علوم و تحقیقات بذر ایران
سال هفتم/ شماره دوم/ ۱۳۹۹ (۲۱۵ - ۲۰۵)

DOI: 10.22124/jms.2020.4558

اثر پیش‌تیمار مدت آبنوشی و امواج فراصوتی بر جوانه‌زنی و خصوصیات بیوشیمیایی بذر سرخارگل (*Echinacea purpurea* L.)

فاطمه رسولی*[۱]، منوچهر قلی‌پور[۲]، حمیدرضا اصغری[۲] و محبوبه حجتی[۳]

تاریخ دریافت: ۹۷/۴/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۰/۲۴

چکیده

پیش‌تیمار بذرها با امواج فراصوتی یکی از روش‌های بیوفیزیکی پرایمینگ بذر می‌باشد، پیش‌خیساندن بذر در آب نیز یکی از روش‌های بهبود جوانه‌زنی می‌باشد. از این رو به‌منظور بررسی اثر پیش‌تیمار مدت آبنوشی و امواج فراصوتی بر جوانه‌زنی و خصوصیات بیوشیمیایی بذر سرخارگل آزمایشی در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با ۸ تیمار و ۳ تکرار انجام شد. نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اعمال تیمار بر تمام صفات در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان جوانه‌زنی به‌ترتیب در پیش‌تیمار امواج فراصوتی و شش ساعت آبنوشی با میانگین ۹۷/۳ و تیمار شاهد با میانگین ۸۴ درصد مشاهده شد. بیش‌ترین میزان پروتئین محلول در پیش‌تیمار امواج فراصوتی - شش و نه ساعت آبنوشی با میانگین‌های ۴۳/۶ و ۴۲/۸ و کم‌ترین میزان آن نیز در تیمار شاهد با میانگین ۲۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر مشاهده شد. پیش‌تیمار امواج فراصوتی و آبنوشی در همه موارد میزان قند کل بیش‌تری را نسبت به عدم پیش‌تیمار امواج فراصوتی و آبنوشی نشان داد، پیش‌تیمار امواج فراصوتی صفر و آبنوشی صفر، پیش‌تیمار امواج فراصوتی و آبنوشی صفر به‌ترتیب بیش‌ترین مقادیر نشاسته را با میانگین‌های ۶/۵ و ۵/۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر و کم‌ترین میزان آن نیز در تیمار پیش‌تیمار امواج فراصوتی و شش ساعت آبنوشی با میانگین ۳/۰۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر مشاهده شد، در نهایت پیش‌تیمار امواج فراصوتی بذرها به همراه آبنوشی توانست درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر سرخارگل را بهبود بخشد.

واژه‌های کلیدی: پروتئین محلول، درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، قندها

۱- دانشجوی دکتری اکولوژی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران
۲- دانشیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران
۳- کارشناسی ارشد اکولوژی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران
*نویسنده مسئول: F.rasouli86@gmail.com

مقدمه

سرخارگل (*Echinacea purpurea* L.) گیاهی علفی، چندساله، از خانواده Asteraceae است. این گیاه بومی آمریکای شمالی است، ولی امروزه در اکثر نقاط اروپا، آسیا و همچنین ایران کشت می‌شود. در سال‌های اخیر این گیاه ب دلیل خواص ضدویروسی، ضد قارچی و ضد باکتریایی شهرت جهانی یافته است و ترکیبات حاصل از آن در گروه مواد تقویت‌کننده سیستم ایمنی بدن به‌شمار می‌رود. همچنین فرآورده‌های سرخارگل ب عنوان تصفیه-کننده خون، ضدعفونی‌کننده و آرامبخش معرفی شده است (Cheryl-Kaiser *et al*., 2015).

پرایمینگ بذر شامل روش‌های بسیار ساده‌ای است که می‌تواند در جوانه‌زنی بهتر و استقرار مطلوب گیاهچه مؤثر باشد (Akram-Qaderi *et al*., 2009). یکی از روش‌های بیوفیزیکی پرایمینگ بذر، پیش‌تیمار بذرها با امواج فرا-صوتی می‌باشد (Chen *et al*., 2012). امواج فراصوتی، امواج مکانیکی با فرکانس بیش از ۲۰ KHZ هستند که دارای انرژی بالایی بوده و می‌توانند سبب بالا رفتن دمای بافت‌ها شوند (Lipiec *et al*., 2004). امواج فراصوتی سبب نفوذپذیری پوسته بذر و تسریع در جذب آب و بالا رفتن دمای بافت‌ها می‌شوند، افزایش دمای بافت‌ها موجب تسریع در سرعت واکنش‌های بیوشیمیایی جوانه‌زنی می-گردد، افزایش جذب آب نیز باعث شتاب در آماس بذرهای پیش‌تیمار شده با امواج فراصوتی می‌گردد که به‌دنبال آن تغییرات محسوسی در متابولیسم بذر رخ می‌دهد (Yaldagard *et al*., 2008). گزارش شده است که اعمال تیمار با امواج فراصوتی بر روی گیاه جو سبب تحریک، افزایش جوانه‌زنی و عملکرد بذرهای جو گردید. پیش‌تیمار بذرها با امواج فراصوتی سبب تسریع ۲ تا ۳ روزه جوانه‌زنی بذرهای پیش‌تیمار شده نسبت به شاهد گردید. گزارش شده است که دلیل افزایش ظرفیت جوانه‌زنی بذرها به شتاب و سرعت مراحل فیزیولوژیک و مورفولوژیک در بذر-ها به‌ویژه افزایش سرعت جذب آب مربوط می‌باشد. امواج فراصوتی، قدرت بذر گیاهان مختلف را افزایش می‌دهد، اما شرایط بهینه اعمال تیمار با امواج فراصوتی در گونه‌های مختلف متفاوت می‌باشد (Chen *et al*., 2012). در گیاه جو گزارش شده است که پیش‌تیمار با امواج فراصوتی در دمای ۳۰ °C، ۴۶۰ وات و ۱۵ دقیقه حداکثر جوانه‌زنی را در پی داشت (Yaldagard *et al*., 2008). بهترین زمان پیش‌تیمار با امواج فراصوتی در نخود، گندم و هندوانه به ترتیب ۴۵، ۳۰ و ۵ دقیقه گزارش شد (Machikowa *et al*., 2013). امواج فراصوتی باعث افزایش شاخص‌های رشد به‌ویژه طول ریشه در گیاهچه می‌شود، که این عمل می‌تواند در کسب رطوبت و مواد غذایی از محیط نقش بسزایی داشته باشد.

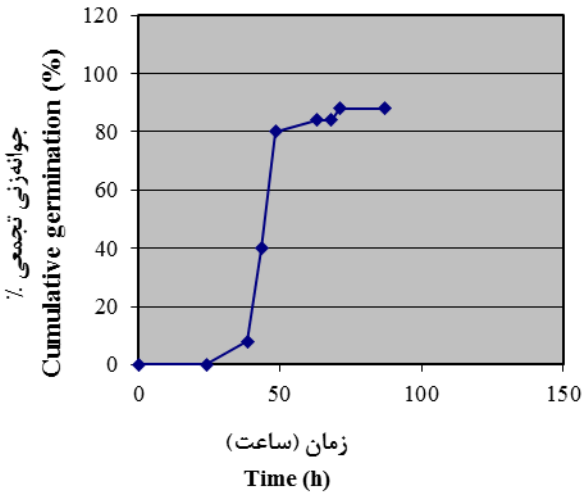
پیش‌خیساندن بذر در آب نیز یکی از روش‌های مناسب جهت افزایش جوانه‌زنی می‌باشد، پیش‌خیساندن بذر سبب تسریع در جذب آب توسط بذر و آغاز اولیه سریع‌تر وقایع مرتبط با جوانه‌زنی می‌گردد و در نهایت سرعت، یکنواختی و حداکثر جوانه‌زنی بالای بذر را سبب می‌گرد. آبنوشی بذر اجازه فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک از جمله آمیلازها جهت شکستن نشاسته، پروتئاز برای تجزیه پروتئین و لیپاز جهت شکستن لیپیدها را می‌دهد. ترکیب عمل آنزیم‌های هیدرولیتیک موجب فراهم‌شدن قندهای اصلی، آمینواسیدها و اسیدهای چرب شده و انتقال آن‌ها به محور جنینی را به دنبال دارد. پیش‌تیمار بذرها موجب افزایش رشد گیاهچه می‌شود، بخش‌های آسیب‌دیده بذور را ترمیم می‌کند، این عوامل می‌تواند میزان و یکنواختی جوانه‌زنی بذرها و ظهور گیاهچه را بهبود بخشد (Omidi *et al*., 2005).

جوانه‌زنی بذرهای سرخارگل بسیار پایین می‌باشد، کشت مستقیم بذر سرخارگل موجب جوانه‌زنی پایین و غیرقابل قبولی می‌گردد. اسمیت جاچوم و آلبرت Smith-(Jochum and Albrecht, 1987) در آزمایش مزرعه‌ای سرخارگل، جوانه‌زنی کم‌تر از ۱۰ درصد بذور سرخارگل را گزارش نمودند. یکی از دلایل این امر نفوذپذیری کم غشای داخلی بذر سرخارگل می‌باشد که این امر باعث خواب فیزیکی در بذر سرخارگل می‌گردد Atwater, (1980). خواب بذر سرخارگل ترکیبی از دو نوع کمون فیزیولوژیک به‌همراه خواب فیزیکی است (Bayat *et al*., 2014). لذا با توجه به اهمیت بذر به‌عنوان یک نهاده مهم کشاورزی و نقش کلیدی بذرها در داشتن تراکم مناسب، هدف از این پژوهش بررسی اثر پیش‌تیمار مدت آبنوشی و امواج فراصوتی بر جوانه‌زنی و برخی خصوصیات بیوشیمیایی بذر سرخارگل بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه بذر سرخارگل از رقم *Echinacea purpurea* L. از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه و استفاده شد. به‌منظور بررسی اثر پیش‌تیمار مدت آبنوشی (I) و امواج فراصوتی (W) بر جوانه‌زنی و خصوصیات بیوشیمیایی بذر سرخارگل آزمایشی در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با ۸ تیمار و ۳ تکرار در سال ۱۳۹۶ در آزمایشگاه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود انجام شد. تیمارها آزمایش شامل آبنوشی صفر و پیش‌تیمار امواج فراصوتی صفر به‌عنوان شاهد (I_0W_0)، آبنوشی صفر و امواج فراصوتی (I_0W)، آبنوشی سه ساعت و امواج فراصوتی صفر (I_3W_0)، آبنوشی سه ساعت و امواج فراصوتی (I_3W)، آبنوشی شش ساعت و امواج فراصوتی صفر (I_6W_0)، آبنوشی شش ساعت و امواج فراصوتی (I_6W)، آبنوشی نه ساعت و امواج فراصوتی صفر (I_9W_0)، آبنوشی نه ساعت و امواج فراصوتی (I_9W) با ۳ تکرار انجام شد. علت عدم اجرای آزمایش به‌صورت فاکتوریل، یافتن بهترین ترکیب تیماری مدت آبنوشی و امواج فراصوتی بود و تحلیل ماهیت برهمکنش آن‌ها مد نظر تحقیق نبوده است. اعمال تیمار امواج فراصوتی با دستگاه التراسونیک (Elmasonic, S30 H, Germany) ساخت آلمان با قدرت ۵۰ وات بعد از تیمار آبنوشی انجام شد، دستگاه التراسونیک از امواج مکانیکی و صوتی استفاده می‌کند، نحوه کار دستگاه به این شکل است که بذرها در یک مایع واسطه (آب) غوطه‌ور می‌باشند. این مایع توسط امواج التراسونیک مرتعش می‌گردد، ارتعاش پی در پی جذب آب و نیز دمای آب اطراف بذر را بالا می‌برد، بعد از پایان اعمال تیمار با امواج فراصوتی ۲۵ عدد بذر سرخارگل درون هر پتری‌دیش قرار داده شد. ۸ تیمار در اتاقک رشد در دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفت و از بذرهای تازه جوانه‌زده پس از ۶ روز اعمال تیمار برای اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی استفاده شد.

در کلیه تیمارهای دمایی، برای هر تکرار منحنی پیشرفت جوانه‌زنی در مقابل زمان (ساعت) ترسیم و زمان لازم برای ۵۰ درصد (D_{50}) جوانه‌زنی از طریق درون‌یابی برآورد گردید (Soltani and Maddah, 2010). درصد جوانه‌زنی با تقسیم تعداد بذرهای جوانه‌زده به کل تعداد بذرهای مورد استفاده ضرب در ۱۰۰ به‌دست آمد. محاسبات مورد نیاز با استفاده از برنامه جرمین (Germin) انجام شد (Soltani and Maddah, 2010).



شکل ۱- منحنی پیشرفت جوانه‌زنی در مقابل زمان

Figure 1. Germination progression curve various time

استخراج قندها: استخراج قندهای محلول از روش اموکولو و همکاران (Omokolo *et al.*, 1996) انجام شد.

اندازه‌گیری قند کل: اندازه‌گیری قند کل از روش مک کریدی و همکاران (McCready *et al.*, 1950) صورت گرفت. برای این کار ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره الکلی تغلیظ‌شده، ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر با ۳ میلی‌لیتر معرف آنترون مخلوط و به‌مدت ۲۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۹۵ درجه سلسیوس قرار گرفت. میزان جذب نور پس از سردشدن در طول موج ۶۲۰ نانومتر قرائت شد.

اندازه‌گیری قندهای احیایی: اندازه‌گیری قند احیایی از روش میلر (Miller, 1959) صورت گرفت. برای این کار ۱/۵ میلی‌لیتر از عصاره تغلیظ‌شده حاوی قندهای محلول

با ۱/۵ میلی‌لیتر از معرف دی‌نیتروسالیسیلیک اسید مخلوط شده و به‌مدت ۲۰ دقیقه در بن‌ماری در دمای ۹۰ درجه سلسیوس قرار گرفت. پس از آن بلافاصله ۰/۵ میلی‌لیتر پتاسیم سدیم تارتارات ۴۰ درصد به آن افزوده شده و پس از سردشدن لوله‌ها، جذب نور در طول موج ۵۷۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (Unico, chines) قرائت گردید.

اندازه‌گیری قندهای غیراحیایی: برای اندازه‌گیری قندهای غیراحیایی از روش ارائه شده توسط هاندل (Handel, 1968) استفاده شد. برای این منظور ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره الکلی تغلیظ‌شده با ۰/۱ میلی‌لیتر هیدروکسید پتاسیم ۳۰ درصد مخلوط شده و به‌مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. پس از سردشدن لوله‌ها، ۳ میلی‌لیتر معرف آنترون به آن افزوده و به‌مدت ۲۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۴۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند، سپس جذب نور هر یک از نمونه‌ها در طول موج ۶۲۰ نانومتر قرائت شد.

اندازه‌گیری نشاسته: برای اندازه‌گیری نشاسته از روش مک کریدی و همکاران (McCready *et al*., 1950) استفاده شد. در این روش، ۰/۲ میلی‌لیتر از عصاره حاوی نشاسته با ۳ میلی‌لیتر از معرف آنترون مخلوط و به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس قرار گرفت. پس از سردشدن لوله‌ها جذب نور آن‌ها در طول موج ۶۲۰ نانومتر قرائت شد.

استخراج و اندازه‌گیری پروتئین محلول: استخراج پروتئین محلول از روش برادفورد (Bradford, 1976) انجام شد. برای اندازه‌گیری پروتئین محلول، ۵۰ میکرولیتر از عصاره پروتئینی به لوله‌های فالکون منتقل و به آن ۵۰ میکرولیتر آب مقطر اضافه شد. به محلول حاصل ۵ میلی‌لیتر معرف برادفورد اضافه و به‌مدت ۲ دقیقه ورتکس شد. بعد از ۲۰ دقیقه، میزان جذب نور در طول موج ۵۹۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد.

داده‌های به‌دست‌آمده از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.2 مورد تجزیه آماری قرار گرفتند و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که اثر آبنوشی و پیش‌تیمار امواج فراصوتی با احتمال ۹۹ درصد بر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، میزان پروتئین محلول، قند کل، قند احیایی، غیراحیایی و نشاسته در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود.

جدول ۱- تجزیه واریانس درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، قند کل، قند احیایی و غیر احیایی، نشاسته و پروتئین محلول

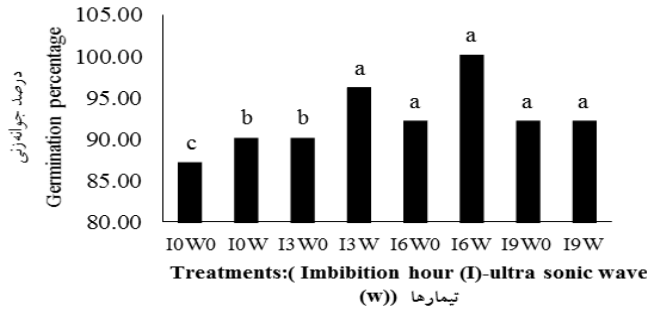
Table 1. Analyze of Variance germination percent and rate, total sugar, reduction and non-reduction sugar, starch and soluble protein

منبع تغییرات S.O.V	df	میانگین مربعات Mean square						
		درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	قند کل Total sugar	قند احیایی Reduction sugar	قند غیر احیایی Non-reduction sugar	نشاسته Starch	پروتئین محلول Soluble protein
تیمار (Treatment)	7	540 **	0.00001**	0.09**	360690**	0.03**	3.6 **	1400**
خطا (Error)	16	7.3	0.000001	0.004	516	0.044	0.09	5.43
CV (%)		2.9	7.3	4.1	7.7	3.5	6.35	6.45

** معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد

**: significant at 1 percent probability level

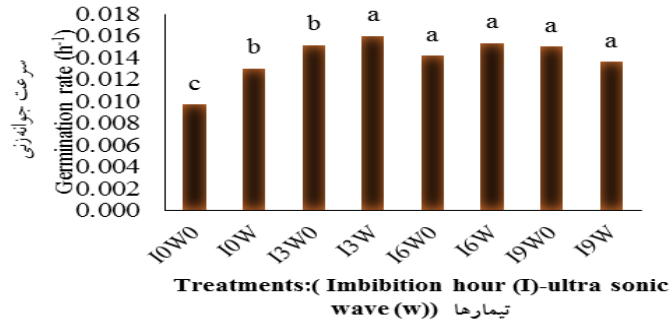
درصد جوانه‌زنی: شکل ۲ مقایسه میانگین اثر مدت‌های مختلف آبنوشی و پیش‌تیمار امواج فراصوتی را بر درصد جوانه‌زنی بذر سرخارگل را نشان می‌دهد. در همه تیمار-های آبنوشی و پیش‌تیمار امواج فراصوتی درصد جوانه‌زنی نسبت به شاهد بهبود یافته بود. گزارش شده است که جذب اولیه آب تا حد فاز دو موجب نسخه‌برداری اولیه DNA، افزایش سنتز RNA، پروتئین، قابلیت دسترسی بیشتر به ATP می‌گردد (Omidi *et al*., 2005). در نتیجه تسریع در وقایع بیوشیمیایی جوانه‌زنی رخ داده و موجب افزایش حداکثر و سرعت جوانه‌زنی می‌گردد. پروار و همکاران (Paraver *et al*., 2008) نیز بیان نمودند پیش‌تیمار بذرهای سرخارگل با آب مقطر به‌مدت ۱۰ ساعت باعث افزایش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی می‌شود.



شکل ۲- اثر مدت آبنوشی (I) و امواج فراصوتی (W) بر درصد جوانه‌زنی، Lsd=۴/۷

Figure 2. The effect of imbibition time (I) and ultrasonic wave (W) on germination percentage, LSD=0.47

سرعت تا پنجاه درصد جوانه‌زنی: در شکل ۳ مقایسه میانگین اثر مدت‌های مختلف آبنوشی و پیش‌تیمار امواج فراصوتی بر سرعت تا پنجاه درصد جوانه‌زنی بذر سرخارگل ارائه شده است، بیش‌ترین سرعت تا پنجاه درصد جوانه‌زنی در تیمار آبنوشی سه ساعت و امواج فراصوتی با میانگین ۰/۰۱۷ در ساعت و کم‌ترین آن نیز در تیمار آبنوشی صفر و پیش‌تیمار امواج فراصوتی صفر با میانگین ۰/۰۱ در ساعت مشاهده گردید. آبنوشی و امواج فراصوتی در اغلب موارد سرعت جوانه‌زنی بذر سرخارگل را بهبود بخشیده بود. سرعت جوانه‌زنی یکی از شاخص‌های مهم در تعیین کیفیت بذر می‌باشد و هر چه بذرها بتوانند در مدت زمان کم‌تری، درصد جوانه‌زنی بیش‌تری داشته باشند، از سرعت جوانه‌زنی بیش‌تری نیز برخوردار خواهند بود. قدرت بیش‌تر بذرها سبب افزایش سرعت جوانه‌زنی آن‌ها می‌گردد. بذرهای دارای قدرت بیش‌تر کارکرد بهتری داشته و در نتیجه درصد و سرعت جوانه‌زنی آن‌ها تحت شرایط تنش‌های مختلف محیطی بیش‌تر شده و در نهایت درصد سبز و عملکرد بالاتری در مزرعه دارند (Soltani *et al.*, 2006). یکی از عوامل دستیابی به عملکرد بالا در گیاهان زراعی، افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی بذرها و استقرار گیاهچه‌های حاصل از بذرهای کشت شده است. به‌طور طبیعی هر چه سرعت جوانه‌زنی و درصد بذرهای جوانه‌زده در مزرعه بیش‌تر باشد استفاده از منابع رشد نظیر نور، آب و عناصر غذایی بهتر خواهد بود (Foti *et al.*, 2002).

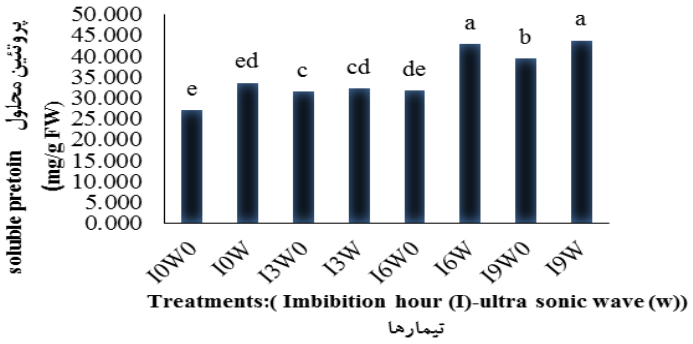


شکل ۳- اثر مدت آبنوشی (I) و امواج فراصوتی (W) بر سرعت جوانه‌زنی، Lsd=./۰۰۲

Figure 3. The effect of imbibition time (I) and ultrasonic wave (W) on germination rate, LSD=0.002

پروتئین محلول: شکل ۴ اثر مدت‌های مختلف آبنوشی و پیش‌تیمار امواج فراصوتی را بر پروتئین محلول گیاهچه سرخارگل نشان می‌دهد. آبنوشی و امواج فراصوتی در و امواج فراصوتی با میانگین ۴۳/۶ و ۴۲/۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر گیاهچه و کم‌ترین میزان آن در تیمار آبنوشی صفر و پیش‌تیمار امواج فراصوتی صفر یا شاهد با میانگین ۲۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر مشاهده شد. امواج فراصوتی بیش‌تر موارد توانست میزان پروتئین محلول را افزایش دهد. بیش‌ترین میزان پروتئین محلول در تیمارهای آبنوشی شش ساعت و امواج فراصوتی و آبنوشی نه ساعت به‌همراه آبنوشی اثر بیش‌تری بر میزان پروتین محلول داشت. آبنوشی‌کردن بذرها موجب تسریع در مراحل یک، دو و سه جوانه‌زنی می‌گردد، به مجرد جذب آب تغییرات محسوسی در فعالیت‌های آنزیمی رخ می‌دهد، امواج

فراصوتی نیز دارای انرژی بالایی هستند به‌همین دلیل سبب بالا رفتن دمای بافت‌ها و افزایش سرعت واکنش‌های بیوشیمیایی جوانه‌زنی می‌گردند (Lipiec *et al*., 2004). چن و همکاران (Chen *et al*., 2012) افزایش در سرعت جوانه‌زنی در بذرهای تیمارشده با امواج فراصوتی را به افزایش فعالیت آنزیم‌های دهیدروژناز و پروتئاز در بذرهای نسبت دادند. پروتئاز باعث کاهش پروتئین‌های ذخیره‌ای در بذرهای در حال جوانه‌زنی می‌شود که این کاهش با فعالیت آندو پروتئازها شروع شده، این آنزیم‌ها پروتئین-های ذخیره‌ای نامحلول را به پپتیدهای محلول تبدیل می-کند (Chen *et al*., 2012).



شکل ۴- اثر مدت آبنوشی (I) و امواج فراصوتی (W) بر میزان پروتئین محلول، Lsd=۴/۰۳

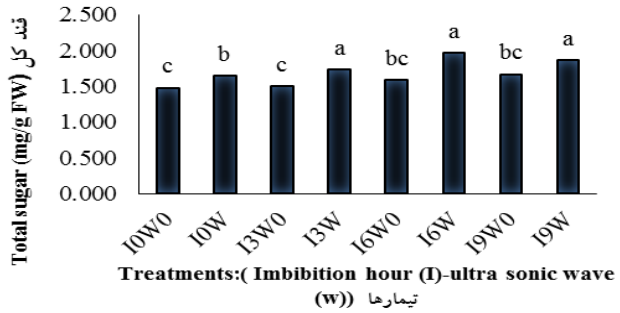
Figure 4. The effect of imbibition time (I) and ultrasonic wave (W) on soluble protein, LSD=4.03

میزان قند کل: شکل ۵ اثر مدت‌های مختلف آبنوشی و پیش‌تیمار امواج فراصوتی را بر میزان قند کل گیاهچه سرخارگل نشان می‌دهد. بیش‌ترین میزان قند کل در تیمارهای I_3W، I_6W و I_9W با میانگین ۱/۹، ۱/۸۸ و ۱/۸۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر مشاهده شد. آبنوشی سبب افزایش میزان قند کل گردید اما افزایش قند کل در تیمارهایی که علاوه بر آبنوشی با امواج فراصوتی پیش-تیمار شده بودند، بیش‌تر بود و در مدت‌های ۳، ۶ و ۹ ساعت آبنوشی به‌همراه امواج فراصوتی در یک سطح قرار داشتند که می‌توان این افزایش را به اثر امواج فراصوتی نسبت داد. گزارش شده است که امواج فراصوتی، قدرت بذر گیاهان مختلف را افزایش می‌دهد (Chen *et al*., 2012). امواج فراصوتی سبب نفوذپذیری پوسته بذر و افزایش دمای بافت‌ها می‌گردد (Lipiec *et al*., 2004). تسریع در فرآیند آبگیری بافت‌های بذر به هنگام جوانه‌زنی بذر به‌همراه افزایش دمای بافت‌ها تحت اثر امواج فراصوتی، سبب تسریع فرایندهای بیوشیمیایی جوانه‌زنی از جمله شکستن کربوهیدرات‌ها به قندها گردید. افزایش فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز و افزایش میزان قندهای محلول در نتایج یلدگارد و همکاران (Yaldagard *et al*., 2008) در گیاه جو پس از پیش‌تیمار با امواج فراصوتی گزارش شده است.

قندهای احیایی: در شکل ۶ مقایسه میانگین اثر مدت-های مختلف آبنوشی و پیش‌تیمار امواج فراصوتی بر میزان قند احیایی گیاهچه سرخارگل ارائه شده است. امواج فراصوتی به‌همراه مدت‌های آبنوشی میزان قند احیایی بیش‌تری را نسبت به عدم پیش‌تیمار امواج فراصوتی نشان داد. تیمار I_6W با میانگین ۲/۰۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بیش‌ترین میزان قند احیایی رانشان داد و تیمار شاهد در رده آخر قرار گرفت. افزایش دمای بافت‌ها تحت تأثیر امواج فراصوتی (Lipiec *et al*., 2004) سبب افزایش سرعت تجزیه کربوهیدرات‌ها و تبدیل آن‌ها به قندها از جمله قندهای احیایی گردید. با افزایش آبگیری بذر فعالیت آنزیم‌های هیدرولیزکننده از قبیل آلفاگالاکتوزیداز و اینورتاز افزایش و به‌دنبال آن میزان قندهای احیایی افزایش یافت (Wettlaufer and Leoppold, 1991).

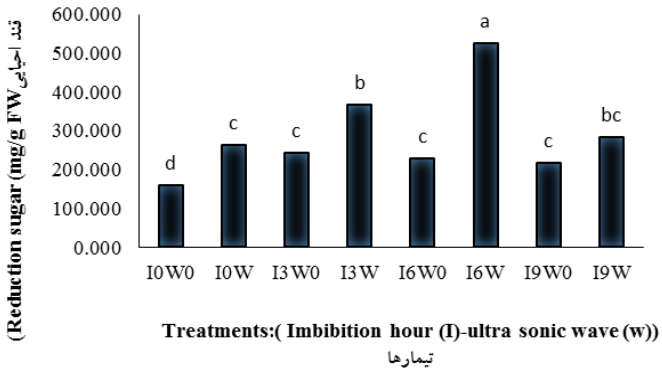
افزایش قندهای احیایی به منزله افزایش سوبسترای لازم برای تنفس و تامین انرژی در زمان جوانه‌زنی بذر می‌باشد. تیمار I_6W بیش‌ترین میزان قند احیایی را نشان داد که می‌توان گفت این زمان آبنوشی بهترین زمان به-همراه پیش‌تیمار امواج فراصوتی بود که شکل‌های ۲، ۴، ۵، ۶، ۷ و ۸ نیز آنرا تایید می‌کند. گزارش شده است که میزان قندهای محلول (گلوکز و ساکارز) همبستگی مثبت و معنی‌داری با درصد جوانه‌زنی بذر نشان دادند (Zhao *et al*., 2018).

قندهای غیراحیایی: در شکل ۷ مقایسه میانگین اثر مدت‌های مختلف آبنوشی و پیش‌تیمار امواج فراصوتی بر



شکل ۵- اثر مدت آبنوشی (I) و امواج فراصوتی (W) بر میزان قند کل، Lsd= ۰/۱۱.

Figure 5. The effect of imbibition time (I) and ultrasonic wave (W) on total sugar, LSD=0.11



شکل ۶ - اثر مدت آبنوشی (I) و امواج فراصوتی (W) بر میزان قند احیایی، Lsd = ۳۹/۳۴،

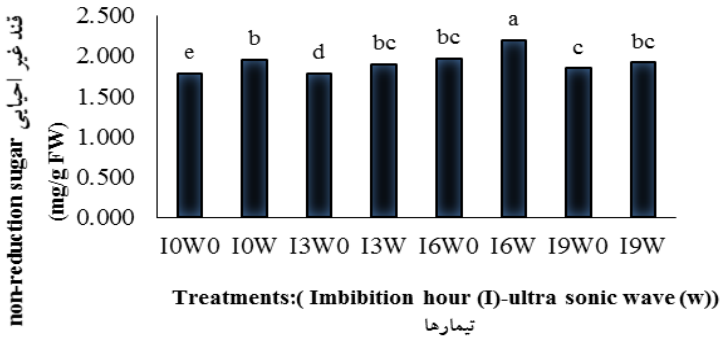
Figure 6. The effect of imbibition time (I) and ultrasonic wave (W) on reduction sugar, LSD=39.34

غیراحیایی بیش‌تری را نسبت به عدم پیش‌تیمار امواج فراصوتی و آبنوشی نشان داد. بیش‌ترین میزان قند غیر-احیایی در تیمار I6W با میانگین ۲/۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر مشاهده گرید. آبنوشی بذر و امواج فراصوتی سبب تسریع شکسته‌شدن ذخایر بذری از جمله نشاسته گردید. افزایش میزان قندهای احیایی در اغلب تیمارها نسبت به شاهد مربوط به سرعت بالای هیدرولیز نشاسته می‌باشد که طی آن، قندهای احیایی به قندهای غیراحیایی مثل ساکارز جهت انتقال به محور جنینی تبدیل می‌شوند. در محور جنینی، ساکارز توسط آنزیم اینورتاز شکسته شده و برای تغذیه جنین مورد استفاده قرار می‌گیرد (Elamrani *et al.*, 1992). گزارش شده است که انتقال ذخایر بذری در طول جوانه‌زنی بسیار مهم می‌باشد و سرعت جوانه‌زنی همبستگی معنی‌داری با میزان قند محلول و پروتئین داشت (Zhao *et al.*, 2018).

میزان نشاسته: در شکل ۸ مقایسه میانگین اثر مدت‌های مختلف آبنوشی و پیش‌تیمار امواج فراصوتی بر میزان نشاسته گیاهچه سرخارگل ارائه شده است. عدم پیش‌تیمار امواج فراصوتی در همه مدت‌های آبنوشی میزان نشاسته بیش‌تری را نسبت به پیش‌تیمار امواج فراصوتی نشان داد. از آن‌جا که در تیمارهای آبنوشی و امواج فراصوتی میزان قندهای کل، احیایی و غیراحیایی بیش‌تری نسبت به شاهد مشاهده شده بود (شکل‌های ۴، ۵ و ۶) بنابراین وجود نشاسته کم‌تر در تیمارهای آبنوشی و امواج فراصوتی به‌دلیل شکستن بیش‌تر ذخایر امری بدیهی می‌باشد.

تیمارهای I0W0 و I0W به‌ترتیب بیش‌ترین میزان نشاسته را با میانگین‌های ۶/۵ و ۵/۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر نشان دادند و کم‌ترین میزان نشاسته نیز در تیمار آبنوشی I6W با میانگین ۳/۰۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر مشاهده شد. آبنوشی با تسریع در فراهمی آب و امواج فراصوتی با افزایش دمای بافت‌ها سبب تسریع هیدرولیز نشاسته و تبدیل آن به قندها (شکل‌های ۵، ۶ و ۷) گردید. در بذر گیاه نخودفرنگی، فعالیت آنزیم‌های آلفا-آمیلاز، بتاآمیلاز و مالتاز جهت متحرک‌سازی نشاسته و

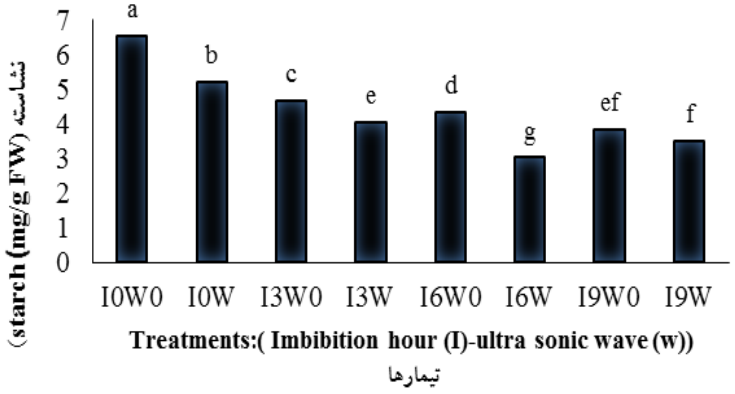
انتقال به محور جنینی پس از آبنوشی بذر افزایش پیدا کرد و نیز فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز جهت هیدرولیز نشاسته در لپه‌ها در حضور محور جنینی افزایش بیش‌تری را نشان داد و تحت تأثیر محتوی آب لپه‌ها قرار داشت (Monerri and Garcia-Luis, 1986).



شکل ۷ - اثر مدت آبنوشی (I) و امواج فراصوتی (W) بر میزان قند غیر احیایی، LSD= ۰/۱۱

Figure 7. The effect of imbibition time (I) and ultrasonic wave (W) on non-reduction sugar, LSD=0.11

هیدرولیز نشاسته یکی از اساسی‌ترین فعالیت‌ها در طول جوانه‌زنی می‌باشد زیرا تحرک قندهای کل نقش مهمی را در جهت کاهش پتانسیل آبی سلول و در نتیجه ورود آب به سلول و طویل‌شدن سلول را سبب گشته و موجبات رشد گیاهچه را فراهم می‌آورد (Adda *et al.*, 2014). گزارش شده است که میزان قندهای محلول بذر در هنگام جوانه‌زنی همبستگی معنی‌دار و معکوسی با میزان نشاسته نشان دادند (Zhao *et al.*, 2018).



شکل ۸- اثر مدت آبنوشی (I) و امواج فراصوتی (W) بر میزان نشاسته، Lsd=۰/۴۸

Figure 8. The effect of imbibition time (I) and ultrasonic wave (W) on starch, LSD=0.48

نتیجه‌گیری

در این بررسی آبنوشی به‌همراه امواج فراصوتی توانست درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، میزان قندها و پروتئین‌های محلول را نسبت به شاهد افزایش دهد، آبنوشی ۶ ساعت و امواج فراصوتی کم‌ترین میزان نشاسته و بیش‌ترین میزان قندغیراحیایی، احیایی و کل را نشان داده بود و در نهایت حداکثر جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی را نشان داد. پیش‌تیمار امواج فراصوتی به‌همراه آبنوشی توانست بر خصوصیات جوانه‌زنی بذر سرخارگل اثر مطلوب بگذارد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مسئول آزمایشگاه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

Adda, A., Regagb, Z., Latigui, A. and Merah, O. 2014. Effect of salt stress on α-amilase activity, sugars mobilization and osmotic potential of *Phaseolus vulgaris* L. Seed var. Cocorose during germination. Journal of biological Science, 14: 370-375. **(Journal)**

Akram-Qaderi, F., Kamkar, B. and Soltani, A. 2009. Seed science and technology (3rd Ed.). Mashhad University Press. **(Book)**

Atwater, B.R .1980. Germination, dormancy, and morphology of the seeds of herbaceous ornamental plants. Seed Science and Technology, 8: 523-73. **(Journal)**

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

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72: 248-254. **(Journal)**

Chen, G., Wanga, Q., Liu, Y., Li, Y., Cui, J., Liu, Y., Liu, H. and Zhang, Y. 2012. Modelling analysis for enhancing seed vigour of switchgrass (*Panicum virgatum* L.) using an ultrasonic technique. Biomass Bioenergy, 47: 426 -435. **(Journal)**

Cheryl-Kaiser, C., Geneve, R. and Ernst, M. 2015. Echinacea. University of Kentucky. Retrieved June 10, 2015. From http://www.uky.edu/Ag/CCD/echinacea.html. **(Website)**

Foti, S., Cosentino, S.L., Patane, C. and Agosta, G.M.D. 2002. Effects of osmo conditioning upon seed germination of sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) under low temperatures. Seed Science and Technology, 30(3): 521-533. **(Journal)**

Elamrani, A., Raymond, P. and Saglio, P. 1992. Nature and utilization of seed reserves during germination and heterotrophic growth of young sugar beet seedlings. Seed Science and Research, 2(01): 1-8. **(Journal)**

Handel, E.V. 1968. Direct micro determination of sucrose. Annals of Biochemistry, 22: 280-283. **(Journal)**

Lipiec, J., Janas, P. and Barabasz, W. 2004. Effect of oscillating magnetic field pulses on the survival of selected microorganisms. International Agro physics Journal, 18: 325-328. **(Journal)**

Machikowa, T., Kulrattanarak, T. and Wonprasaid, S. 2013. Effects of ultrasonic treatment on germination of synthetic sunflower seeds. International Journal of Biological, Agriculture and Food Engineering, 7: 11-18 **(Journal)**

McCready, R.M., Guggolz, J., Silviera, V. and Owens, H.S. 1950. Determination of starch and amylase in vegetables. Analytical Chemistry, 22: 1156-1158. **(Journal)**

Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. Analytical Chemistry, 31: 426-428. **(Journal)**

Monerri, C. and Garcia-Luis, A. 1986. Sugar and starch changes in pea cotyledons during germination. Physiologia Plantarum, 67 (1): 49-54. **(Journal)**

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

Omokolo, D., Ndoumou, G., Ndzomo, T. and Djocgoue, P.F. 1996. Changes in carbohydrate, amino acid and phenol contents in cocoa pods from three clones after infection with Phytophthora megakarya Bra and Grif. Annals of Botany, 77: 153-158. **(Journal)**

Paraver, A., Omidi, H., Sadat Ehsannezhad, H. and Amirzadeh, M. 2008. Effect of hydropriming on coneflower (*Echinacea purpurea*) seed germination and seedling growth under salt stress. Journal of Seed Eco physiology, 1(1): 57-69. (In Persian)**(Journal)**.

Smith-Jochum, C.C. and Albrecht, M.L. 1987. Field establishment of three Echinacea species for commercial production. Acta Horticulture, 208: 115-18. **(Journal)**

Soltani, A., Gholipoor, M. and Zeinali, E. 2006. Seed reserve utilization and seedling growth of wheat as affected by drought and salinity. Environmental and Experimental Botany, 55(1): 195- 200. **(Journal)**

Soltani, A. and Maddah, V. 2010. Simple applied programs for education and research in agronomy (1st Ed.). Agricultural Assocition Publication. **(Book)**

Wettlaufer, S.H. and Leopold, A.C. 1991. Relevance of Amadori and Maillard products to seed deterioration. Plant Physiology, 97: 165-169. **(Journal)**

Yaldagard, M., Mortazavi, S.A. and Tabatabaie, F. 2008. Application of ultrasonic waves as a priming technique for accelerating and enhancing the germination of barley seed: optimization of method by the taguchi approach? Institute of Brewing Journal, 114: 14-21. **(Journal)**

Zhao, M., Zhang, H., Yan, H., Qiu, L. and Baskin, C. 2018. Mobilization and role of starch, protein, and fat reserves during seed germination of six wild grassland species. Frontires in Plant Science, 9: 1-11 **(Journal)**

The effect of imbibition time and ultrasound pretreatment on germination and biochemical feature of *Echinacea purpurea* L

Fatemeh Rasouli*[1], Manochaher Gholipour[2], HamidReza Asghari[2], Mahboobeh Hojjati[3]

Received: July 15, 2018 Accepted: January 14, 2019

Abstract

Seed pre-treatment with ultrasound wave is a bio-physical method of seed priming, seed imbibition with water is also a way to improve germination, so in order to investigate the effect of ultrasound pretreatment and 4 imbibition hours' time (0, 3, 6 and 9 hour) on germination and biochemical feature of *Echinacea purpurea* L., A completely randomized design experiment with 8 treatment and 3 replications was conducted. Treatments including 4 imbibition time (I) and ultra-sonic wave (W) with this arrangement (I_0W_0, IW, I_3W_0, I_3W, I_6W_0, I_6W, I_9W_0 and I_9W). The results of analyses of variance showed that the effect of imbibition times and ultrasonic wave on total characteristics was significant. Ultra-sonic wave and imbibition times in most treatment increased germination percentage then to control. The highest and lowest amount of germination percentage respectively in I_6W and control (I_0W_0) with means of 97.3 and 84% observed. The highest amount of solution protein in treatments I_6W and I_9W with average of 43.2 mgg^{-1} FW and the lowest amount of it in control with average of 27 mgg^{-1} FW was observed. Ultra-sonic wave and imbibition times in total treatment could show higher amount of total sugar then to control. The highest amount of starch in control and I_0W treatment with average of 5.8 mgg^{-1} FW and the lowest amount of it in treatment IW_6 with average of 3.02 mgg^{-1} FW observed, and the end imbibition with ultra-sonic wave could improve germination percent and germination rate in *Echinacea purpurea* seeds.

Keywords: Germination percentage and rate; Soluble protein; Sugars

How to cite this article

Rasouli, F., Gholipour, M., Asghari, H.R. and Hojjati, M. 2020. The effect of imbibition time and ultrasound pretreatment on germination and biochemical feature of *Echinacea purpurea* L. Iranian Journal of Seed Science and Research, 7(2): 205-215. (In Persian)(**Journal)**

DOI: 10.22124/jms.2020.4558

COPYRIGHTS

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

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

1. Ph.D Student of Crop Ecology, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran
2. Associate Professor, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran
3. MSc. of Crop Ecology, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran

*Corresponding author: F.rasouli86@gmail.com