علوم و تحقیقات بذر ایران
سال سوم/ شماره چهارم/ ۱۳۹۵ (۶۵ - ۵۳)

ارزیابی مولفه‌های جوانه‌زنی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و هدایت الکتریکی بذرهای لوبیا چیتی (*Phaseolus vulgaris* L.) بدست آمده از پیش‌تیمار بذرهای مختلف گیاه مادری

فاطمه مهاجری*[۱]، محمود رومرودی[۲]، منصور تقوایی[۲]، محمد گلوی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۲/۲۹

چکیده

به‌دلیل نقش جوانه‌زنی بذر در استقرار بوته، جوانه‌زنی مطلوب به‌عنوان یک عامل کلیدی در کشاورزی اهمیت ویژه‌ای دارد. به‌منظور بررسی مولفه‌های جوانه‌زنی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و هدایت الکتریکی بذرهای بدست آمده از پیش‌تیمار بذر گیاه مادری آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کاملا تصادفی با ۳ تکرار در سال ۱۳۹۳ در دانشگاه زابل انجام گرفت. تیمارهای آزمایش شامل عامل رقم لوبیای چیتی در ۳ سطح E9، E10 و خمین و عامل دوم بذرهای به‌دست آمده از پیش-تیمار بذر گیاه مادری در مزرعه در ۷ سطح ۱- پلی‌اتیلن‌گلیکول ۵- بار در مدت ۶ ساعت ۲-کلرید پتاسیم ۲۰– میلی‌مولار در ۶ ساعت ۳- کلرید کلسیم ۱۵- میلی‌مولار در ۳ ساعت ۴- کلرید سدیم ۲۰- میلی‌مولار در ۶ ساعت ۵ – اسید سالیسیلیک ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر در ۱۲ ساعت ۶-آب خالص در مدت ۱۲ ساعت و ۷- بدون پیش‌تیمار (شاهد) بود. صفات درصد و سرعت جوانه‌زنی، شاخص وزنی و طولی بنیه گیاهچه، انرژی جوانه‌زنی در روز چهارم، آلفا آمیلاز، سوپر اکسید دیسموتاز، قند محلول، پراکسیداز و هدایت الکتریکی اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که اثر متقابل پیش‌تیمار و رقم بر صفات درصد جوانه-زنی، شاخص وزنی بنیه و انرژی جوانه‌زنی روز چهارم در سطح ۱٪ و بر شاخص طولی بنیه در سطح ۵٪ معنی‌دار بود. همچنین صفات آلفاآمیلاز، سوپر اکسید دیسموتاز، قند محلول، پراکسیداز و هدایت الکتریکی در سطح ۱٪ معنی‌دار بود. بیش‌ترین درصد و سرعت جوانه‌زنی در تیمار کلرید کلسیم ۳ ساعت رقم E9، بیش‌ترین شاخص بنیه در تیمار کلرید کلسیم ۳ ساعت رقم E10 و قند محلول، پراکسیداز و آلفا آمیلاز از تیمار کلرید کلسیم ۳ ساعت به‌دست آمد. بذرهای حاصل از پیش‌تیمار گیاه مادری از قدرت جوانه‌زنی خوبی برخوردارند و با توجه به رقم و انتخاب پیش‌تیمار مناسب بذرهای گیاه مادری، می‌توانیم جوانه‌زنی و استقرار و رشد گیاهچه لوبیا را بهبود بخشیم.

کلمات کلیدی: آلفا آمیلاز، انرژی جوانه‌زنی، پراکسیداز، شاخص بنیه، قند محلول

۱- دانشجوی دکترا، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل
۲- اعضای هیأت علمی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل
* نویسنده مسئول :fatemehmohajeri@uoz.ac.ir

مقدمه

حبوبات از منابع مهم غذایی سرشار از پروتئین که حدود ۲۲ درصد پروتئین، ۳۲ درصد چربی و ۷ درصد هیدرات‌های کربن را تأمین می‌کند و بعد از غلات دارای بالاترین اهمیت است، به‌طوری‌که در ایران پس از گندم و برنج دارای بالاترین سطح زیر کشت است. در بین حبوبات، سویا، لوبیا و نخود از لحاظ سطح زیر کشت به ترتیب حائز مقام اول تا سوم می‌باشند (Majnoon hoseini, 2005). موفقیت در زراعت با بذرهای دارای کیفیت پایین امکان‌پذیر نیست. کیفیت بذر علاوه بر تاثیر بر استقرار گیاهچه و تجمع ماده خشک، قادر به تاثیر-گذاری بر عملکرد نهایی گیاه هم می‌باشد (Hampton, 1998). پیش‌تیمار بذر، باعث بهبود در سرعت جوانه‌زنی و یکنواختی جوانه‌زنی و کاهش حساسیت بذرها به عوامل محیطی می‌گردد (Jian jun *et al*., 2007). هریس و همکاران (Harris *et al*., 2007) گزارش کردند که گیاهچه‌های حاصل از پیش‌تیمار بذر استقرار بهتر و یکنواخت‌تر در مزرعه داشته، بوته‌های حاصل از بذرهای پیش‌تیمار دارای رشد بیش‌تر، بنیه قوی‌تر، رقابت بهتر با علف‌های هرز، گلدهی و رسیدگی زودتر، پر شدن سریع‌تر دانه، وزن صددانه بیش‌تر و عملکرد بالاتر بودند. بذرهایی که وزن بیش‌تری دارند از قوه نامیه بالاتری برخوردار هستند. پیش‌تیمار بذر می‌تواند سبب افزایش وزن صددانه و افزایش مواد ذخیره‌ای بذر گردد که از طریق پر شدن سریع‌تر دانه، افزایش انتقال مواد از اندام‌های رویشی به زایشی صورت می گیرد (Hajikhani *et al*., 2011). پیش‌تیمار بذر باعث بهبود جوانه‌زنی و استقرار اولیه گیاه، بهره‌برداری از نهاده‌های محیطی، زودرسی، افزایش کمی و کیفی محصول و همچنین بهبود کیفیت غذایی دانه می-گردد (Farooq *et al*., 2006). پیش‌تیمار بذر سنتز و فعال‌شدن اولیه آنزیم‌های هیدرولتیک چون β و α آمیلاز و در نتیجه جوانه‌زنی را تحریک می‌کند (Varier *et al*., 2010). همچنین پیش‌تیمار بذر باعث افزایش سطح انرژی زیستی در قالب افزایش مقدار ATP، افزایش سنتز DNA و RNA، افزایش تعداد و در عین حال ارتقای عملکرد میتوکندری‌ها باشد. این تکنیک باعث افزایش دامنه جوانه-زنی بذرها در شرایط محیطی تنش‌زا از قبیل تنش شوری، خشکی و دما می‌شود (Demir Kaya *et al*., 2006). به نظر می‌رسد که پیش‌تیمار بذر میزان جوانه‌زنی را از طریق کاهش صدمه به پروتئین‌ها، RNA و DNA افزایش می-دهد. گزارش شده است که به‌دنبال پیش‌تیمار بذرهای (کاهو،گوجه‌فرنگی ،تره‌فرنگی ،گندم و ذرت) سنتز RNA و DNA و تقسیم سلولی افزایش می‌یابد، افزایش فعالیت آنزیم فسفاتاز تحت تاثیر پیش‌تیمار گزارش شده است (Abbas dokht *et al*., 2008). همچنین پیش‌تیمار بذر با ویتامین C و پیش‌تیمارآب نیز باعث افزایش فعالیت کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز گردید (Burguieres *et al*., 2007). در طی پیش‌تیمار مکانیزم‌های فیزیولوژیکی بسیاری رخ می‌دهد، مانند ترمیم آسیب‌های وارده به سلول‌های بذر، پیشرفت وقایع متابولیکی که در فاز دوم جذب آب اتفاق افتاده و منجر به خروج ریشه‌چه می‌گردند و وقایعی مثل تسهیم بهتر آندوسپرم و مواد ذخیره‌ای که اجازه رشد بیش‌تر جنین را می‌دهند، ممکن است در طی پیش‌تیمار بذر اتفاق بیافتند و کارآیی آن را افزایش می دهند (Jie *et al,* 2002). فاتح و همکاران (Fateh *et al*., 2010) اثر پیش‌تیمار بذر و تاریخ کاشت بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و عملکرد نخود در شرایط دیم بررسی کردند و اثر پیش‌تیمار اسید اسکوربیک و سولفات روی بر تعداد دانه و وزن صددانه موثر دانستند. منصوری و همکاران (Mansouri and Aboutalebian., 2013) تأثیر پیش‌تیمار بذر در مزرعه و آبیاری تکمیلی بر سرعت سبز شدن، عملکرد و اجزای عملکرد دانه دو رقم نخود را بررسی کردند و اثر پیش‌تیمار آب را بر سرعت سبز شدن بذر، تعداد دانه، وزن دانه و عملکرد دانه موثر دانستند. نتایج حاصل از معروفی و همکاران (Maroufi *et al*., 2011) نشان داد که خصوصیات جوانه‌زنی به‌شدت تحت تاثیر پیش‌تیمار آب قرار گرفته و افزایش یافت. انتصاری و همکاران (Entesari *et al*.,2013) با بررسی اثر پیش-تیمار بر مولفه‌های جوانه‌زنی، صفات فیزیولوژیکی، آنزیم های آنتی‌اکسیدانت گزارش کردند که پیش‌تیمار اسید سالیسیلیک و نیترات پتاسیم باعث بهبود خصوصیات جوانه‌زنی شد. اسپین و همکاران (Espin *et al.*, 2011) نقش H_2O_2 در طول جوانه‌زنی بذر نخود بررسی کردند. پرمون و همکاران (Permon *et al.*, 2013) اثر پیش-تیمار بذر بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه بابونه و فعالیت بیوشیمیایی بابونه را موثر دانستند و گزارش کردند که پیش‌تیمار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت را افزایش داد. چنان‌چه از طریق پیش‌تیمار بتوان مولفه‌های جوانه‌زنی را

بهبود بخشید می‌توان شاهد استقرار سریع‌تر گیاه، افزایش تعداد و وزن دانه، افزایش عملکرد، کاهش مصرف آب در مرحله کاشت، برداشت سریع‌تر محصول و داشتن زمان کافی برای تهیه زمین در کاشت محصول بعدی بود. از آن‌جاکه تحقیقات کمی بر روی کمیت و کیفیت بذرهای به‌دست آمده از پیش‌تیمار بذر گیاه مادری برای کشت مجدد در سال بعد صورت گرفته است. هدف از این مطالعه تعیین مولفه‌های جوانه‌زنی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و هدایت الکتریکی بذرهای ۳ رقم لوبیای چیتی به‌دست آمده از پیش‌تیمار بذر گیاه مادری بود.

مواد و روش‌ها

به‌منظور تعیین مولفه‌های جوانه‌زنی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و هدایت الکتریکی بذرهای بدست آمده از پیش‌تیمار بذر گیاه مادری آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ۳ تکرار در پژوهشگاه زیست فناوری دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل انجام گرفت. بذرهای E_9 و E_{10} از لاین‌های بسیار خوب در حال تحقیق در اقلید هستند و رقم خمین رقم رایج می‌باشد. رقم E_{10} در حال نام‌گذاری است و لاین E_9 در حال آزمایش نهایی می‌باشد. بذر سه لوبیا پر محصول در بهمن ماه ۱۳۹۲ از ایستگاه تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اقلید در استان فارس تهیه گردید و تا زمان اجرای آزمایش در بسته‌های پلاستیکی ایزوله شده و دارای حداقل نفوذپذیری در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. تیمارهای آزمایش شامل عامل اول ۳ رقم (لوبیای چیتی E_9، E_{10} (سلکسیون‌های انتخابی ایستگاه مرکز تحقیقات اقلید) و خمین (جزو ارقام قدیمی) و عامل دوم پیش‌تیمار بذر در مزرعه در ۷ سطح ۱- پلی‌اتیلن‌گلیکول ۵- بار در مدت ۶ ساعت ۲- کلرید پتاسیم ۲۰– میلی‌مولار در ۶ ساعت ۳- کلرید کلسیم ۱۵- میلی‌مولار در ۳ ساعت ۴- کلرید سدیم ۲۰– میلی‌مولار در ۶ ساعت، ۵– اسید سالیسیلیک ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر در ۱۲ ساعت ۶- آب خالص در ۱۲ ساعت و ۷- بدون پیش‌تیمار (شاهد) بود. این آزمایش در چند مرحله انجام شد. ابتدا سطح (Mohajeri *et al.*, 2015a) و مدت مناسب برای پیش‌تیمارها به‌دست آمد. سپس بذرهای با بهترین سطح و مدت به‌دست آمده در آزمایشگاه پیش‌تیمار شد. ۳۶۰ عدد بذر در هر تیمار مورد استفاده قرار گرفت. محلول به مقداری به ظرف اضافه شد که بذرهای غوطه ور نشوند و قادر به تنفس باشند. پس از اتمام پیش‌تیمار مورد نظر، بذرهای پیش‌تیمار شده توسط آب مقطر شستشو شده و تمام بذرها به مدت ۴۸ ساعت تا رسیدن به وزن اولیه در دمای اتاق خشک گردید. در تاریخ ۲۲ اردیبهشت ماه ۱۳۹۳ بذرها در مزرعه کشت گردید و بعد از برداشت محصول در تاریخ ۱ شهریور ماه ۱۳۹۳ (Mohajeri *et al.*, 2015b) بذرهای به‌دست آمده از پیش‌تیمار گیاه مادری برای ارزیابی آزمون جوانه‌زنی در دمای ۲±۲۰ برای مدت ۹ روز در ژرمیناتور و تعیین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و هدایت الکتریکی مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا بذرها با محلول هیپوکلریت سدیم۱٪ به مدت ۲ دقیقه ضدعفونی سطحی شدند و سپس با آب مقطر شستشو شدند. برای ارزیابی رفتار جوانه‌زنی، ۲۵ عدد بذر از هر تیمار در داخل پتری‌ها بین دو لایه کاغذ صافی قرار داده شد و ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر به هر پتری اضافه شد. شمارش بذرها به‌صورت روزانه و تا روز نهم در ساعتی معین انجام شد. به هنگام شمارش، بذرهایی جوانه‌زده تلقی می‌شدند که طول ریشه‌چه آن‌ها ۲ میلی‌متر یا بیش‌تر بود (Soltani *et al.*, 2007). به‌منظور اندازه‌گیری سرعت جوانه‌زنی (GR) از روش ماگویر (Maguire, 1962) درصد جوانه‌زنی، شاخص‌های بنیه وزنی و طولی عبدالبکی و اندرسون (Abdul-Baki and Anderson,. 1973) و انرژی جوانه‌زنی در روز چهارم از اگروال (Agarwal, 2003) به ترتیب روابط ۱ تا ۵ استفاده شد.

$$GR = \sum_{i=1}^{n} Si/Di$$ رابطه (۱)

GR = سرعت جوانه‌زنی (تعداد بذر جوانه‌زده در روز)

Si = تعداد بذرهای جوانه‌زده در هر شمارش

Di = تعداد روز تا شمارش n ام

$$GP = 100(N'/N$$ رابطه (۲)

GP = درصد جوانه‌زنی

N´ = تعداد بذرهای جوانه‌زده

N = تعداد کل بذر در هر پتری

$$VI= (R*100)/GP$$ رابطه (۳)

VI=شاخص وزنی بنیه

R = میانگین وزن خشک ۲۵ گیاهچه (میلی‌گرم)

رابطه (۴) $VII= (S*100)/GP$

VII= شاخص طولی بنیه

S= میانگین طول ۲۵ گیاهچه (میلی‌متر) است.

رابطه (۵) $EE= EG / N$

EE= انرژی جوانه‌زنی در روز چهارم

EG= درصد جوانه‌زنی در روز معین (روز چهارم)

N تعداد کل بذرهای کاشته شده

به‌منظور تعیین وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه نمونه-ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد درون آون قرار داده شد و سپس با ترازوی حساس با دقت ۰/۰۰۰۱ میلی‌گرم توزین گردید.

آزمون هدایت الکتریکی در آزمایشگاه

برای انجام آزمون هدایت الکتریکی از هر تیمار ۱۰۰ بذری به‌صورت تصادفی جدا گردید. در ابتدا وزن نمونه‌ها اندازه‌گیری شدند، سپس نمونه‌ها به‌صورت جداگانه داخل ظروف در بسته با فویل آلومینیومی حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر، به مدت ۲۴ ساعت غوطه ور شدند و یک ظرف محتوی آب دو بار تقطیر شده بدون بذر نیز به‌عنوان شاخصی از کیفیت آب (شاهد) در نظر گرفته شد. ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش ظرف‌های محتوی آب دو بار تقطیر شده در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا از لحاظ دما به تعادل برسند (بعد از مدت ۲۴ ساعت با استفاده از دستگاه هدایت سنج (مترEC) هدایت الکتریکی (میکروزیمنس بر سانتی‌متر بر گرم) هر ظرف اندازه‌گیری شد. سپس جهت تعیین میزان هدایت الکتریکیِ هر گرم نمونه بذر با استفاده از رابطه هدایت الکتریکی تعیین شد، که به‌صورت عدد خوانده شده از EC متر تقسیم بر وزن خشک ۱۰۰ عدد بذر بدست آمد (Khalaj, 2006).

رابطه (۶) $EC=A/W$

A= عدد خوانده شده EC متر (میکروزیمنس بر سانتی‌متر بر گرم)

W= وزن خشک ۱۰۰ عدد بذر

تعیین میزان آنزیم‌های آنتی اکسیدان

در این آزمایش اندازه‌گیری آنزیم‌ها در فاز دوم جوانه‌زنی انجام شد. برای تعیین الگوی سه مرحله‌ای جذب آب به وسیله بذرهای در حال جوانه‌زنی لوبیا چیتی از روش بیولی و بلک (Bewley and Black, 1978) استفاده شد. برای تعیین سه مرحله‌ای جذب آب بذرهای لوبیا چیتی تعداد ۲۵ بذر به پتری‌های با قطر ۱۰ سانتی‌متر منتقل شدند (Ansari *et al.,* 2013). به هر پتری ۱۵ میلی‌متر آب مقطر افزوده، بذرها بین دو لایه کاغذ صافی واتمن قرار داده شد و برای مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲±۲۰ در ژرمیناتور قرار داده شد.

سنجش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز

برای اندازه‌گیری آلفا آمیلاز از روش (Xiao *et al*., 2006) استفاده شد. دو گرم بذرهای در فاز دوم جوانه‌زنی جهت اندازه‌گیری فعالیت آلفا آمیلاز استفاده شد. برای تهیه عصاره ابتدا پنج میلی‌لیترمحلول ۶۰ میلی مولار بافر فسفات (pH= ۶/۸) به گیاهچه‌ها اضافه شد و سپس گیاهچه به مدت ۱۵ دقیقه سانترفیوژ شدند (با دور ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه). جهت اندازه‌گیری آنزیم آلفا آمیلاز ابتدا ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره تهیه شده در بالا به آن اضافه شده و بعد از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد بوسیله ۱ میلی‌لیتر اسید هیدروکلریدریک ۰/۱ نرمال واکنش را متوقف کرده و در ادامه یک میلی‌لیتر از معرف ید به آن اضافه شد. پس از آن محتوی لوله را با آب مقطر به حدود ۱۰ میلی‌لیتر رسانده و میزان جذب رنگ را با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۰ نانومتر خوانده و با نمونه شاهد مقایسه شد (Xiao *et al*., 2006).

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز بر طبق روش چنس و ماهلی، ۱۹۵۵ انجام شد. ۰/۱ گرم از بذرهای در فاز دوم جوانه‌زنی را در هاون چینی به وسیله نیتروژن مایع کاملا پودر کرده وسپس ۱ میلی‌لیتر بافر ۵۰ میلی‌مولار فسفات سدیم (pH= ۷) حاوی۲ میلی‌مولار EDTA به آن اضافه شد. پس از یکنواخت‌کردن محلول به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. بعد از آن محلول روشناور برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم برداشت شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار، ۱۰ میلی‌مولار گویاکول، ۱۵ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن و ۵۰ مایکرولیتر عصاره استخراج شده بود. پس از اضافه کردن عصاره، بلافاصله افزایش جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر به‌مدت ۲ دقیقه قرائت شد. محلول جذب زمینه شامل تمامی مواد بجز عصاره استخراج شده بود. میزان تتراگویاکول تشکیل شده با استفاده از ضریب خاموشی ε=26.6mM-1cm-1 محاسبه شد. فعالیت ویژه

آنزیم به‌صورت مایکرومول تتراگویاکول تشکیل شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین بیان شد (Chance and Maehly, 1955).

سنجش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز

جهت تعیین مقدار سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) از روش سایرام و همکاران (۲۰۰۲) استفاده شد. برای تهیه ترکیب واکنش از ۱۳ میلی‌مول متیونین، ۲۵ میکرومول نیتروبلوتترازولیوم(NBT)، ۶ میکرومول محلول ۰/۵مولار EDTA، ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول ۱ مولار فسفات بافر(۷/۸ =pH)۶۰ میکرومول ریبوفلاوین ۱میلی‌مولار و ۵۰ میلی مول سدیم بیکربنات استفاده می‌شود. سپس ۲/۹ میلی‌لیتر از مخلوط حاصل را داخل تیوپ استریل ریخته، بلافاصله پس از افزودن ۲ میکرومول ریبوفلاوین و ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی، به مدت ۱۵ دقیقه زیر نور لامپ فلورسانس ۱۵×۲ وات قرار داده می‌شود. جهت تعیین میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز مخلوط حاصل با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۶۰ نانومتر در دمای ۲± ۲۳ درجه سانتی‌گراد طیف‌سنجی گردید (Sairam *et al*., 2002).

برای اندازه‌گیری قند محلول از روش کوچرت (Kochert, 1978) استفاده شد.

در پایان داده‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ و IBM SPSS statistics 21 تجزیه آماری و میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه گردید.

نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی

درصد جوانه‌زنی در سطح یک درصد به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارها قرار گرفت (جدول ۱). در مقایسه میانگین برهمکنش پیش‌تیمار و رقم مشاهده شد که تیمار کلرید سدیم ۶ ساعت رقم E_{10} (۹۷/۳۳ درصد) و تیمار شاهد رقم E_{10} (۷۵/۳۳ درصد) به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین درصد جوانه‌زنی را نشان داد. همچنین تیمار کلرید پتاسیم ۶ ساعت (۹۶/۳۳ درصد) و شاهد (۷۶/۳۳ درصد) در رقم E_9 به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین درصد جوانه‌زنی را نشان دادند. در رقم خمین کلرید پتاسیم ۶ ساعت (۹۶/۰۰ درصد) و کلرید سدیم ۶ ساعت (۸۱/۳۳ درصد) به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین درصد جوانه‌زنی را به خود اختصاص دادند (جدول ۲). قاسمی گلعذانی و همکاران (Ghassemi-Golezani *et al*., 2010) در لوبیا چیتی و منصوری و ابوطالبیان (Mansouri and Aboutalebian, 2013) در نخود افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی، تعداد و وزن دانه و عملکرد در اثر پیش‌تیمار آب خالص را گزارش کردند.

سرعت جوانه‌زنی

سرعت جوانه‌زنی در سطح یک درصد به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر پیش‌تیمار قرار گرفت (جدول ۱). در مقایسه میانگین تیمار کلرید کلسیم ۳ ساعت (۰/۴۳) و شاهد (۰/۳۶) به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین سرعت جوانه‌زنی را نشان دادند (شکل ۱). تیمار کلرید کلسیم ۳ ساعت با تیمار شاهد، کلرید سدیم و کلرید پتاسیم ۶ ساعت تفاوت معنی‌دار داشت (جدول ۲). حاجیخانی و همکاران (HajiKhani *et al*., 2011) در لوبیا چیتی و جهانبخشی و همکاران (Jahanbakhshi *et al*., 2012) در ماش نتایج مشابهی را گزارش کردند.

شاخص طولی بنیه گیاهچه

شاخص طولی بنیه گیاهچه در سطح پنج درصد به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر برهمکنش پیش‌تیمار و رقم قرار داد (جدول ۱). در مقایسه میانگین تیمار کلرید کلسیم ۳ ساعت رقم E_{10} (۸۵/۳۶) و شاهد رقم E_{10} (۴۵/۵۹) به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین شاخص طولی بنیه گیاهچه را نشان دادند (جدول۲). در رقم E_9 تیمار آب ۱۲ ساعت (۷۳/۹۷) و شاهد (۴۹/۷۵) به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین شاخص طولی بنیه را نشان دادند. همچنین در رقم خمین به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین شاخص طولی بنیه در تیمار آب ۱۲ ساعت (۷۶/۳۴) و اسید سالیسیلیک ۱۲ ساعت (۵۸/۹۰) مشاهده شد. بین تیمارهای آب ۱۲ ساعت در هر سه رقم، کلرید پتاسیم ۶ ساعت، کلرید سدیم ۳ ساعت و کلرید سدیم ۶ ساعت رقم E_{10} و شاهد رقم E_9 و E_{10}، اسید سالیسیلیک ۱۲ ساعت رقم E9 تفاوت معنی‌دار مشاهده شد (جدول۲). معروفی و همکاران (Maroufi *et al*., 2011) در بررسی اثر پیش‌تیمار آب خالص بر تولید گیاهچه لوبیای چیتی بیان کردند که اثر پیش‌تیمار آب خالص اثر معنی‌دار بر درصد جوانه‌زنی، وزن خشک و شاخص بنیه طولی گیاهچه داشت.

شاخص وزنی بنیه گیاهچه

برهمکنش پیش‌تیمار و رقم بر شاخص وزنی بنیه گیاهچه در سطح یک درصد معنی‌داری بود (جدول۱). در مقایسه میانگین برهمکنش پیش‌تیمار و رقم، تیمار کلرید کلسیم ۳ ساعت رقم E_{10} (۰/۷۵) بیش‌ترین و تیمار شاهد رقم E_{10} (۰/۴۰) کم‌ترین شاخص وزنی بنیه گیاهچه را نشان داد (جدول۲). بین تیمارهای کلرید کلسیم ۳ ساعت رقم خمین و E_{10}، آب ۱۲ ساعت رقم E_{10} و کلرید سدیم ۶ ساعت رقم E_{10} با تیمارهای شاهد در سه رقم، کلرید سدیم ۶ ساعت رقم خمین و اسید سالیسیلیک ۱۲ ساعت رقم خمین تفاوت معنی‌دار مشاهده شد (جدول۲). در رقم E_9 بیش‌ترین و کم‌ترین شاخص وزنی بینه گیاهچه به‌ترتیب در تیمارهای کلرید پتاسیم ۶ ساعت (۰/۷۳) و شاهد (۰/۴۱) مشاهده شد. در رقم خمین به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین شاخص وزنی بنیه گیاهچه به تیمار کلرید کلسیم ۳ ساعت (۰/۶۴) و اسید سالیسیلیک ۱۲ (۰/۴۷) ساعت تعلق داشت (جدول ۲). جودی و شریف زاده (Judy and Sharifzadeh, 2006) نیز ابراز داشتند اعمال تیمارهای هیدروپرایمینگ سبب افزایش معنی‌داری در بنیه بذر ارقام مختلف جو می‌شود. نتایج به‌دست آمده از این تحقیق با نتایج معروفی و همکاران (Maroufi *et al*., 2011) و خزاعی و همکاران (Khazaee *et al*., 2011) مطابقت داشت.

انرژی جوانه‌زنی در روز چهارم

برهمکنش پیش‌تیمار و رقم تاثیر معنی‌داری در سطح یک درصد بر انرژی جوانه‌زنی روز چهارم داشت (جدول۱). مقایسه برهمکنش پیش‌تیمار و رقم تیمار کلرید سدیم ۶ ساعت رقم E_{10} (۹۷/۳۳) بیش‌ترین و تیمار شاهد رقم E_{10} (۶۲/۰۰) کم‌ترین انرژی جوانه‌زنی را نشان دادند (جدول ۲). در رقم E_9 کلرید پتاسیم ۶ ساعت (۹۶/۳۳) و شاهد (۶۳/۰۰) به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین انرژی جوانه‌زنی روز چهارم را نشان دادند (جدول ۲). در رقم خمین بیش‌ترین و کم‌ترین انرژی جوانه‌زنی روز چهارم به ترتیب در تیمار آب ۱۲ ساعت (۹۴/۶۷) و شاهد (۷۶/۰۰) مشاهده شد (جدول ۲).

همبستگی بین صفات (جدول- ۳) نشان داد که بین سرعت جوانه‌زنی با صفاتی نظیر انرژی جوانه‌زنی شدن روز چهارم، شاخص بنیه طولی و وزنی همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد. بیانگر این مطلب است که با افزایش انرژی جوانه‌زنی سرعت جوانه‌زنی افزایش می‌یابد و در نتیجه شاخص بنیه وزنی و طولی گیاهچه افزایش می‌یابد.

جدول۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات جوانه‌زنی بذرهای بدست آمده از پیش تیمار بذر گیاه مادری در مزرعه

Table 1. Analysis of variance (Mean squares) germination traits of obtained seeds from seed pretreatment of mother plant in the farm

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	شاخص طولی بنیه Vigor length index	شاخص وزنی بنیه Vigor weight index	انرژی جوانه‌زنی Germination energy
تکرار Block	2	13.82 ns	0.002 ns	2.91 ns	0.003 ns	234.9*
پیش‌تیمار Pretreatment (P)	6	301.43**	0.01**	657.55**	0.06**	829.11**
رقم Cultivar (C)	2	45.73ns	0.003 ns	293.45*	0.01**	109.85 ns
P×C	12	75.21**	0.001 ns	131.91*	0.01**	238.64**
خطا Error	40	27.26	0.001	60.45	0.002	50.17
CV (%)		5.86	8.19	11.72	8.5	8.53

ns *و **به‌ترتیب عدم اختلاف معنی دار، اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

ns, * and **, significant at 5% and 1% probability levels, respectively

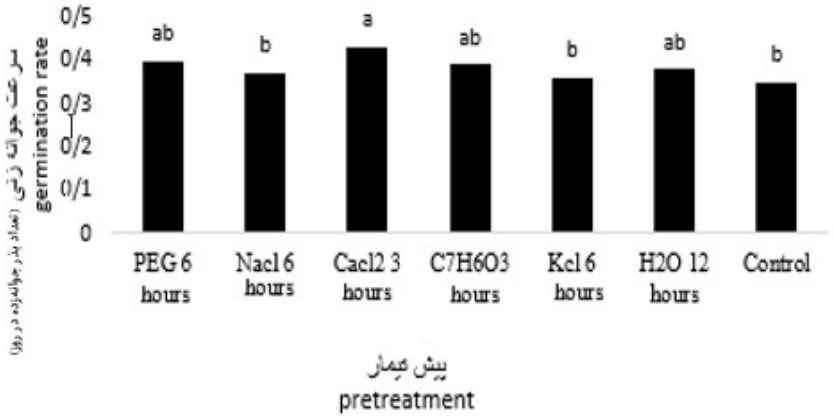
جدول۲- مقایسه میانگین صفات جوانه‌زنی بذرهای به‌دست آمده از پیش‌تیمار بذر گیاه مادری در مزرعه.

Table 2. Mean comparison the germination traits of obtained seeds from seed pretreatment of mother plant in the farm

پیش‌تیمار Pretreatment	ارقام Cultivars	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	شاخص طولی بنیه Vigor length index	شاخص وزنی بنیه Vigor weight index	انرژی جوانه‌زنی Germination energy
PEG 6 hours	E_9	91.00a-c	61.66b-e	0.54d-f	91.00a-c
	E_{10}	93.33ab	64.91b-e	0.59c-f	89.33a-d
	Khomain	88.33a-d	66.39b-d	0.54d-f	85.33a-e
NaCl 6 hours	E_9	79.00cd	58.34b-e	0.56d-f	64.33fg
	E_{10}	97.33a	76.33ab	0.69a-c	97.33a
	Khomain	81.33b-d	60.64b-e	51.00e-h	69.33e-g
$CaCl_2$ 3 hours	E_9	96.33a	72.15a-c	0.63b-e	95.00ab
	E_{10}	94.66ab	88.36a	0.75a	92.00a-c
	Khomain	90.66a-c	72.29a-c	0.64a-d	85.33a-e
$C_7H_6O_3$ 12 hours	E_9	85.33a-d	53.36c-e	0.55d-f	77.33b-g
	E_{10}	84.30a-d	61.36b-e	0.53d-f	72.00d-g
	Khomain	90.67a-c	58.90b-e	0.47f-h	80.00a-f
KCl 6 hours	E_9	88.00a-d	65.98b-d	0.52d-g	77.33b-g
	E_{10}	93.00ab	74.92ab	0.57d-f	90.00a-d
	Khomain	96.00a	69.09a-d	0.59c-f	94.67ab
H_2O 12 hours	E_9	96.33a	73.97ab	0.73ab	96.33a
	E_{10}	94.66ab	74.74ab	0.64a-d	93.33a-c
	Khomain	94.67ab	76.34ab	0.61c-e	90.67a-c
Control	E_9	76.33d	49.75de	0.41gh	63.00fg
	E_{10}	75.33d	45.59e	0.40h	62.00g
	Khomain	84.00a-d	67.49b-d	0.48f-h	76.00c-g

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن می باشد

Means with similar letters in each column are not significantly different according to Duncan's multiple range tests at 5% probability level



میانگین‌های با حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن می باشد.

Means with similar letters are not significantly different according to Duncan's multiple range tests at 5% probability level.

شکل ۱- مقایسه میانگین سرعت جوانه‌زنی بذرهای بدست آمده از پیش‌تیمار بذر گیاه مادری در مزرعه.

Figure 1. Mean comparison the germination rate of obtained seeds from seed pretreatment of mother plant in the farm

جدول ۳- همبستگی بین ویژگی‌های جوانه‌زنی و شاخص بنیه

Table 3. Correlation between germination characteristics and vigor index

ویژگی‌های جوانه‌زنی و بنیه Germination characteristics and vigor	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	شاخص طولی بنیه Vigor length index	شاخص وزنی بنیه Vigor weight index	انرژی جوانه‌زنی Germination energy
درصد جوانه‌زنی Germination percentage	1				
سرعت جوانه‌زنی Germination rate	0.036 ns	1			
شاخص طولی بنیه Vigor length index	0.74**	0.086ns	1		
شاخص وزنی بنیه Vigor weight index	0.70**	0.26*	0.73**	1	
انرژی جوانه‌زنی Germination energy	0.90**	0.29*	0.66**	0.77**	1

ns *و **به‌ترتیب عدم اختلاف معنی دار، اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

ns, * and **, significant at 5% and 1% probability levels, respectively

آلفا آمیلاز

آلفا آمیلاز به‌طور قابل توجهی تحت تاثیر پیش‌تیمار قرار گرفت (جدول۴). بذرهای حاصل از پیش‌تیمار مزرعه تیمار کلرید کلسیم ۳ ساعت و کلرید پتاسیم ۶ ساعت به‌ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار آلفا آمیلاز را نشان دادند. تیمار کلرید کلسیم ۳ ساعت و آب ۱۲ ساعت با تیمار کلرید سدیم و کلرید پتاسیم ۶ ساعت تفاوت معنی‌دار داشت (جدول۵). این به این معنی است که فعالیت آلفا آمیلازی در تیمار کلرید کلسیم ۳ ساعت و آب ۱۲ ساعت بیش‌تر از کلرید سدیم و کلرید پتاسیم ۶ ساعت است (جدول۵). آنزیم آلفا آمیلاز از آنزیم‌های حیاتی در متابولیسم کربوهیدرات‌ها در فرایند جوانه‌زنی است که کاهش فعالیت آن می‌تواند باعث کاهش جوانه‌زنی بذر گردد. الیویرا و همکاران (Oliveira-Neto *et al*., 1993) تاخیر در جوانه‌زنی و ظهور گیاهچه لوبیا چشم بلیلی ناشی از کاهش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز را گزارش کردند.

آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز(SOD)

پیش‌تیمار به‌طور معنی‌داری آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز را تحت تاثیر قرار داد (جدول۴). آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز بذرهای حاصل از پیش‌تیمار مزرعه در تیمار آب ۱۲ ساعت شاهد و به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار را نشان داد (جدول۵). بین تیمارهای پیش‌تیمار تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول۵). فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز به‌عنوان یک آنزیم از بین برنده یون سوپر اکسید است. با افزایش فعالیت این آنزیم سمیت‌زدایی یون سوپراکسید افزایش و آسیب‌های حاصله از آن در گیاه کاهش می‌یابد (Mishra *et al*., 1995). اسپین و همکاران (Espin *et al*., 2011) گزارش کردند که پیش‌تیمار می‌تواند با تغییر در بیان ژن باعث افزایش فعالیت‌های بیوشیمیایی در گیاهچه نخود گردد.

قند محلول

قند محلول به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر پیش‌تیمار قرار گرفت(جدول۴). بیش‌ترین و کم‌ترین قند محلول به‌ترتیب از تیمار کلرید کلسیم ۳ ساعت و شاهد به‌دست آمد. تیمار کلرید سدیم ۶ ساعت و آب ۱۲ ساعت تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد (جدول۵). بین تیمار شاهد، کلرید پتاسیم ۶ ساعت و اسید سالیسیلیک ۱۲ ساعت تفاوت معنی‌دار مشاهد نشد (جدول۵). انتصاری و همکاران (Entesari *et al*., 2013) گزارش کردند که استفاده از تیمارهای بیولوژیک به همراه بذرهای پیش‌تیمار شده می تواند نسبت به شرایطی که بذرهای بدون این ترکیب تیماری باشند (حتی اگر یکی از این تیمارها باشد) کارایی مولفه‌های جوانه‌زنی و همچنین فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاه را بهبود ببخشد. نتایج نشان داد که پیش‌تیمار نسبت به بدون پیش‌تیمار در ترکیب با مواد بیولوژیک کارایی بهتری داشتند.

پراکسیداز

پیش‌تیمار به‌طور معنی‌داری پراکسیداز را تحت تاثیر قرار داد (جدول۴). تیمار آب ۱۲ ساعت و شاهد به‌ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار پراکسیداز را نشان داد

(جدول۵). تیمار کلرید کلسیم ۳ ساعت و تیمار آب ۱۲ ساعت تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد (جدول۵). بین تیمار کلرید سدیم، کلرید پتاسیم ۶ ساعت و اسید سالیسیلیک ۱۲ ساعت تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد. بین تیمار پلی-اتیلن‌گلیکول و شاهد تفاوت معنی‌دار مشاهده شد (جدول۵). پرمون و همکاران (Permon *et al*., 2013) بیان کردند که بیش‌ترین فعالیت پراکسیداز در پیش‌تیمار ترکیبی اسید سالسیلیک و اسید جیبرلیک و کم‌ترین فعالیت آن در شاهد مشاهده شد.

جدول۴- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات بیوشیمیایی بذرهای بدست آمده از پیش تیمار بذر گیاه مادری در مزرعه

Table 4. Analysis of variance (Mean squares) the biochemical traits of obtained seeds from seed pretreatment of mother plant in the farm

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	الفا آمیلاز Alpha-amylase	سوپر اکسید دیسموتاز SOD	قند محلول Solution sugar	پراکسیداز Peroxidase	هدایت الکتریکی EC
تکرار Block	2	0.01 ns	143584.8*	0.048*	0.67 ns	0.44 ns
پیش‌تیمار Pretreatment (P)	6	0.21**	436636.1**	0.19**	18.76**	1.55**
رقم Cultivar (C)	2	0.01 ns	38639.3 ns	0.001 ns	3.06 ns	0.34 ns
P×C	12	0.001 ns	35706.93 ns	0.001 ns	2.15 ns	0.02 ns
خطا Error	40	0.003	49652.69	0.015	1.19	0.11
CV (%)		11.97	15.49	16.81	11.94	16.97

ns *و **به‌ترتیب عدم اختلاف معنی دار، اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

ns, * and **, significant at 5% and 1% probability levels, respectively

جدول۵- مقایسه میانگین صفات بیوشیمیایی بذرهای بدست آمده از پیش‌تیمار بذر گیاه مادری در مزرعه

Table 5. Mean comparison the biochemical traits of obtained seeds from seed pretreatment of mother plant in the farm

پیش‌تیمار Pretreatment	الفا آمیلاز (نانومتر بر ثانیه) Alpha-amylase nM .sec-1	سوپر اکسید دسموتاز (واحد در گرم پروتئین) SOD unit per g protein	قند محلول گرم/میلی‌گرم Solution sugar g. mg^{-1}	پراکسیداز (میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) Peroxidase (mg protein per min)	هدایت الکتریکی (میکروزیمنس بر سانتی‌متر گرم) EC ($\mu Siemens.cm^{-1}$)
PEG 6 h	0.33a-c	675.8bc	0.48ab	9.34b	1.70b
NaCl 6 h	0.27cd	536.4bc	0.32b	8.45bc	1.89b
$CaCl_2$ 3 h	0.39a	598.2bc	0.55a	10.95a	1.50b
$C_7H_6O_3$ 12 h	0.28b-d	800.7b	0.19c	8.09bc	1.90b
KCl 6 h	0.25d	754.9bc	0.19c	8.78bc	2.37a
H_2O 12 h	0.35ab	459.1c	0.38b	11.22a	1.69b
Control	0.30b-d	1127.3a	0.18c	7.37c	2.67a

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن می باشد

Means with similar letters in each column are not significantly different according to Duncan's multiple range tests at 5% probability level

هدایت الکتریکی

پیش‌تیمار به‌طور معنی‌داری هدایت الکتریکی را تحت تاثیر قرار داد (جدول۴). تیمار شاهد بیش‌ترین و تیمار کلرید کلسیم ۳ ساعت کم‌ترین هدایت الکتریکی را نشان دادند (جدول۵). بین تیمار کلرید پتاسیم ۶ ساعت و شاهد تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد (جدول۵). بین تیمارهای پلی‌اتیلن‌گلیکول، کلرید سدیم ۶ ساعت، اسید سالیسیلیک ۱۲ ساعت، کلرید کلسیم ۳ ساعت و آب ۱۲ ساعت تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد (جدول۵). بذرهای پرایم‌شده به علت بهبود پوسته و افزایش بنیه بذر دارای نشت کم‌تری نسبت به شاهد بودند. زمردی و همکاران (Zomrodi *et al*., 2013) نتایج مشابهی را گزارش کردند. نتایج حاصل از این تحقیق حاکی از آن است که اعمال پیش‌تیمار باعث تولید بذرهایی با کیفیت بالاتر می‌گردد. در این شرایط

نشت مواد از پوسته بذر کاهش می‌یابد که این امر به علت جلوگیری از آسیب‌دیدن پوسته بذرهای، سهولت پاره‌شدن و افزایش نفوذپذیری غشا سلولی است (Kochaki and Haghighi Sadrabadi, 2000). همچنین بذرهای قوی احتمالاً غشاءهای خود را با سرعت بیش‌تری سازمان‌دهی می‌کنند، لذا تراوش از آن‌ها نسبت به بذرهای ضعیف‌تر کم‌تر خواهد بود و در نتیجه هدایت الکتریکی کم‌تری خواهد داشت (Haghighi Sadrabadi. 2007).

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد بذرهای تولیدشده از پیش-تیمار بذرهای گیاه مادری از قابلیت جوانه‌زنی وکیفیت بالایی برای جوانه‌زنی برخوردار بودند. صفات جوانه‌زنی بذرهای بدست آمده از پیش‌تیمار گیاه مادری در ارقام مختلف متفاوت بود. انتخاب مناسب پیش‌تیمارها با توجه به رقم می‌تواند باعث بهبود صفات جوانه‌زنی در لوبیا چیتی گردد. بذرهای حاصل از پیش‌تیمار گیاه مادری به دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌ها در مرحله دوم جوانه‌زنی، وجود مقدار بیش‌تری از هیدرات کربن‌ها و ذخیره عناصر غذایی توانستند پارامترهای جوانه‌زنی و رشد گیاهچه بهبود بخشند. بنابراین می‌توان از بذرهای حاصل از پیش-تیمار گیاه مادری برای بهبود جوانه‌زنی، استقرار بهتر گیاهچه و افزایش عملکرد لوبیای چیتی استفاده کرد.

منابع

Abbasdokht, H. and Edalatpishe, M. 2008. Priming, types and their role in agriculture. First National Conference on Seed Science and Technology of Iran. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. (In Persian)**(Conference)**

AbdulBaki, A.A. and Anderson, J.D. 1973. Vigor determination in soybean by multiple criteria. Crop Science, 13: 630-633. **(Journal)**

Agarwal, R.L. 2003. Seed Technology. Publication Company Limited New Delhi, India. 550pp. **(Book)**

Ansari, A., Tavakkolafshari, R., Sharifzadeh, F. and Shayanfar, A. 2013. The role of priming in the drug storage and seed germination under salinity stress in mountain rye (*Secale montanum*). Journal of Field Crop Science, 44(2): 181-189. (In Persian)**(Journal)**

Bewley, J.D. and Black, M. 1978. Physiology and biochemistry of seed in relation to germination. New York. Springer-verlag. **(Book)**

Burguieres, E., McCu, P., Kwon, Y. and Shetty, K. 2007. Effect of vitamin C and folic acid on seed vigour response and phenolic-linked anti oxidation activity. Bio Resource Technology, 98: 1393-1404. **(Journal)**

Chance, B. and Maehly, A.C. 1955. Assay of catalases and peroxidase. Methods in Enzymology, 2: 764–775. **(Journal)**

Demirkaya, M., Okçu, G., Atak, M., Çikili, Y. and Kolsarici, Ö. 2006. Seed treatment to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annus* L.). European Journal of Agronomy, 24: 291-295. **(Journal)**

Entesari, M., Sharifzadeh, F., Dashtaki, M. and Ahmadzadeh, M. 2013. Bio-priming effect on germination, physiological traits, anti-oxidant enzyme and plant disease control Rhizoctonia. Journal of Field Crop Science, 44 (1): 35-45. (In Persian)**(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., Afzal, I. and Khaliq, A. 2006. Optimization of hydropriming techniques for rice seed invigoration. Seed Science and Technology, 34:507–512. **(Journal)**

Fateh, H., Sesosemardeh, A. and Karimpour, M. 2010. The effects of priming and sowing date on the activities of antioxidant enzymes and pea yield in rainfed conditions. Plant Production Technology, 10 (2): 1-16. (In Persian)**(Journal)**

Ghassemi-Golezani, K., Chadordooz-Jeddi, A., Nasrollahzadeh, S. and Moghaddam, M. 2010. Effects of hydro-priming duration on seedling vigour and grain yield of Pinto bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 38 (1): 109-113. **(Journal)**

Haghighi Sadrabadi, R. 2007. The comparison of potassium leakage and electrical conductivity tests in the evaluation of alfalfa seed vigor. Journal of Agricultural Research, 5(1): 97-108. (In Persian)**(Journal)**

Hajikhani, S., Habibi, H., Shekari, F. and Fotokian, M.H. 2011. The effect of priming on yield and yield components of beans in water stress conditions. Journal of Field Crops, 1 (42): 191-197. (In Persian)**(Journal)**

Harris, D., Rashid, A., Miraj, G., Arif, M. and Shah, H. 2007. On-farm seed priming with zinc sulphate solution.A cost-effective way to increase the maize yields of resource-poor farmers. Field Crop Reasearch, 102: 119-127. **(Journal)**

International Seed Testing Association (ISTA). 2008. Hand book for Seedling evaluation (3rd .ed). International Seed Testing Assosiation (ISTA), Zurich, Switzerland.

International Seed Testing Association (ISTA). 2010. International Seed Testing Association. Rules Proposals for the International Rules for Seed Testing 2010 Edition OM approved 2009-06-18.doc Approved by OM 2009-06-18 Seed Science and Technology. 47 pp. **(Handbook)**

Jahanbakhshi, P., Abdali, A., Sharafizadeh, M. and Habibikhaniani, B. 2012. The effects on germination and yield of three varieties of agricultural osmo¬praming under exhaustion. Journal of Crop Physiology, 4(16): 19-32. (In Persian)**(Journal)**

Jianjun, F.C., Kunjie, K., Giyoen, X., Yong, Z., Xiang, Y. and Jianqiang, L. 2007. Effect of seed priming on seedling growth and disinfection to *Acidovorax avenae* sub sp. *Citrulli* in triploid watermelon seeds. Acta Phytopathologica Scandinavica, 37(5): 528-534. **(Journal)**

Jie, L., Gongshe, L., Dongmei, O., Fangfang. L. and Enhua, W. 2002. Effect of PEG on germination and active oxygen metabolism in wild rye (*Leymu. chinensis*) seeds. Acta Prataculturae Sinica, 11: 59-64. **(Journal)**

Judy, M. and Sharifzadeh, F. 2006. Effect of priming in barley cultivars. Desert, 11 (1): 25-36. (In Persian)**(Journal)**

Khalaj, H .2006. Effects of drought stress during seed development, the quality and vigor of winter canola seed production. MA Thesis, Tehran University. 161 p. (In Persian)**(Thesis)**

Khazaee, H., Nezami, T., Dashti, M. and Mehrabad, C. 2010. Seed priming characteristics of triticale seed germination under salt stress. The New Findings Agriculture, 4(4): 303-318. (In Persian)**(Journal)**

Kochaki, A. and Haghighi Sadrabadi, R. 2000. Evaluation of four varieties of alfalfa seed with aging and electrical conductivity of the final test. Desert, 5 (1): 15-25. (In Persian)**(Journal)**

Kochert, G. 1978. Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method. In helebust J.A., Craig J. (ed): Hand book of physiological method, pp96-97. Carbring unir. Press, Cambridge. **(Handbook)**

Maguire, J.D. 1962. Speed of germination in selection and evaluation for seedling vigor. Crop Science, 2: 176-177. **(Journal)**

Majnoon Hoseini, N. 2005. Bean in Iran. Tehran University Press. (4th ed). 11-32. (In Persian)**(Book)**

Maroufi, K., Aliabadi Farahani, H. and Moaveni, P. 2011. Effects of hydropriming on seedling production in kidney bean (*Phaseolus Vulgaris* L.). Advances in Environmental Biology, 5(8): 2216-2219. **(Journal)**

Mishra, N.P., Mishra, R.K. and Singhal, G.S. 1995. Changes in the activities of anti-oxidant enzymes during exposure of intact wheat leaves to strong visual light at different temperatures in the presence of protein synthesis inhibitors. Plant Physiology, 102: 903–910. **(Journal)**

Mohajeri, F., Taghvaei, M., Ramroudi, M. and Galavi, M. 2015a. Critical concentration of calcium chloride and potassium chloride to pretreatment seed. The Third National Conference of Iran Environmental and Agricultureal Research. (In Persian)**(Journal)**

Mohajeri, F., Taghvaei, M., Ramroudi, M. and Galavi, M. 2015b. The evaluation of the responses of Pinto bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedling emergence and growth to different seed priming. Journal of Agricultural Science, 7(7): 235-242. **(Journal)**

Mansouri, B. and Aboutalebian, M.A. 2013. Effect of on-farm seed priming and supplementary irrigation on emergence rate, yield and yield components of two chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. Journal of Plant Production, 20 (2): 179-196. **(Journal)**

Oliveira-Neto, B., Damasceno, A.T., Assis, F., Gomes-Filho, E., Enéas-Filho, J., TarquinioPenalosa, A.P.S. and Eira, M.T.S. 1993. Hydration-dehydration treatments on tomato seeds. (*Lycopersicon*

esculentum Mill.) Treatments on the germination of tomato, pepper and cucumber. Seed Science and Technology, 29: 691-697. **(Journal)**

Permon, G.H., Ebadi, A., Ghaviazm, A. and Miri, M. 2013. Effect of seed priming on germination and seedling growth of daisies in *Matricaria chamomilla*. Electronic Journal of Crop Production, 6(3): 541-564. (In Persian)**(Journal)**

Sairam, R.K., Rao, K.V. and Srivastava, G.C. 2002, Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Journal of Plant Science, 163: 1037-1046. **(Journal)**

Soltani, E., Akram-Ghaderi, F. and Maemar, H. 2007. The effect of priming on germination components and seedling growth of cotton seeds under drought. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resource, 14(5): 1-8. (In Persian)**(Journal)**

Varier, A., Vari, A.K. and Dadlani, M. 2010. The subcellular basis of seed priming. Current Science, 99: 450-456. **(Journal)**

Xiao, Z., Storms, R. and Tsang, A. 2006. A quantitative starch-iodine method for measuring alpha-amylase and glucoamylase activities. Analytical Biochemistry, 351: 146-148. **(Journal)**

Zomrodi, H. 2013. The introduction of the International Research Center and the National Center for Research Beans. Proceedings of the 5nd National Pulse Congress of Iran, Karaj, Iran. (In Persian)**(Conference)**

Evaluation of germination factors, antioxidant enzymes and electrical conductivity of pinto bean (*Phaseolus vulgaris* L.) obtained seeds from seed different pre-treatment of the mother plant

Fatemeh Mohajeri[1]*, Mahmoud Ramroudi[2], Mansour Taghvaei[2], Mohammad Gelvi[2]

Received: February 1, 2016 Accepted: March 19, 2016

Abstract

Due to the role seeds germination of the plant establishment, optimal germination as a key factor in agriculture is important. In order to determine the components of germination, enzymes, antioxidants and electrical conductivity seeds obtained from pretreatment a mother plant seed on the farm a factorial experiment in a completely randomized design with three replications was conducted in the laboratory of Bio-center, College of Agriculture, Zabol University. first factor include varieties at 3 levels (Pinto bean varieties E9, E10, and Khomain) and second factor seeds obtained from pretreatment the mother plant seed on the farm at 7 levels: 1-(polyethylene glycol (PEG) -5 bar at 6 hours, 2- salicylic acid (C7H6O3) 500 mg per liter at 12 hours, 3- potassium chloride (Kcl) -20 mM at 6 hours, 4-calcium chloride(Cacl2) - 15 mM at 3 hours, 5- sodium chloride (Nacl) -20 mM at 6 hours, 6- distilled water at 12 hours and 7- without pretreatment (control). Percentage and rate germination, weight and lengh vigor index, energy germination 4th days, Alpha-amylase, Sugar solution, Peroxidase, Peroxidase and super oxide despotize were measured. The result showed that the interaction between pretreatment and varieties on germination traits include germination percentage, weighting vigor index, Energy Germination 4th days at 1% and vigor index length at 5% were significant. The biochemical characteristics of seeds obtained from pretreatment the mother plant seed on the farm was significant at 1%. The highest percentage and germination rate were obtained calcium chloride at 3 hours varieties E9, highest vigor index on calcium chloride at 3 hours varieties E10 and soluble sugar, alpha-amylase, peroxidase on calcium chloride at 3 hours. The result showed pretreatment Cacl2 at 3 hours improved the germination and growth seedling on bean. Pretreatment seeds of mother plant are good germination and according to variety and selection of appropriate pretreatment for mother plant, can improve germination, establishment and growth seedling beans.

Keywords: Alpha-Amylase; Germination energy; Malon de-aldehyde; Peroxidase; Seed vigor index; Soluble sugar

1. Ph.D candidate of Agronomy, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Zabol University, Zabol, Iran
2. Faculty members, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Zabol University, Zabol, Iran

*Corresponding Author: fatemehmohajeri@uoz.ac.ir