علوم و تحقیقات بذر ایران
سال هفتم/ شماره اول/ ۱۳۹۹ (۱۳ - ۱)

DOI: 10.22124/jms.2020.4267

تأثیر پرایمینگ و فرسودگی بذر بر خصوصیات جوانه‌زنی، ویژگی‌های بیوشیمیایی و بیان ژن‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در لوبیا (*Phaseolus Vulgaris* (L.

طیبه سعادت[۱]، محمد صدقی[۲*]، عبدالقیوم قلی‌پوری[۳]، رئوف سید شریفی[۲]، رقیه شیخ‌بگلو[۴]

تاریخ دریافت: ۹۶/۹/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۷/۶/۲۶

چکیده

به‌منظور بررسی اثر پرایمینگ و فرسودگی (پیری تسریع‌شده) بذر بر جوانه‌زنی و ترکیبات بیوشیمیایی گیاه لوبیا آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۵ با ۳ تکرار انجام شد. تیمارها شامل فرسودگی (شاهد و دو سطح ۸۸ و ۷۸ درصد جوانه‌زنی) و پرایمینگ (بدون پرایمینگ، هیدرو پرایمینگ، پرایمینگ با جیبرلین و اسید سالیسیلیک) بود. پس از استخراج RNA و ساخت cDNA بررسی بیان ژن‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت با استفاده از qRT-PCR، و برخی شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی سنجیده شد. نتایج نشان داد که بیش‌ترین طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن‌تر ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه، میزان ذخایر فسفات از تیمار پرایمینگ با جیبرلین و بدون فرسودگی حاصل شد. هم‌چنین بیان ژن آنزیم پراکسیداز در تیمار پرایمینگ با جیبرلین و سطح فرسودگی ۸۸ درصد بالاتر از سایر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت بود. با افزایش فرسودگی بیان ژن کاهش پیدا کرد به‌طوری‌که کم‌ترین میزان بیان ژن آنزیم پراکسیداز در تیمار بدون پرایمینگ و سطح فرسودگی ۷۸ درصد بود. در نتیجه، استفاده از پیش‌تیمار جیبرلین موجب تقویت بذرهای ضعیف لوبیا می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، اسید سالیسیلیک، بیان ژن، جیبرلین، فسفات

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
۲- استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
۳- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
۴- دانشجوی دکترا، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
*نویسنده مسئول: m_sedghi@uma.ac.ir

مقدمه

حبوبات از مهم‌ترین محصولات کشاورزی مورد تغذیه انسان و دام تلقی می‌شود. در بین حبوبات، لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) به جهت دارا بودن بیش‌ترین سطح زیر کشت و تولید در جهان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Majnoun Hoseini, 2008). لوبیا گیاهی یک‌ساله از تیره بقولات است که دارای 2n=2x=22 کروموزوم می‌باشد (Anonymous, 2008). فرسودگی بذر پدیده فیزیولوژیک است که پس از رسیدگی فیزیولوژیک بذر و در دوره پس از برداشت در شرایط نامطلوب محیط نگهداری بذر به‌تدریج آغاز می‌شود و موجب تخریب ساختار DNA و RNA ریبوزومی (McDonald *et al*., 1999). کاهش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک، کاهش یکپارچگی غشای پلاسمایی و افزایش تنفس می‌گردد که برآیند این عوامل منجر به کاهش قوه نامیه، بنیه بذر و گیاهچه می‌گردد (Hampton, 2003). پرایمینگ به تعدادی از روش‌های مختلف بهبوددهنده بذور اطلاق می‌شود که در تمامی آن‌ها آبدهی کنترل‌شده بذر اعمال می‌شود (Farooq *et al*., 2006b). هدف کلی پرایمینگ بذر، آبدهی جزئی آن‌ها می‌باشد به‌طوری‌که بذور مرحله اول (جذب فیزیکی آب) و دوم (شروع فرآیندهای بیوشیمیایی و هیدرولیز قندها) جوانه‌زنی را پشت سر گذاشته ولی از ورود به مرحله سوم جوانه‌زنی (مصرف قند توسط جنین و رشد ریشه‌چه) باز می‌ماند (Bradford, 1995). استفاده از تیمارهای مختلف پرایمینگ به‌طور غیرمستقیم موجب بهبود قدرت بذر لوبیا از طریق افزایش سرعت جوانه‌زنی گردید (Amanpour-Balaneji and Sedghi, 2012).

کنترل تظاهر ژن در واقع کنترل مقدار فرآورده ژنی مورد نیاز در سلول است. این مقدار به توازن بین دو عامل بستگی دارد: یکی میزان ساخته‌شدن (یعنی چند مولکول از فرآورده ژن در واحد زمان مورد نیاز است) و دیگری میزان تجزیه آن (یعنی چند مولکول در واحد زمان شکسته می‌شود). نتیجه این توازن، یک غلظت پایدار متفاوت برای هر فرآورده ژن در سلول ایجاد می‌کند. هرگاه میزان تولید یا تجزیه تغییر کند، غلظت حالت پایدار در این صورت تغییر خواهد کرد. در عمل تغییرات بحرانی در غلظت پایدار یک آنزیم به خاطر تغییر در میزان تولید آن به وجود می‌آید و به‌نظر می‌رسد که میزان تجزیه نسبتاً ثابت است (Yazdi Samadi and Valizadeh, 2007). اثرات همزمان بیان بیش از حد دو آنزیم آنتی‌اکسیدانت سوپراکسیددیسموتاز مس/ روی (SOD) و آسکوربات پراکسیداز (APX) در طول عمر بذر و جوانه‌زنی تحت شرایط تنش‌زا بر روی توتون مورد بررسی قرار گرفته است. بذرهای غیرتراریخته نسبت به بذرهای تراریخته دو سال انبارداری‌شده سطوح بالاتری از نشت یون نشان می‌دهد. افزایش بیان همزمان ژن‌های مربوط به آنزیم‌های SOD و APX موجب بهبود ویژگی‌های جوانه‌زنی در شرایط تنش‌زای محیطی و انبارداری طولانی مدت می‌گردد (Pylee *et al*., 2010). انواع مختلفی از ژن‌ها و رونوشت آن‌ها در پاسخ به تنش‌های گوناگون و در نقش‌های مختلف دخالت دارند که درک این نقش‌ها به حل مشکلات مقاومت به تنش کمک بسیاری می‌کند (Wei, 2014).

از جمله تکنیک‌های مورد استفاده در تجزیه و تحلیل بیان ژن هدف می‌توان به واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در زمان واقعی اشاره کرد. Real Time PCR یک روش قابل اعتماد، حساس و سریع برای اندازه‌گیری بیان ژن است (Driscol, 2011). هدف از انجام این تحقیق، بررسی تغییرات فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و مولکولی بذر لوبیا در واکنش به فرسودگی و نقش پرایمینگ بذر در بهبود قدرت بذرهای ضعیف لوبیا بود.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر پرایمینگ بذر بر جوانه‌زنی و ترکیبات بیوشیمیایی گیاه لوبیا آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار و ۱۲ تیمار شامل ۳ سطح فرسودگی (شاهد و دو سطح ۸۸ و ۷۸ درصد جوانه‌زنی) و ۴ سطح پرایمینگ (بدون پرایمینگ، هیدرو پرایمینگ، پرایمینگ با جیبرلین (۲۰ میلی‌گرم بر لیتر) و اسید سالیسیلیک (۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر)) در آزمایشگاه زراعت دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۵ انجام شد. طی آزمون پیری تسریع‌شده (Deloche and Baskin, 1972) بذرها در معرض دمای ۴۰ درجه سلسیوس با رطوبت نسبی ۹۵± ۲ درصد، در داخل آون به‌مدت ۱۱ روز (فرسودگی ۸۸ درصد) و ۱۲/۵ روز (فرسوگی ۷۸ درصد) قرار گرفتند. سپس، بذرهای فرسوده به‌همراه شاهد

درون محلول‌های پرایمینگ به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه قرار داده شدند. بعد از پرایمینگ، بذرها به‌وسیله آب مقطر چندین بار شستشو شدند، سپس، آزمون جوانه-زنی استاندارد روی بذرها انجام شد. آزمون جوانه‌زنی به-روش حوله کاغذی در ۳ تکرار ۵۰ بذری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به‌مدت ۷ روز انجام گرفت (ISTA, 2012). در این روش، از کاغذهای صافی (Boeco-Germany) اندازه ۵۸×۵۸ استفاده شد. ۵۰ عدد بذر به-صورت ردیفی روی یک لایه از کاغذ صافی که با آب مقطر خیسانده شده بود، قرار گرفت و سپس، کاغذ صافی مرطوب دیگری روی بذور گذاشته شد. لبه پایینی کاغذها به عرض ۴-۳ سانتی‌متر تا گردید و از لبه کناری به شکل لوله پیچانده شد و به‌صورت عمودی به داخل ژرمیناتور منتقل شد. شمارش بذرهای جوانه‌زده به‌صورت روزانه انجام گردید. معیار جوانه‌زنی یک بذر، رشد ریشه‌چه و خروج آن به میزان ۲ میلی‌متر از پوسته بذر در نظرگرفته شد. سپس متوسط زمان جوانه‌زنی، طول ساقچه، طول ریشه‌چه، اندازه‌گیری وزن‌تر و خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه و میزان فسفات اندازه‌گیری شدند و هم‌چنین بررسی بیان ژن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت انجام گرفت. برای استخراج RNA کل از نمونه‌ها، از کیت استخراج RNX-plus شرکت سیناژن به‌منظور بیان ژن آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسمیوتاز استفاده گردید.

کیفیت RNA استخراج‌شده در ژل آگارز ۱ درصد ارزیابی شد. جهت تعیین درجه خلوص و غلظت نمونه‌های RNA از دستگاه اسپکتروفتومتر نانودرآپ (Thermoscientific, 2000c) استفاده و کمیت نمونه‌ها بررسی شد. سپس نمونه‌های RNA با آنزیم DNase I (RNase-free, Fermentase) تیمار و به‌عنوان الگوی واکنش RT- RNA قرار گرفتند. پس از یکسان‌سازی غلظت نمونه‌های RNA، cDNA مربوط به هر نمونه با استفاده از کیت سنتز cDNA (Thermo scientific) طبق دستورالعمل کیت ساخته شد (Mahmodi Jaraghili *et al*., 2016).

توالی‌های مربوطه جهت طراحی پرایمر با استفاده از شماره دسترسی ژن‌های مربوطه در سایت NCBI به‌دست آمد و با رعایت تمام اصول اساسی در طراحی پرایمر و با تعیین اندازه ۱۰۰ تا ۲۰۰ جفت بازی برای محصول PCR پرایمرها طراحی شدند (جدول ۱).

جدول۱- آغازگرهای رفت و برگشت استفاده‌شده در Real Time PCR

Table 1. Forward and Reverse Primers Used in Real Time PCR

ژن	توالی پرایمر	طول محصول (جفت باز)	شماره دسترسی یا رفرنس
Gene	Primer sequence	Product size, bp	NCBI Acc. No. or Ref
کاتالاز	5′GGATCCTGAACAGGAGGACA 3 ′	139	AF149283.1
CAT	5′TTCGTTCTCGGCAAAGAAGT 3 ′		
پراکسیداز	5′ATTGGTGCTGACACCATTGA 3 ′	103	AF149277.1
POX	5′CTCCAATGTTGCCCATTTTT 3 ′		
سوپراکسید دیسموتاز	5′AAATGGTCCAACCACCGTAA 3 ′	107	KF569535.1
SOD	5′CAGTTGACAGGCAACCATTG 3 ′		
اکتین	5′GAAGTTCTCTTCCAACCATCC3′	175	
ACT	5′TTTCCTTGCTCATTCTGTCCG3′		Niño-Sánchez *et al*., 2015

بررسی بیان ژن با استفاده از دستگاه Real Time PCR مدل Light cycler 96 Roche انجام شد. به منظور استانداردکردن داده‌ها، نمونه‌ها با ژن خانه‌دار اکتین نرمال گردیدند. نرخ بیان ژن با استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه شد (Livak and Schmittgen, 2001). رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel 2013 انجام گردید.

متوسط زمان جوانه‌زنی، شاخصی از سرعت و شتاب جوانه‌زنی محسوب می‌گردد که از طریق رابطه ۱ (Ellis and Roberts, 1981) محاسبه شد.

$$MGT=\Sigma D/\Sigma n \quad \text{(رابطه ۱)}$$

که در آن، D روز شمارش از اولین روز جوانه‌زنی و n تعداد بذر جوانه‌زده در روز D است.

طول ساقه‌چه و ریشه‌چه توسط خط کش مدرج بر حسب سانتی‌متر و با دقت میلی‌متر اندازه‌گیری شد. وزن‌تر و خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه با ترازو دیجیتالی با دقت یک هزارم اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری ذخایر فسفات موجود در نمونه از روش فتومتری استفاده شد (Warraich *et al*., 2002).

داده‌های به‌دست آمده به‌کمک برنامه SPSS16 از نظر نرمال‌بودن بررسی شد و سپس، تجزیه واریانس با استفاده از نرم افزار SAS9.1 انجام گردید. میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه گردید.

نتایج و بحث

بررسی صفات رشدی بذور لوبیا

طبق جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) اثر متقابل فرسودگی و پرایمینگ بر روی تیمارهای میانگین مدت جوانه‌زنی، طول ساقچه، وزن‌تر ریشه‌چه، وزن خشک ساقه‌چه و وزن خشک ریشه‌چه و اثر ساده بر روی تیمارهای طول ریشه‌چه، وزن‌تر ساقه‌چه و فسفات در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود.

بیش‌ترین متوسط زمان جوانه‌زنی (۰/۰۶۳ روز) در تیمار بدون پرایمینگ با فرسودگی ۷۸ درصد و کم‌ترین (۰/۰۱۶ روز) در پیش‌تیمار جیبرلین و بذور بدون فرسودگی بود (جدول ۳). نتایج نشان داد بذور تیمارشده با جیبرلین در سطوح مختلف فرسودگی نیز متوسط زمان جوانه‌زنی کم‌تری نسبت به شاهد و تیمارهای دیگر نشان دادند.

در مقایسه میانگین اثرات متقابل بیش‌ترین طول ساقه‌چه (۱۵۱/۱۳ میلی‌متر) از پیش‌تیمار جیبرلین و سطوح بدون فرسودگی و کم‌ترین طول ساقه‌چه (۸۲ میلی‌متر) بدون پرایمینگ و بذور با فرسودگی ۷۸ درصد به‌دست آمد (جدول ۳). در اثر ساده مقایسه میانگین نیز بیش‌ترین طول ریشه‌چه (۲۰۲/۰۴ میلی‌متر) در پیش-تیمار جیبرلین و کم‌ترین طول ریشه‌چه (۱۱۵/۱۱ میلی‌متر) بدون پرایمینگ بود. با افزایش فرسودگی طول ریشه‌چه کوتاه‌تر شده به‌طوری‌که در شاهد (بدون فرسودگی) بیش‌ترین طول ریشه‌چه (۱۶۹/۳۶ میلی‌متر) و در فرسودگی ۷۸ درصد کم‌ترین طول ریشه‌چه (۱۳۲/۶۶ میلی‌متر) مشاهده شد (جداول ۴ و ۵).

در اثرات متقابل بیش‌ترین وزن خشک ساقه‌چه (۱/۱۰ گرم) و ریشه‌چه (۰/۲۰ گرم) از پیش‌تیمار جیبرلین و بذور بدون فرسودگی و کم‌ترین وزن خشک ساقه‌چه (۰/۷۶ گرم) و کم‌ترین وزن خشک ریشه‌چه (۰/۰۹ گرم) از تیمار بدون پرایمینگ با فرسودگی ۷۸ درصد بود (جدول ۳).

بررسی صفات بیوشیمیایی بذور لوبیا

در اثرات ساده بیش‌ترین میزان ذخایر فسفات (۰/۰۴۴ میکرومول بر گرم fw) در پرایمینگ جیبرلین و کم‌ترین میزان ذخایر فسفات (۰/۰۳۱ میکرومول بر گرم fw) در شاهد بود. با افزایش شدت فرسودگی میزان ذخایر فسفات کاهش می‌یابد. به‌طوری بیش‌ترین میزان ذخایر فسفات (۰/۰۴۳ میکرومول بر گرم fw) شاهد (بدون فرسودگی) و کم‌ترین میزان ذخایر فسفات (۰/۰۳۴ میکرومول بر گرم fw) در فرسودگی ۷۸ درصد بود (جداول ۴ و ۵).

بیش‌ترین میزان بیان نسبی ژن‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در تیمار پرایمینگ با جیبرلین و سطح فرسودگی ۸۸ درصد بود. با افزایش فرسودگی بیان ژن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کاهش یافت. به‌طوری‌که کم‌ترین میزان آن‌ها در تیمار بدون پرایمینگ و فرسودگی ۷۸ درصد بود (شکل ۱).

فرسودگی سبب تغییرات مورفوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی متعدد می‌شود. نتایج این پژوهش نشان داد که فرسودگی صفات اندازه‌گیری‌شده را کاهش داد. در بین تیمارهای بهبوددهنده، تاثیر جیبرلین بیش‌تر از هیدروپرایمینگ، اسید سالیسیلیک و بدون پرایمینگ بود. پرایمینگ با تسریع فعالیت‌های جوانه‌زنی، موجب می‌شود که خروج ریشه‌چه در مدت زمان کم‌تری صورت گیرد. فرسودگی از طریق کاهش کیفیت بذر موجب کاهش در سرعت، زمان جوانه‌زنی و عملکرد دانه می‌شود (Hasstrup *et al*., 1993).

پرایمینگ با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت سبب بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی می‌شود (Hsu *et al*., 2003). به‌دنبال پرایمینگ بذر سنتز RNA، DNA و تقسیم سلولی افزایش می‌یابد، افزایش فعالیت آنزیم فسفاتاز نیز تحت تیمار پرایمینگ گزارش شده است (Abbasdokht and Edalat Pishe, 2008). علت

برتری بذرهای پرایم‌شده نسبت به پرایم‌نشده در گونه‌های مختلف گیاهی را می‌توان چنین استباط نمود که اولاً پیش‌تیمار بذر با توسعه مرحله دو از سه مرحله

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر پرایمینگ و فرسودگی بر روی صفات مطالعه‌شده در لوبیا

Tabel 2. Analysis of variance for the effect of aging and priming on studied traits in Common bean

منابع تغییرات S.OV	درجه آزادی df	متوسط زمان جوانه‌زنی Mean germination time	طول ساقه‌چه Pedicel length	طول ریشه‌چه Radicle length	وزن خشک ساقه‌چه Pedicel dry weight	وزن خشک ریشه‌چه Radicle dry weight	فسفات Phosphate
پرایمینگ Priming (P)	3	0.0013**	2077.195**	12317.921**	0.0388**	0.0043**	0.00024**
فرسودگی Aging (A)	2	0.00037**	2246.893**	4107.910**	0.0639**	0.0076**	0.00027**
P*A	6	0.000034*	71.323**	71.110	0.0029*	0.00053**	0.0000041
خطا Error (E)	24	0.000013	17.076	33.904	0.00102	0.00012	0.0000020
ضریب تغییرات CV (%)		9.811	3.679	3.890	3.519	8.144	3.668

* و ** به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱

* and ** indicating the significant differences at 5 and 1 percent probability levels

جدول۳ - مقایسه میانگین اثر متقابل پرایمینگ و فرسودگی بر روی صفات مطالعه‌شده در لوبیا

Tabel 3. Means Comparison on interaction effect of aging (A) and priming (P) for studied traits in Common bean

تیمار	Treatment	متوسط زمان جوانه‌زنی (روز) MGT (day)	وزن خشک ساقه‌چه (گرم) PDW (gr)	وزن خشک ریشه‌چه (گرم) RDW (gr)
هیدروپرایمینگ و بدون فرسودگی	A1P1	0.031 fde	0.963 b	0.156 b
اسید سالیسیلیک و بدون فرسودگی	A1P2	0.032 fde	0.970 b	0.165 b
جیبرلین و بدون فرسودگی	A1P3	0.016 g	1.104 a	0.204 a
شاهد و بدون فرسودگی	A1P4	0.045 c	0.900 dc	0.132 dc
هیدروپرایمینگ و فرسودگی ۸۸ درصد	A2P1	0.035 fde	0.916 bc	0.145 bc
اسید سالیسیلیک و فرسودگی ۸۸ درصد	A2P2	0.035 de	0.926 bc	0.145 bc
جیبرلین و فرسودگی ۸۸ درصد	A2P3	0.028 f	0.961 b	0.161 b
شاهد و فرسودگی ۸۸ درصد	A2P4	0.053 b	0.802 fe	0.103 fe
هیدروپرایمینگ و فرسودگی ۷۸ درصد	A3P1	0.037 d	0.845 de	0.130 dc
اسید سالیسیلیک و فرسودگی ۷۸ درصد	A3P2	0.037 d	0.871 dc	0.118 de
جیبرلین و فرسودگی ۷۸ درصد	A3P3	0.030 fe	0.876 dc	0.117 de
شاهد و فرسودگی ۷۸ درصد	A3P4	0.063 a	0.763 f	0.090 f

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد است.

The different letters in each column indicate significant difference at 1% probability level.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر ساده پرایمینگ بر روی صفات مطالعه‌شده در لوبیا

Tabel 4. Mean Comparison for the effect of priming on studied traits in Common bean

پرایمینگ Priming		طول ریشه‌چه (میلی‌متر) RL (mm)	فسفات (میکرومول بر گرم) Phosphate (µmolg^{-1})
هیدرو	Hydro (HY)	138.667 b	0.039 b
اسیدسالیسیلیک	Salicylic acid (SA)	142.778 b	0.038 b
جیبرلین	Gibberellin (GA3)	202.044 a	0.044 a
شاهد	Control	115.111 c	0.031 c

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد است.

The different letters in each column indicate significant differences at 1% probability level.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر ساده فرسودگی بر روی صفات مطالعه‌شده در لوبیا

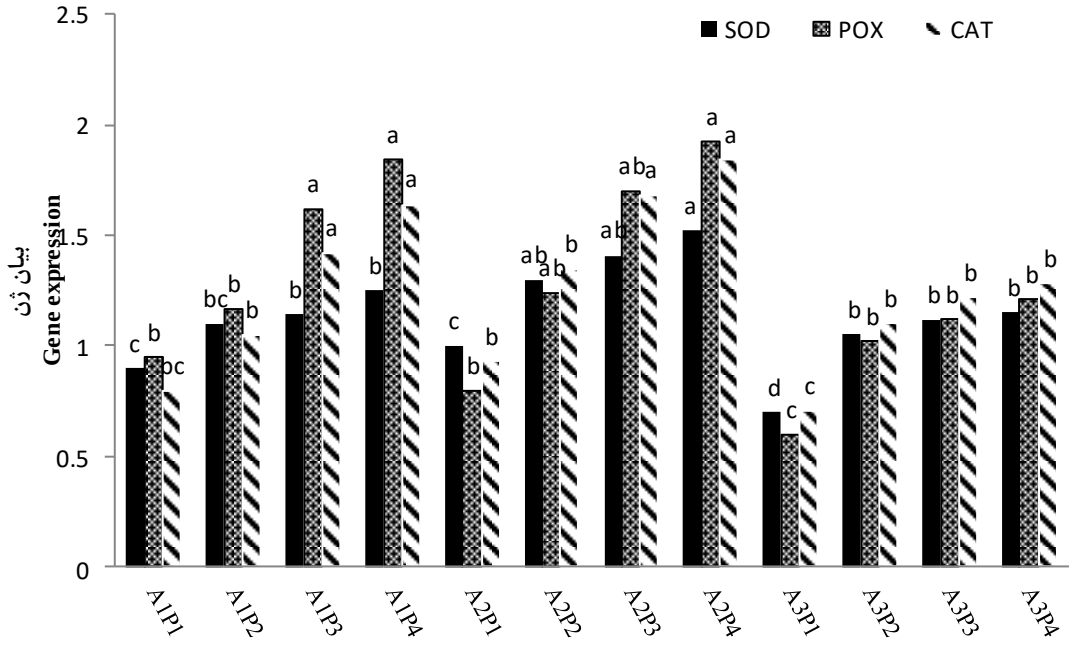
Tabel 5. Mean Comparison for the effect of aging on studied traits in Common bean

حروف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد است.

فرسودگی Aging	طول ریشه‌چه (میلی‌متر) RL (mm)	فسفات (میکرومول بر گرم) Phosphate (µmolg-1)
شاهد Control	169.367 a	0.043 a
88%	146.917 b	0.038 b
78%	132.667 c	0.034 c

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد است.

The different letters in each column indicate a significant differences at 1% probability level.



شکل ۱- تغییرات میزان بیان ژن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت (SOD، سوپراکسید دیسمیوتاز؛ POX، پراکسیداز؛ CAT، کاتالاز) ناشی از اعمال تیمار پرایمینگ و فرسودگی، P1: شاهد، P2: هیدرو پرایمینگ، P3: اسید سالیسیلیک، P4: جیبرلین، A1: بدون فرسودگی، A2: فرسودگی ۸۸ درصد، A3: فرسودگی ۷۸ درصد

Figure 1. Changes in gene expression of antioxidant enzymes (SOD, superoxide dismutase; POX, peroxidase; CAT, catalase) due to priming treatment and aging. P1: hydro-priming; P2: salicylic acid; P3: gibberellin; P4: control; A1: without aging; A2: aging 88%; A3: aging 78%

جوانه‌زنی یعنی از طریق کوتاه‌کردن مدت زمان سوخت و ساز، باعث تسریع جوانه‌زنی می‌شود (Nelson, 2000) و ثانیا در طی پرایمینگ بذر، انتقال مواد ذخیره‌ای، فعال‌سازی سنتز آنزیم‌ها، تولید ATP در بذرها آغا شده و سنتز پروتئین، DNA افزایش یافته و هم‌چنین بر فسفولیپیدهای سلول غشایی در جنین تاثیرگذار می‌باشد (Hill, 1999; Bradford, 1995). در واقع، درصد جوانه‌زنی و سبزشدن بالاتر بذور پرایم‌شده در شرایط تنش به‌دلیل انجام یک سری از فرآیندهای جوانه‌زنی از جمله آبنوشی و سنتز اسیدهای نوکلئیک در طی مرحله پرایمینگ بذر است (Wang *et al*., 2003) که موجب کوتاه‌ترشدن زمان جوانه‌زنی شده و بذر در شرایط تنش مدت زمان کم‌تری را برای جوانه‌زنی نسبت به بذور پرایم‌نشده نیاز خواهد داشت. علت وقفه ایجادشده احتمالا به این خاطر است که بذر برای تعمیر خسارت وارد شده به غشا و دیگر قسمت‌های سلول و هم‌چنین آغاز مجدد سیستم آنتی‌اکسیدانت و جلوگیری از بروز تنش نیاز به زمان دارد و ترمیم این خسارت‌ها فقط پس از پرایمینگ امکان-پذیر است، بنابراین مدت زمان لازم برای تکمیل فرآیند جوانه‌زنی در بذرهای فرسوده افزایش می‌یابد که نتیجه آن افزایش زمان جوانه‌زنی است (Bailly *et al*., 2000). فرسودگی از طریق افزایش تنفس و کاهش پروتئین‌های بنیادی که در کیفیت دانه نقش دارند موجب کاهش کیفیت دانه و در نهایت تولید ریشه‌چه و ساقه‌چه ضعیف خواهد شد، به‌طورکلی وزن ریشه‌چه و ساقه‌چه رابطه مستقیمی با اندوخته غذایی بذر دارد که این اندوخته تحت تأثیر متقابل ساختار و شرایط محیطی در زمان پرشدن دانه می‌باشد.

هر چه بذرها سالم‌تر باشد میزان اندوخته غذایی بذر بیش‌تر و به دنبال آن وزن خشک اندام هوایی و زیرزمینی بیش‌تر است (McDonald *et al*., 2004). پژوهشگران علت خروج سریع‌تر ریشه‌چه و ساقه‌چه در بذور پرایم‌شده را به بازده بیش‌تر جذب آب و فعالیت متابولیکی در دوره جوانه‌زنی نسبت داده‌اند (Hopper *et al*., 1979). فرسودگی با تاثیرگذاری بر طول ریشه‌چه و ساقه‌چه باعث کاهش طول گیاهچه می‌گردد که این کاهش رشد در سطح ریشه‌چه بیش‌تر از ساقه‌چه می‌باشد (Jain *et al*., 2006). کائور و همکاران (Kaur *et al*., 2003) گزارش کردند، که میزان آنزیم‌های آمیلاز و ساکارز سینتاز در ساقه و ریشه گیاهچه‌های پرایم‌شده افزایش پیدا می‌کند. افزایش چنین آنزیم‌هایی می‌تواند از دلایل افزایش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه بذرهای پرایم‌شده باشد. کاهش طول و وزن‌تر به احتمال زیاد ناشی از کاهش تعداد و اندازه سلول است. پرایمینگ با تأثیر بر رشد محور جنین و نموی گیاهچه موجب افزایش هدایت الکتریکی شده و با تحت تأثیر قراردادن فرآیندهای فیزیولوژیک و متابولیک گیاهچه موجب افزایش جذب آب و افزایش وزن‌تر ریشه‌چه و ساقه‌چه می‌گردد (Basra, 2006). کاهش در وزن خشک گیاهچه در اثر تنش مربوط به کاهش در رشد و کاهش در تقسیم سلولی می‌باشد. ولی با استفاده از تیمارهای پرایمینگ رشد گیاهچه بیش‌تر شده و تقسیم سلولی به‌دلیل افزایش انرژی بیش‌تر شده در نتیجه وزن خشک گیاهچه هم افزایش می‌یابد. رشد گیاهچه هتروتروف وابسته به میزان ذخایر تحرک‌یافته بذر (میلی‌گرم در هر بذر) و کارایی تبدیل ذخایر به بافت‌های گیاهچه (میلی‌گرم در گرم) می‌باشد. یعنی تولید میزان ماده خشک به ازای هر واحد استفاده‌شده از ذخایر بذر است. سلطانی و همکاران (Soltani *et al*., 2006) کاهش وزن خشک ساقه‌چه گیاهچه‌های حاصل از بذور فرسوده‌شده گندم را ناشی از کاهش کارایی استفاده از ذخایر دانسته‌اند. به احتمال زیاد سطح آندروژن جیبرلین و به تبع آن کاهش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک عامل اصلی کاهش کارایی استفاده از ذخایر در بذور پرایم‌شده باشد (Sedghi *et al*., 2010a; Soltani *et al*., 2008). پرایمینگ به‌دلیل فعال‌سازی فعالیت‌های متابولیک جنین، مانند همانندسازی DNA و تحریک فعالیت RNA و در نتیجه افزایش پروتئین‌سازی، ترمیم غشای سلولی و تولید هورمون‌های تحریک‌کننده جوانه‌زنی موجب افزایش وزن خشک گیاهچه شد (Chojnowski *et al*., 1997). به‌طورکلی فرسودگی بذر باعث کاهش وزن خشک ریشه‌چه شد. علت احتمالی این کاهش ممکن است به‌دلیل پایین‌آمدن فعالیت‌های شیمیایی در بذر باشد. فرسودگی بذر اثر زیان‌آوری بر آنزیم‌های لازم برای تبدیل مواد ذخیره‌ای جنین به فرم قابل استفاده و در نهایت تولید گیاهچه عادی دارد (Sung and Jeng, 1994). چنین ناهنجاری‌هایی نشان‌دهنده آسیب شدید به DNA می‌باشد و زمانی در بخش مهمی از سلول تقسیم نابجا رخ می‌دهد منجر به کاهش رشد ریشه‌چه و در نتیجه کاهش وزن خشک ریشه‌چه در ذرت می‌شود (Radha *et al*., 2014). پرایمینگ موجب ترمیم برخی آسیب‌های به‌وجود آمده به‌واسطه فرسودگی بذر و در نتیجه بهبود کیفیت بذر می‌گردد. افزایش میزان فسفات نسب به شاهد بیانگر اثر مثبت پرایمینگ بذر است و می‌تواند موجب افزایش نسبت ATP به ADP شود که این امر سطح انرژی موجود در بذر را افزایش خواهد داد. مقایسه سطوح فرسودگی مختلف نشان می‌دهد که فرسودگی موجب کاهش فسفات و در نتیجه کاهش انرژی موجود در بذر برای رشد و خروج گیاهچه می‌گردد. تحقیقات نشان دادند که تنش‌های محیطی با برهم‌زدن شرایط مطلوب، سبب بروز اختلالات متابولیسمی در سلول‌های گیاهی می‌گردند که یکی از عوامل اصلی این اختلالات افزایش تولید انواع اکسیژن فعال می‌باشد. گیاهان برای مقابله با این ترکیبات، مکانیسم‌هایی را در خود توسعه داده‌اند که به‌طورکلی به‌عنوان دفاع‌های آنتی‌اکسیدانت شناخته می‌شوند ارزیابی و میزان ژن‌های آنتی‌اکسیدانت‌ها باعث فراهم‌شدن فرصت‌هایی برای رشد و نمو گیاه همراه با افزایش بیان این ژن‌ها و هم‌چنین ماده موثره در گیاه گردیده است. باید توجه داشت که تمام ژن‌ها تاثیر یکسانی در تولید آنتی‌اکسیدانت‌ها ندارند و اهمیت هر ژن با توجه به جایگاه آن ژن در مسیر بیوسنتزی و ترکیبی که تولید می‌کند تعیین می‌شود. ROSها می‌توانند شدیداً با بیومولکول‌های زیستی مانند لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک واکنش داده و پراکسیداسیون لیپید، دناتوره‌شدن

پروتئین و جهش در DNA را سبب شوند که این امر به مختل‌شدن متابولیسم طبیعی گیاه و در نهایت مرگ سلول‌ها منجر می‌شود (Kar, 2011; Gill and Tuteja, 2010)، ولی در غلظت‌های پایین‌تر نقش بسیار مهمی در تنظیم فرآیندهای مهم سلولی و به‌ویژه کنترل بیان ژن‌ها ایفا می‌نمایند. نتایج حاصل از ارزیابی بیان ژن با استفاده از real-time PCR، نشان داد که میزان بیان نسبی ژن‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در بذرهای تیمارشده با پرایمینگ نسبت به شاهد از یک روند افزایشی پیروی می‌کند، به‌طوری‌که در تیمار بدون پرایمینگ، بیان ژن این آنزیم‌ها کم‌ترین مقدار را داشت. بیان اندک مشاهده شده ژن‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در تیمار بدون پرایمینگ (شاهد)، بیانگر نقش این ژن‌ها در متابولیسم ثانویه است. زیرا در شرایط طبیعی، نیازی به مقادیر بالای بیان ژن‌های دفاعی نیست (Nims *et al*., 2006). در این پژوهش، تحت تاثیر پرایمینگ با جیبرلین بیان نسبی ژن پراکسیداز نسبت به بیان نسبی ژن آنزیم‌های دیگر بالا بود (۹۳، ۱۴۰ و ۱۰۱ درصد افزایش بیان به‌ترتیب در شاهد، فرسودگی ۸۸ و ۷۸ درصد) و افزایش بیان این ژن به احتمال زیاد موید این مطلب است که بذر سطح بیان ژن پراکسیداز را برای مقابله با فرسودگی، بالا نگه می‌دارد و توان مهار عواملی فرسودگی را دارد. درحالی‌که بیان ژن آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در این تیمار نسبت به پراکسیداز در سطح پایین‌تری قرار داشت. کاهش فعالیت کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز منجر به افزایش پراکسید هیدروژن و سوپراکسید می‌شود که این امر سبب مهار آنزیم‌های حساسی چون CAT و SOD می‌گردد. با افزایش میزان فرسودگی، به موازات فعالیت POX و به دنبال آن تولید بیش‌تر پراکسید هیدروژن، CAT و SOD فعالیت خود را افزایش دادند و فعالیت آن‌ها نیز در فرسودگی ۸۸ درصد و تیمار پرایمینگ با جیبرلین به بیش‌ترین مقدار خود رسید و در پی آن مهار پراکسید هیدروژن موجود در محیط رخ داد. اما افزایش بیش‌تر فرسودگی موجب کاهش بیان ژن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت شد. این کاهش نیز می‌تواند به‌دلیل تخریب ساختارهای تولیدکننده آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت توسط رادیکال‌های سمی یا به عبارتی عاملی برای غیر فعال‌شدن یا تخریب آنزیم‌ها باشد (Shim *et al*., 2003).

ویتوریا و همکاران (Vitoria *et al*., 2001) گزارش کردند که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت ناشی از کاربرد جیبرلین می‌تواند ناشی از افزایش القای رونویسی ژن و سنتز پروتئین آنزیم و یا به واسطه تغییرات پس از ترجمه‌ی پروتئین آنزیم‌های موجود باشد. گزارش شده است که پرایمینگ می‌تواند با تغییر در بیان ژن باعث افزایش فعالیت‌های بیوشیمیایی در گیاهچه نخود گردد. تغییر در توزیع درون سلولی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در رابطه با حساسیت ایزوزیم‌های مختلف ممکن است استراتژی محافظتی کاراتری نسبت به افزایش فعالیت آنزیم باشد (Foyer *et al*., 1994).

در کل، سطح بیان ژن آنزیم‌ها در شرایط فرسودگی بالا بوده و پرایمینگ فعالیت این ژن‌ها را افزایش می‌دهد. در واقع تغییر بیوشیمیایی و فیزیولوژیک مانند سنتز ماکرومولکول‌ها، افزایش قدرت جوانه‌زنی و شکست خواب و انتقال مواد ذخیره‌ای، فعال‌سازی و بازسازی برخی از آنزیم‌ها، سنتز DNA و RNA، تولید ATP و بهبود سیستم غشایی آسیب دیده در طی پیش‌تیمارکردن رخ می‌دهد (McDonald, 1998; Sung and Chang, 1993).

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش با وجود این‌که اسید سالیسیلیک توانست به جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های فرسوده کمک کند، اما تاثیر کاربرد جیبرلین بیش‌تر از این هورمون بود. بنابراین، در بذرهای فرسوده لوبیا می‌توان از پیش‌تیمار اسید جیبرلیک جهت تقویت قدرت بذر استفاده کرد. افزایش بیان ژن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در شرایط فرسودگی و کاهش محتوای رادیکال‌های آزاد در سلول باعث بهبود قدرت بذر می‌شود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مسئولین دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

Abbasdokht, H. and Edalat Pishe, M. 2008. Priming: types and its role in agriculture. Proceeding of the first national conference on seed science and technology in Iran, Gorgan University of Agriculture and Natural Resources. (In Persian)**(Handbook)**

Amanpour-Balaneji, B. and Sedghi, M. 2012. Effect of aging and priming on physiological and biochemical traits of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Notulae Scientia Biologicae, 4: 95-100. **(Journal)**

Anonymous, 2008. Food Outlook, Global Market Analysis. http://www.fao.food outlook.com. **(Website)**

Bailly, C., Benamer, A., Cornineau, F. and Come, D. 2000. Antioxidant systems in sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds as affected by priming. Seed Science Research, 10: 35-42. **(Journal)**

Basra, A.S., Farooq, M., Afzal, I. and Hussain, M. 2006. Influence of osmopriming on the germination and early seedling growth of coarse and fine rice. International Journal of Agriculture Biology, 8: 19-21. **(Journal)**

Bradford, K.J. 1995. Water relations in seed germination. In "Seed Development and Germination" (J. Kigel and G. Galili, Eds.). pp: 351-396. Marcel Dekker Inc., New York. **(Book)**

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

Deloche, J.C. and Baskin, C.C. 1972. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. Seed Science and Technology, 1: 427-452. **(Journal)**

Driscol, L.O. 2011. Gene Expression profiling- Methods and Protocols, 2nd Edition. Humana Press. Springer protocols. pp. 27. **(Book)**

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

Espin, G.B., Vivancos, P.D., Job, D., Belghazi, M., Job, C. and Hernandez, J.A. 2011. Understanding the role of H2O2 during pea seed germination: a combined proteomic and hormone profiling approach. Plant Cell and Environment, 34: 107-119. **(Journal)**

Farooq, M., Basra, S.M.A., Warraich, E.A. and Khaliq, A. 2006 (b). Optimization of hydropriming techniques for rice seed invigoration. Journal of Seed Science Technology, 34: 529-534. **(Journal)**

Foyer, C.H., Lelandais, M. and Kunert, K.J. 1994. Photooxidative stress in plants. Physiologia Plantarum, 92: 696-717. **(Journal)**

Gill, S.S. and Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry, 48(12): 909-930. **(Journal)**

Hampton, J.G. 2003. Methods of viability and vigour testing: a critical and appraisal. In: A.S. Basra, (Ed.). Seed Quality. Basic Mechanisms and Agricultural Implications, CBS Publishers and Distributers, New Delhi, India, pp: 81-118. **(Book)**

Hasstrup, P.I., Jourgenson, P.E. and Ploulsen, I. 1993. Effect of seed vigor and ormancy of field emergency development and grain yield of winter bit and winter barley. Seed Science and Technology, 21: 159-178. **(Journal)**

Hill, H.J. 1999. Advances in seed technology. Seed Dynamics, Inc. Journal of New Seeds, 1(1): 12-19. **(Journal)**

Hopper, N.W., Overholt, J.R. and Martin, J.R. 1979. Effect of cultivar, temperature and seed size on the germination and emergence of soybeans (G*lycine max* (L.) Merr sp.). Annals of Botany, 44: 301-308. **(Journal)**

Hsu, C.C., Chen, C.L., Chen, J.J. and Sung, J.M. 2003. Accelerated aging-enhanced lipid peroxidation in bitter gourd seeds and effects of priming and hot water soaking treatments. Scientia Horticulture, 98: 201-212. **(Journal)**

ISTA. 2012. International Rules for Seed Testing. Bassersdorf, Switzerland: The International Seed Testing Association (ISTA). **(Handbook)**

Jain, N., Koopar, R., Saxena, S. 2006. Effect of accelerated ageing on seeds of radish (*Raphanus sativus* L.). Asian Journal of Plant Sciences, 5: 461-464. **(Journal)**

Kar, R.K. 2011. Plant responses to water stress: role of reactive oxygen species. Plant Signal Behavior, 6(11): 1741-1745. **(Journal)**

Kaur, S., Gupte, A.K. and Kaur, N. 2003. Priming of chickpea seeds with water and mannitol overcomes the effect of salt stress on seedling growth. International Chickpea and Pigeon pea Newsletter, 10: 18-20. **(Journal)**

Livak, K.J. and Schmittgen, T.D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. Methods, 25: 402-408. **(Journal)**

Macdonald, M.B., Floyd, C.D. and Waniska, R.D. 2004. Effect of accelerated aging on maize, sorghum and sorghum. Journal of Cereal Science, 39: 301-351. **(Journal)**

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

Mahmodi Jaraghili, P., Mohajl Shojah, H. and Mohajl Kazemi, E. 2016, Evaluation of the effect of salinity on germination rate and expression of antioxidant genes in two cultivars of tomato plant. Genetic Engineering and Biological Safety, 5(1): 51-59. **(Journal)**

McDonald, M.B. 1998. Seed quality assessment. Seed Science Research, 8: 265-275. **(Journal)**

Majnoun Hoseini, N. 2008. Grain legume production, 4th ed. University Jihad Press, Tehran. (In Persian)**(Book)**

Nelson, C.P. 2000. Water potential: The key to successful seed priming. Decagon Devices, Inc. AN4101-10. **(Book)**

Nims, E., Dubois, C.P., Roberts, S.C. and Walker, E.L. 2006. Expression profiling of genes involved in paclitaxel biosynthesis for targeted metabolic engineering. Metabolic Engineering, 8: 385-394. **(Journal)**

Niño-Sánchez, J., Tello, V., Casado-del Castillo, V., Thon, M.R., Benito, E.P. and Díaz-Mínguez, J.M. 2015. Gene expression patterns and dynamics of the colonization of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by highly virulent and weakly virulent strains of *Fusarium oxysporum*. Frontiers in Microbiology, 6: 1-14. **(Journal)**

Pylee, Y., Baek, K.H., Lee, H.S., Kwak, S.S., Bang, J.W. and Kwon, S.Y. 2010. Tobacco seeds simultaneously over-expressing Cu/Zn SOD and APX display enhanced seed longevity and germination rates under stress conditions. Journal of Experimental Botany, 61(9): 2499-2506. **(Journal)**

Radha, B.N., Channakeshava, B.C., Bhanuprakash, K., Pandurange, K.T., Ramachandrappa, B.K. and Munirajappa, R. 2014. DNA damage during seed ageing. Journal of Agriculture and_Veterinary Science, 34-39. **(Journal)**

Sedghi, M., Nemati, A., Amanpour-Balaneji, B. and Gholipouri, A. 2010(a). Influence of different priminig materials on germination and seedling establishment of Milk Thistle (*Silybum marianum*) under salinity stress. World Applied Sciences Journal, 11(5): 604-609. **(Journal)**

Shim, I.S., Momose, Y., Yamamoto, A., Kim, D.W. and Usui, K. 2003. Inhibition of catalase activity by oxidative stress and its relationship to salicylic acid accumulation in plants. Plant Growth Regulation, 39(3): 285-292. **(Journal)**

Soltani, A., Gholipoor, M. and Zeinali, M. E. 2006. Seed reserve utilization and seedling growth of Wheat as affected by drought and salinity. Environmental and Experimental Botany, 55: 195-200. **(Journal)**

Soltani, E., Kamkar, B., Galeshi, S. and Akram Ghaderi, F. 2008. The effect of seed deterioration on seed reserves depletion and heterotrophic seedling growth of wheat. Journal of Agricultural Science and Natural Resources, 15(1): 193-196. **(Journal)**

Sung, F.J. and Chang, Y.H. 1993. Biochemical activities associated with priming of sweet corn seeds to improve vigor. Seed Science and Technology, 21: 97-105. **(Journal)**

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

Vitoria, A.P., Lea, P.J. and Azevedo, R.A. 2001. Antioxidant enzymes responses to cadmium in radish tissues. Phytochemistry, 57: 701-710. **(Journal)**

Wang, H.Y., Chen, C.L. and Sung, J.M. 2003. Both warm water soaking and solid priming treatments enhance anti-oxidation of bitter gourd seeds germinated at sub-optimal temperature. Seed Science and Technology, 31: 47-56. **(Journal)**

Warraich, E.A., Basra, S.M.A., Ahmad, N., Ahmad, R. and Aftab, M. 2002. Effect of Nitrogen on Grain Quality and Vigour in Wheat (*Triticum aestivum* L.). International Journal of Agriculture and Biology, 4(4): 517-520. **(Journal)**

Wei, S. 2014. Comparative Analysis of Gene Expression in Two Muskmelon Cultivars (*Cucumis melo* L.) under salt stress. Journal of Integrative Agriculture, 13: 2132-2140. **(Journal)**

Yazdi Samadi, B. and Valizadeh, M. 2007. Genetic from a molecular point of view. Tehran University Press. pp: 447. (In Persian)**(Book)**

Effect of seed priming and aging on germination, biochemical traits and antioxidant enzyme gene expression in common bean (*Phaseolus vulgaris* l.)

Tayebeh Saadat[1], Mohammad Sedghi[2]*, Abdolghayoum Gholipouri[3], Raouf Seyed Sharifi[2], Roghayyeh Sheykhbaglou[4]

Received: December 19, 2017 Accepted: September 17, 2018

Abstract

In order to investigate the effect of priming and aging on seed germination and biochemical constituents of common bean seed a factorial experiment was conducted based on completely randomized design at the University of Mohaghegh Ardabili in 2016 with 3 replications. Treatments were aging (control without aging, 88% and 78% of germination of control) and priming (control, hydro-priming, priming by gibberellin and salicylic acid). After RNA extraction and cDNA synthesis, gene expression of antioxidant enzymes was studied using qRT-PCR and some of physiological and biochemical traits were measured. The results showed that the longest radicle and plumule, the highest radical and plumule fresh and dry weight and the highest phosphate reserves was related to gibberellin priming and non-aged seeds. Also, peroxidase gene expression was higher in salicylic acid pret-reatment with 88% aging level than the other antioxidant enzymes. With increasing the aging there was a reduction trend in the gene expression and the lowest expression observed for peroxidase in non-primed seeds in 78% of germination. In conclusion, priming with gibberellin caused to invigoration of weak bean seeds.

Keywords: Antioxidant enzymes; Gene expression; Gibberellin; Salicylic acid; Phosphate

How to cite this article

Saadat, T., Sedghi, M., Gholipouri, A., Seyed Sharifi, R. and Sheykhbaglou, R. 2020. Effect of seed priming and aging on germination, biochemical traits and antioxidant enzyme gene expression in common bean (*Phaseolus vulgaris* l.). Iranian Journal of Seed Science and Research, 7(1): 1-13. (In Persian)(**Journal)**
DOI: 10.22124/ims.2020.4267

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. M.Sc. Student of Agronomy, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabili, Iran.
2. Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabili, Iran.
3. Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabili, Iran.
4. Ph.D. student, Department of Agronomy and Plant Breeding, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabili, Iran.
*Corresponding author: m_sedghi@uma.ac.ir