جمله پرولین نیز می‌تواند باعث اختلال در کارکردهای عادی گیاه گردد (Maurmical and Cavallaro, 1996). پیری باعث القای تولید پرولین می‌گردد. محققان پیشنهاد کردندکه پرولین یک قسمت بسیار مهم در واکنش‌های محافظتی در گندم در پاسخ به استرس‌ها است که در کاهش اثرات مضر تنش‌ها شرکت می‌کند و فرایندهای ترمیمی را در طول دوره بروز تنش‌های اکسیداتیو تسریع می‌بخشد (Kuznetsov and Shevyakova, 1999).

نتیجه‌گیری

به‌عنوان نتیجه نهایی می‌توان اشاره نمود که با اعمال تیمار پیری، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کاهش می‌یابد لذا در این شرایط تولید انواع اکسیژن فعال در مکانیسم‌های حیاتی سلول بیش‌تر از کارایی مکانیسم‌های جمع‌آوری آن‌ها می‌گردد. کاهش چشمگیر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز منجر به تجمع رادیکال سوپراکسید و پراکسید هیدروژن و در نهایت تولید رادیکال فوق العاده خطرناک هیدروکسیل خواهد شد. به این ترتیب با اعمال تیمار پیری، آسیب به بیومولکول‌های حیاتی شدت یافته و در نتیجه آن مرگ سلولی افزایش می‌یابد که منجر به کاهش قدرت جوانه‌زنی می‌گردد. پس از اعمال تیمار پرایمینگ محتوای مالون‌دی‌آلدئید در گیاهچه‌های گندم کاهش یافت و تخریب و تجزیه قندهای محلول افزایش یافت. تیمار پرایمینگ متابولیسم گلوکز را افزایش داده و سبب افزایش محتوای پرولین و پروتئین محلول و بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز می‌گردد. می‌توان نتیجه گرفت که مناسب‌ترین تیمار پرایمینگ هورمونی استفاده از پرایمینگ با اسیدآسکوربیک ۱۰۰ در شرایط زوال بذر است. استفاده از سطوح متوسط پرایمینگ هورمونی سبب بهبود متابولیسم، جوانه‌زنی و بهبود کیفیت گیاهچه‌های گندم در شرایط نرمال و زوال گردید. پیری تسریع‌شده اختلال متابولیکی شدیدی از جمله غیرفعال‌شدن آنزیم‌ها و DNA اکسیداتیو را در گیاهان ایجاد می‌کند، و در نتیجه باعث خسارت به پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود. پیش‌تیمار کردن بذر با اسیدسالیسیلیک و اسیدآسکوربیک می‌تواند با تحریک آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و سنتز محدوده وسیعی از پروتئین‌های ضد تنش، اثرات سمی که در گیاهان در اثر پیری تسریع‌شده ایجاد می‌شود را کاهش و سطح انواع اکسیژن‌های فعال را پائین آورد. بنابراین می‌توان پرایمینگ بذرهای گندم با تنظیم‌کننده رشد اسیدآسکوربیک و اسیدسالیسیلیک روشی ساده در جهت بهبود کیفیت فیزیولوژیک بذرها و گیاهچه‌های گندم دانست.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مسئول آزمایشگاه بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

Abdul-Baki, A. and Anderson, J.D. 1973. Vigor determination in soybean seed by multiplication. Crop Science, 3: 630–633. **(Journal)**

Agrawal, R.L. 2004. Seed Technology. Oxford and IBH Publishing Co. Ltd. New Delhi. **(Book)**

Ansari, O. and Sharif-Zadeh, F. 2012. Does Gibberelic acid (GA), Salicylic acid (SA) and Ascorbic acid (ASc) improve Mountain Rye (*Secale montanum*) seeds Germination and Seedlings Growth

under Cold Stress?. International Research Journal of Applied and Basic Sciences, 3(8): 1651-1657. **(Journal)**

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

Ashraf, M. and M. Tufail. 1995. Variation in salinity tolerance in sunflower (Helianthus annuus L.). Journal of Agronomy and Soil Science, 174: 351-362. **(Journal)**

Ashraf, M. and Harris, P. 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant Science, 166: 3-16. **(Journal)**

Azooz, M.M. and Al-Fredan, M.A. 2009. The inductive role of vitamin C and its mode of application on growth, water status, antioxidant enzyme activities and protein patterns of *Vicia faba* L cv. Hassawi grown under seawater irrigation. American Journal of Plant Physiol, 4: 38-51. **(Journal)**

Bailly, C., Benamar, A., Corbineau, F. and Côme, D. 1998. Free radical scavenging as affected by accelerated ageing and subsequent priming in sunflower seeds. Physiologia Plantarum, 104: 646-52. **(Journal)**

Bailly, C, Benamar, A, Corbineau, F. and Come, D. 2000. Antioxidant systems in sunfl ower (*Helianthus annuus* L.) seeds as aff ected by priming. Seed Science Research, 10: 35-42. **(Journal)**

Bailly, C., Bogatek-Leszczynska, R., Come, D. and Corbineau, F. 2002. Changes in activities of antioxidant enzymes and lipoxygenase during growth of sunflower seedlings from seeds of different vigour. Seed Science Research, 12: 47–55. **(Journal)**

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

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

Bates, L.S., Walderd, R.P. and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline forwater stress studies. Plant Soil, 39: 205–208. **(Journal)**

Bellani, G., Byron, M.L., Collignon, A.G., Meyer, C.R. and Variano, E.A. 2012. Shape effects on turbulent modulation by large nearly neutrally buoyant particles. Journal of Fluid Mechanics, In Press. DOI: 10.1017/jfm.2012.393. **(Journal)**

Bewley, J.D., Bradford, K., Hilhorst, H. and Nonogaki, H. 2013. Seeds: physiology of development, germination and dormancy. New York, NY, USA: Springer. **(Book)**

Bohnert, H.J. and Shen, B. 1999. Transformation and compatible solutes. Science Horticulture, 78: 237–260. **(Journal)**

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation ofmicrogram quantities of protein utilizing the principles of protein-dye binding. Annual Review of Biochemistry, 72: 248–254. **(Journal)**

Bray, C.M., Davison, P.A., Ashraf, M. and Taylor, R.M. 1989. Biochemical changes during osmopriming of leek seeds. Annals of Botany, 36: 185–93. **(Journal)**

Buettner, G.R. and Schafer, F.Q. 2004. Ascorbate as an antioxidant. Vitamin C. In: Asard, H., Ay, J.M., and Smirnoff, N. (Eds.), Functions and biochemistry in animals and plants. Bios Scientific Oublishers, Oxford, pp. 173-188. **(Book)**

Chance, B. and Maehly, A.C. 1955. Assays of Catalases and Peroxidases. In: Methods in Enzymology. (Colowick SP, Kaplan NO, eds.) Academic Press, New York, 1955; II, 764- 775. **(Book)**

Chang, S. and Sung, J. 1998. Deteriorative changes in primed sweet corn seeds during storage. Seed Science and Technology, 26: 613-625. **(Journal)**

Copeland, L.O. and McDonald, M.B. 1995. Principles of seed science and Technology. Chapman and Hall, 3rd edition, p: 408. **(Book)**

Davies, K.J. 1987. Protein damage and degradation by oxygen radicals. I. general aspects. Journal of Biological Chemistry, 262: 9895-9901. **(Journal)**

Davis, P.J. 2005. Plant hormones: biosynthesis, signal transduction, action. Springer; 3rd edition. Kluwer Academic Publishers. Netherlands. 700 p. **(Book)**

Demir, I. and Mavi, K. 2004. The effect of priming on seedling emergence of differentially matured watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum and Nakai) seeds. Scientia Horticulturae, 102: 467-73. **(Journal)**

De Vos, C., Schat, H., De Waal, M., Vooijs, R. and Ernst, W. 1991. Increased to copper-induced damage of the root plasma membrane in copper tolerant Silene cucubalus. Plant Physiology, 82: 523-528. **(Journal)**

Dhindsa, R.S, Plumb-Dhindsa, P. and Thorpe, T.A. 1981. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. Journal of Exprimental Botany, 32: 93-101. **(Journal)**

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P. and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical chemistry, 28: 350-356. **(Journal)**

Eisvand, H.R., Tavakkol-Afshari, R., Sharifzadeh, F., Madah Arefi, H. and Hesamzadeh Hejazi, S.M. 2010 (a). Effects of hormonal priming and drought stress on activity and isozyme profiles of antioxidant enzymes in deteriorated seed of tall wheatgrass (*Agropyron elongatum* Host). Seed Science and Technology, 38: 280-297. **(Journal)**

Eisvand, H.R., Alizadeh, M.A. and Fekri, A. 2010(b). How hormonal priming of aged and nonaged seeds of bromegrass affects seedling physiological characters. Journal of New Seeds, 11: 52-64. **(Journal)**

Ellis, R.H., Roberts, E.H. 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. Seed Science and Technology, 9: 377-409. **(Journal)**

Espanany, A., Fallah, S. and Tadayyon, A. 2015. Seed priming improves seed germination and reduces oxidative stress in black cumin (*Nigella sativa*) in presence of cadmium. Industrial Crops and Products. Industrial Crops and Products, 79: 195–204. **(Journal)**

FAO. 2014. stattistical database. Available online: Http// www. Fao. org. **(Website)**

Fututoku, Y. and Yamada, Y. 1981. Diurnal changes in water-stressed and non-stressed soybean plants. Soil Science, 27: 195–204. **(Journal)**

Ghoulam, C. and Fares, K. 2001. Effect of salinity on seed germination and early seedling growth of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). Seed Science and Technology, 29: 357-64. **(Journal)**

Goel, A., Goel, A.K. and Sheoran, I.S. 2003. Changes in oxidative stressenzymes during artificial aging in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) seeds. Journal of Plant Physiology, 160: 1093–1100. **(Journal)**

Hamid, M., Ashraf, M.Y. and Arashad, M. 2008. Influence of salicylic acid seed priming on growth and some biochemical attributes in wheat grown under saline conditions. Pakistan Journal of Botany, 40(1): 361-367. **(Journal)**

He, C.Y., Zhang, J.S. and Chen, S.Y. 2002. A soybean gene encoding a proline-rich protein is regulated by salicylic acid, an endogenous circadian rhythm and by various stresses. Theoretical and Applied Genetics, 104: 1125-31. **(Journal)**

Hu, L., Li, H., Pang, H. and Fu, J. 2012. Responses of antioxidant gene, protein and enzymes to salinity stress in two genotypes of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) differing in salt tolerance. Journal of Plant Physiology, 169: 146-156. **(Journal)**

Ikic, I., Maricevic, M., Tomasovic, S., Gunjaca, J., Atovic, Z.S. and Arcevic, H.S. 2012. Theeffect of germination temperature on seed dormancy in Croatian-grownwinter wheats. Euphytica, 188: 25-34. **(Journal)**

ISTA. 2004. International rules for seed testing (2004 edition). Bassersdorf, Switzerland, ISTA. **(Handbook)**

Janda, T., Szalai, G., Tari, I. and Paldi, E. 1999. Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (*Zea may*s L.) plants. Planta, 208: 175-80. **(Journal)**

Jamaati-e-Somarin, S.H., Zabihi-e-Mahmoodabad, R. and Yari, A. 2010. Response of agronomical, physiological, apparent recovery nitrogen use efficiency and yield of potato tuber (*Solanum tuberosum* L.) to nitrogen and plant density. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science, 9(1): 16-21. **(Journal)**

Jennings, P. and Saltveit, M.E. 1994. Temperature and chemical shocks induce chilling tolerance in germinating *Cucumis sativus* (cv. Poinsett 76) seeds. Physiologia Plantarum, 91: 703-707. **(Journal)**

Jie, L., Gong She, L., Dong Mei, O., Fang Fang, L. and En Hua, W. 2002. Effect of PEG on germination and active oxygen metabolism in wildrye (Leymu.7 chinensis) seeds. Acta Prataculturae Sinica, 11: 59- 64. **(Journal)**

Kaewnaree, P., Vichitphan, S., Klanrit, P., Siri, B. and Vichitphan, K. 2011. Effect of accelerated aging process on seed quality and biochemical changes in sweet pepper (*Capsicum annuum* Linn.) seeds. Biotechnology, 2: 175-182. **(Journal)**

Khan, N.A, Syeed, S., Masood, A., Nazar, R. and Iqbal, N. 2010. Application of salicylic acid increases contents of nutrients and antioxidative metabolism in mungbean and alleviates adverse effects of salinity stress. International Journal Plant Biology, 1: 1-8. **(Journal)**

Kibinza, S., Vinel, D., Côme, D., Bailly, C. and Corbineau, F. 2006. Sunflower seed deterioration as related to moisture content during ageing, energy metabolism and active oxygen species scavenging. Physiologia Plantarum, 128: 496-506. **(Journal)**

Kuznetsov, V.V. and Shevyakova, N.I. 1999. Prolin under stress: Biological role, metabolism and regulation. Russian Journal of Plant Physiology, 46: 274-287. **(Journal)**

Laspina, N.V., Groppa, M.D., Tomaro, M.L. and Benavides, M.P. 2005 .Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress. Plant Science, 169: 323-330. **(Journal)**

Leprience, O., Atherton, N.M., Deltour, R. and Hendry, G.A.F. 1994. The involvement of respiration in free radical processes during loss of desiccation tolerance in germinating *Zea mays* L. An electron paramagnetic resonance study. Plant Physiology, 104: 1333-1339. **(Journal)**

Mauromicale, G. and Cavallaro, V. 1996. Effects of seed osmopriming on germination of three herbage grasses at low temperatures. Seed Science and Technology, 24: 331-38. **(Journal)**

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

McDonald, M.B. 2004. Orthodox seed deterioration and its repair, pp. 273-304. In: Handbook of Seed Physiology: Applications to Agriculture, Benech-Arnold, R. L. and R.A. Sanchez (Eds.). Food Products Press, New York. **(Book)**

Mittal, S., Kumari, N. and Sharma, V. 2012. Differential response of salt stress on Brassica juncea: Photosynthetic performance, pigment, proline, D1 and antioxidant enzymes. Plant Physiology and Biochemistry, 54: 17-26. **(Journal)**

Moran, M., Clarke, T., Inoue, Y. and Vidal, A. 1994. Estimating crop water deficit using the relation between surface-air temperature and spectral vegetation index. Remote Sensing of Environment, 49: 246-63. **(Journal)**

Muchow, R.C. 1989. Comparative productivity of maize, sorghum and pearl millet in a semi-arid tropical environment. I Yield potential. Field Crops Research, 20: 191-205. **(Journal)**

Newton, R.J., Bhaskaran, S., Puryear, J. and Smith, R.H. 1986. Physiological changes in culturedsorghum cells in response to induced water-stress. II Soluble carbohydrates and organic acids. Plant Physiology, 81: 626-629. **(Journal)**

Fututoku, Y. and Yamada, Y. 1981. Diurnal changes in water-stressed and non-stressed soybean lants. Soil Science, 27: 195-204. **(Journal)**

Omidi, A.H., Khazaei, H. and Hongbo, S.H. 2009. Variation for Some Important Agronomic Traits in 100 Spring Safflower (*Charthamus tinctorius* L.) Genotypes. American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science, 5(6): 791-795. **(Journal)**

Pukacka, S. and Ratajczak, E. 2007. Age-related biochemical changes during storage of beech (*Fagus sylvatica* L.) seeds. Seed Science Research, 17(1): 45-53. **(Journal)**

Shakirova, F.M., Sakhabutdinova, A.R., Bezrukova, M.V., Fatkhutdinova, R.A. and Fatkhutdinova, D.R. 2003. Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. Plant Science, 164: 317-322. **(Journal)**

Rajjou, L., Lovigny, Y., Groot, S.P., Belghazi, M., Job, C. and Job, D. 2008. Proteome-wide characterization of seed aging in Arabidopsis: a comparison between artificial and natural aging protocols. Plant Physiology, 148: 620-41. **(Journal)**

Sairam, R. and Tyagi, A. 2004. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. Current Science-Banglore, 86: 407-21. **(Journal)**

Sánchez Moreno, C., Larrauri, J.A. and Saura Calixto, F. 1998. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. Journal of the Science of Food and Agriculture, 76: 270-76. **(Journal)**

Sedghi, M., Nemati, A. and Esmaielpour, B. 2010. Effect of seed priming on germination and seedling growth of two medicinal plants under salinity. Emir Jornal Food Agriculture, 22(2): 130-139. **(Journal)**

Seel, W., Hendry, G. and Lee, J. 1992. Effects of desiccation on some activated oxygen processing enzymes and anti-oxidants in mosses. Journal of Experimental Botany, 43: 1031-37. **(Journal)**

Shao, H.B., Chu, L.Y., Shao, M.A., Abdul Jaleel, C. and Hong-Mei, M. 2008. Higher plant antioxidants and redox signaling under environmental stresses. Comptes Rendus Biologies, 331: 433-441. **(Journal)**

Sharma, P., Gujral, H.S. and Singh, B. 2012. Antioxidant activity of barley as affected by extrusion cooking. Food Chemistry, 131: 1406-1413. **(Journal)**

Shen, T.Y. and Oden, P.C. 1999. Activity of sucrose synthase, soluble acid invertase and fumarase in germinating seeds of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) of different quality. Seed Science and Technology, 27: 825-838. **(Journal)**

Sun, H., Lin, L., Wang, X., Wu, S. and Wang, X. 2011. Ascorbate-glutathione cycle of mitochondria in osmoprimed soybean cotyledons in response to imbibitional chilling injury. Journal of Plant Phyisology, 168: 226-232. **(Journal)**

Sung, J. 1996. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging in soybean seeds during aging. Physiologia Plantarum, 97: 85-89. **(Journal)**

Sung, J. and Jeng, T. 1994. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes associated with accelerated aging of peanut seed. Physiologia Plantarum, 91: 51-55. **(Journal)**

Szepesi, A., Poor, P., Gemes, K., Horvath, E. and Tari, I. 2008. Influence of exogenous salicylic acid on antioxidant enzyme activities in the roots of salt stressed tomato plants. Acta Biologica Szegediensis, 52: 199-200. **(Journal)**

Tasgin, E., Atic, O. and Nalbantoglu, B. 2003. Effect of salicylic acid on freezing tolerance in winter wheat leaves. Plant Growth Regulation, 41: 231-236. **(Journal)**

Tilebeni, G.H. and Golpayegani, A. 2011. Effect of seed ageing on physiological and biochemical changes in rice seed (*Oryza sativa* L.). International Journal of Agriculture Science, 1: 138-143. **(Journal)**

Walters, C. 1998. Understanding the mechanisms and kinetics of seed aging. Seed Science Research, 8(2): 223- 244. **(Journal)**

Walters, C., Wheeler, L.M, and Stanwood, P.C. 2004. Longevity of cryogenically stored seeds. Cryobiology, 48: 229–244. **(Journal)**

Yao, Z., Liu, L., Gao, F. and Rampitschi, C. 2012. Development and seed aging mediated regulation of antioxidative genes and differential expression of proteins during pre and post-germinative phases in pea. Journal of Plant Physiology, 169: 1477-1488. **(Journal)**

Yin, G.K., Xin, X., Song, C., Chen, X.L., Zhang, J.M. and Wu, S.H. l. 2014. Activity levels and expression of antioxidant enzymes in the ascorbate- glutathione cycle in artificially aged rice seed. Plant Physiology and Biochemistry, 80: 1–9. **(Journal)**

Zhu, J.K. 2001. Plant salt tolerance. Trends Plant Science. 6: 66–71. **(Journal)**

The effect of priming with salicylic acid and ascorbic acid on germination indices and biochemical traits in wheat seed deterioration

Saeed Moori[1], Hamid Reza Eisvand[2*]

Received: April 27, 2016 Accepted: July 3, 2016

Abstract

Wheat as the most important plants on earth and is the main source of feeding people in Iran. Damage of seed deterioration as the most important factor has been proposed by researchers. The purpose of this research is to evaluate the effects of plant growth regulators (salicylic acid and vitamin C) to improve germination and physiological quality of deteriorated seeds in wheat (*Triticum aestivum*), respectively. The treatments included two levels of accelerated aging in normal conditions and plant growth regulators included salicylic acid and ascorbic acid at levels of 50, 100 and 150 ppm and hydropriming. No priming treatment was as a control. A factorial experiment in a completely randomized design with three replications was done. In this research, the best treatments to improve seed germination characteristics crumbling use of ascorbic acid 100 ppm that 23% could improve germination. Under normal conditions, the highest percentage of germination was obtained salicylic acid 100 ppm 22.31% increase in germination was finalized. The results showed that significantly accelerated aging antioxidant enzyme activity and soluble protein reduced and in contrast, a significant increase in electrical conductivity and MDA content, soluble sugar and proline to be.

Keywords: Accelerated Aging; Antioxidant Enzyme; Soluble Organic Solute; Wheat Seedling

How to cite this article

Moori, S. and Eisvand, H.R. 2019. The Effect of Priming with Salicylic Acid and Ascorbic Acid on Germination Indices and Biochemical Traits in Wheat Seed Deterioration. Iranian Journal of Seed Science and Research, 6(3): 381-398. (In Persian)**(Journal)**

DOI: 10.22124/jms.2019.3835

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. PhD Student of Agronomy, College of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

2. Associate Professor, College of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

*Corresponding author: eisvand.hr@lu.ac.ir