علوم و تحقیقات بذر ایران
سال چهارم/ شماره سوم/ ۱۳۹۶ (۱۲ - ۱)

DOI: 10.22124/jms.2017.2503

تأثیر اسید آسکوربیک بر جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در بذرهای زوال یافته گلرنگ رقم گلدشت

نسرین بهاروند[۱]، بتول مهدوی*[۲]، مریم دهجی‌پور حیدر آبادی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۲/۱۳

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر اسید آسکوربیک بر جوانه‌زنی و ویژگی‌های فیزیولوژیک بذرهای زوال یافته گلرنگ رقم گلدشت، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. بذرهای بدون زوال و زوال یافته گلرنگ (نگهداری در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴،۶، ۸ و ۱۰ روز) با غلظت‌های ۰، ۰/۲۸ و ۰/۵۶ میلی‌مولار اسید آسکوربیک پیش تیمار شدند. در این پژوهش صفات درصد و سرعت جوانه‌زنی، بنیه گیاهچه، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه، وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه، میزان مالون دی آلدئید، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و میزان پروتئین اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد با افزایش زوال جوانه‌زنی و رشد گیاهچه کاهش یافت. در تمامی سطوح زوال، غلظت ۰/۲۸ میلی‌مولار اسید آسکوربیک سرعت جوانه‌زنی، بنیه گیاهچه، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه را نسبت به سایر غلظت‌ها افزایش داد. زوال میزان مالون دی آلدئید را افزایش داد ولی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و میزان پروتئین را کاهش داد. در تمامی سطوح زوال، اسید آسکوربیک ۰/۲۸ میلی‌مولار سبب کاهش میزان مالون دی‌آلدئید بعد از ۱۲ ساعت آبگیری شد، در حالی‌که فعالیت کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و میزان پروتئین را افزایش داد. نتایج این آزمایش نشان داد غلظت ۰/۲۸ میلی‌مولار اسید آسکوربیک در بذرهای زوال یافته گلرنگ توانست جوانه‌زنی و رشد گیاهچه را با کاهش پراکسیداسیون غشاء و افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز بعد از ۱۲ ساعت آبگیری بهبود بخشد.

واژه‌های کلیدی: پرایمینگ، زوال، سوپراکسید دیسموتازکاتالاز

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان، رفسنجان، ایران
۲- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان، رفسنجان، ایران
* نویسنده مسئول: E-mail:b.mahdavi@vru.ac.ir

مقدمه

بذر خشک گلرنگ در حدود ۲۱ درصد پروتئین، ۴۰ درصد روغن، ۳۴ درصد هیدرات کربن و ۵ درصد خاکستر دارد و به‌عنوان یک بذر با کیفیت بالا، عملکرد اقتصادی بالایی دارد (Perry, 1980). پیری یا زوال بذر به فرآیند از دست رفتن کیفیت بذر با گذشت زمان اطلاق می‌شود و توانایی بذر برای زنده ماندن را کاهش می‌دهد (Basra *et al*., 2003). پیری بذر به‌عنوان یک خصوصیت ناخواسته در کشاورزی، کاهش محصول دانه و ضرر اقتصادی را موجب می‌شود. با زوال بذر، بنیه بذر که اولین جزء از کیفیت بذر است کاهش می‌یابد و به‌دنبال آن ظرفیت جوانه‌زنی و قوه نامیه نیز کاهش نشان می‌دهد (Basra *et al*., 2003). کیفیت بذر به شدت تحت تأثیر عوامل مختلفی مانند دمای محیط، محتوی رطوبت بذر و رطوبت نسبی محیط قرار می‌گیرد (Priestly, 1986). مکانیزم‌های مختلفی در فرآیند زوال شرکت دارند که سبب کاهش بنیه و کیفیت بذر می‌شوند. عدم توانایی بذر در تولید آنزیم‌های ضروری جهت سم‌زدایی و ترمیم یکی از پیامدهای آنزیم‌سازی ناقص و ناکارا در بذرهای زوال یافته است (Simontacchi *et al*., 1993). در فیزیولوژی بذر، گونه‌های فعال اکسیژن شامل پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، رادیکال سوپراکسید (O_2^-)، رادیکال هیدروکسیل (OH^-) معمولاً به‌عنوان مولکول‌های سمی مورد توجه‌اند که تجمع آنها باعث پراکسیداسیون چربی‌ها، غیر فعال شدن آنزیم‌ها، خسارت به اسیدهای نوکلئیک و تخریب غشاهای سلول می‌شود (McDonald, 1999; Bailly, 2004). واکنش انواع فعال اکسیژن (ROS[1])، نقش مهمی در فرسودگی بذر در طول پیری بذر ایفا می‌کند (Simontacchi *et al*., 1993). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون ردوکتاز و آنزیم‌های دیگر باعث حذف و غیر فعال شدن گونه‌های فعال اکسیژن می‌شوند (Bailly, 2004; McDonald, 1999). گوئل و همکاران (Goel *et al*., 2003) گزارش کردند که پیری زودرس بذر سبب کاهش توانایی جوانه‌زنی پنبه می‌گردد. آن‌ها دریافتند که این کاهش جوانه‌زنی با افزایش میزان مالون دی آلدئید و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز همراه بود. زمانی و همکاران (Zamani *et al*., 2010) نیز گزارش کردند که زوال بذرهای گلرنگ در دو شرایط پیری مصنوعی و طبیعی به علت کاهش فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدان موجب افزایش پراکسیداسیون لیپیدها شده و در نتیجه باعث کاهش توان جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های گلرنگ می‌شود. همچنین پوری و همکاران (Poori *et al*., 2012) دریافتند که با افزایش شدت زوال در بذرهای پنبه درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و وزن خشک کاهش می‌یابد.

یکی از راهکارهای تحریک جوانه‌زنی و افزایش استقرار گیاهچه‌ها در شرایط تنش، استفاده از روش‌های مختلف پیش تیمار بذرهاست. یکی از رایج‌ترین این روش‌ها استفاده از پرایمینگ است. پرایمینگ بذر دامنه محیطی مناسب برای جوانه‌زنی را افزایش داده و سبب ظهور سریع‌تر و یکنواخت گیاهچه‌ها می‌گردد (McDonald, 1999). بعضی محققین اثرات مثبت پرایمینگ بر جوانه‌زنی گیاهان مختلف را مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که این روش‌های تیماری در افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی مؤثر هستند (Murungu *et al*., 2003; Maurmicale,1996; Demir kaya *et al*., 2006; Kang *et al*., 2007). گزارش‌های مختلف حاکی از آن است که استفاده از تیمارهای مختلف بذری سبب افزایش در شاخص‌های جوانه‌زنی بذرهای زوال یافته می‌شود (Seiadat *et al*., 2012). یکی از موادی که برای پیش تیمار بذر استفاده می‌شود اسید آسکوربیک می‌باشد. اسید آسکوربیک مولکول کوچکی در گیاه با خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد و نقش مهمی در فتوسنتز و سیستم دفاعی علیه تنش اکسیداتیو دارد (Azooz and Al-Fredan, Athar *et al*., 2008; 2009). گزارش شده است که پیش تیمار با اسید آسکوربیک می‌تواند در بهبود جوانه‌زنی بذرهای زوال یافته پنبه موثر باشد (Goel *et al*., 2003). همچنین عالیوند و همکاران (Alivand *et al*., 2013) گزارش کردند که تیمار بذزهای زوال یافته کلزا با اسید آسکوربیک سبب افزایش بهبود جوانه‌زنی و تولید گیاهچه‌های نرمال می‌گردد. شاید یکی از دلایل بهبود صفات جوانه‌زنی توسط اسید آسکوربیک وجود خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن و محدود کردن فعالیت رادیکال‌های آزاد باشد (Buettner and Schafer, 2004).

بذرهای روغنی

[1] Reactive oxygen species

مانند گلرنگ که مقادیر قابل توجهی اسید چرب لینولئیک دارند بسیار مستعد زوال هستند (Goel and Sheoran, 2003). در ایران انبارداری بذرها در شرایط مختلف انجام می‌گیرد، در نتیجه بذرهایی با سطوح مختلف زوال حاصل می‌شود. از این‌رو بررسی راهکارهایی برای بهبود جوانه‌زنی بذرهای زوال یافته از اهمیت بالایی برخوردار است. بنابراین این مطالعه به‌منظور ارزیابی اثرات کاربرد اسید آسکوربیک به‌صورت پرایمینگ بذر بر جوانه‌زنی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز و بررسی پراکسیداسیون چربی‌ها در بذرهای زوال یافته گلرنگ رقم گلدشت انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ولی‌عصر (عج) رفسنجان در بهار سال ۱۳۹۳ انجام شد. برای ایجاد سطوح مختلف زوال از روش تسریع پیری استفاده شد (Hampton and TeKrony, 1995). در این تحقیق از بذرهای گلرنگ رقم گلدشت استفاده شد. رقم گلدشت گلرنگ، گیاهی زودرس، بهاره، متحمل به سرما، مقاوم به ریزش با میزان روغن ۲۵ تا ۳۰ درصد و مناسب کشت در مناطق با اقلیم گرم و معتدل کشور می‌باشد. این رقم از مؤسسه پاکان بذر اصفهان تولید سال ۹۳ تهیه گردید. بذرها به‌طور یکنواخت بر روی توری‌های سیمی استریل شده پخش شدند سپس توری‌های محتوی بذرها را روی ظرف‌های حاوی آب قرار داده و روی آن‌ها نایلون کشیده و محکم بسته و در نهایت درون دستگاه ژرمیناتور با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۱۰۰ درصد قرار داده شدند. پس از گذشت زمان‌های ۴، ۶، ۸ و ۱۰ روز بذرها خارج شده و پس از شستشوی بذرها با آب مقطر به‌مدت ۲۴ ساعت در معرض هوای آزاد قرار داده شد تا کاملاً خشک شوند. برای اعمال تیمارهای پرایمینگ بذرها به‌مدت ۸ ساعت در آب مقطر (۰ میلی‌مولار) و به‌مدت ۸ ساعت در محلول‌های ۰/۲۸ و ۰/۵۶ میلی‌مولار اسید آسکوربیک، در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بعد از این عمل، برای تمام تیمارها در هر ۳ تکرار، ۵۰ عدد از بذرهای تیمار شده، به پتری های استریل حاوی کاغذ صافی واتمن شماره ۱ انتقال داده شده و به هر یک از پتری ها ۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و در ژرمیناتور با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۶ روز قرار داده شدند. خروج ریشه‌چه به‌عنوان معیار بذر جوانه زده در نظر گرفته شد. شمارش بذرهای جوانه زده هر روز انجام شد و تا زمانی که در دو شمارش متوالی، افزایش در جوانه‌زنی مشاهده نگردید، ادامه یافت. در این آزمایش درصد و سرعت جوانه‌زنی طول ساقه‌چه و ریشه‌چه، وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه و بنیه گیاهچه اندازه‌گیری شد. برای محاسبه درصد جوانه‌زنی (GP) و سرعت جوانه‌زنی (GR) و بنیه گیاهچه از رابطه‌های شماره (۱) ، (۲) و (۳) زیر استفاده گردید (Ramana *et al*., 2002).

$$GP = \frac{n}{N} \times 100 \qquad \text{رابطه (۱)}$$

که در آن n: تعداد بذرهای جوانه زده بعد از هشت روز و N: تعداد کل بذرها

$$GR = \sum \left(\frac{ni}{Di} \right) \qquad \text{رابطه (۲)}$$

که در آن n: تعداد بذرهای جوانه زده در روز iام و Di: تعداد روز پس از شروع آزمایش است.

(۳) میانگین طول گیاهچه (cm) × درصد جوانه‌زنی = بنیه گیاهچه

برای خشک کردن نمونه‌ها، به‌مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند.

به‌منظور اندازه‌گیری خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، ابتدا بذرهای تیمار شده در پتریدیش‌های استریل قرار داده شده و مقدار ۷ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به آن‌ها اضافه شد و سپس در ژرمیناتور با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۲ و ۲۴ ساعت قرار داده شدند و بذرها جهت اندازه‌گیری صفات مختلف استفاده شدند.

برای اندازه‌گیری میزان مالون دی‌آلدئید (MDA) از روش دی‌ووس و همکاران (De Vos *et al*., 1991) استفاده شد. در این روش، نمونه‌های منجمد به میزان ۰/۲ گرم در ۳ میلی‌لیتر TCA (اسید تری کلرواستیک) ۱۰ درصد عصاره‌گیری شدند. سپس به ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون صاف شده ۱ میلی‌لیتر TBA (اسید تیوباربی توریک) ۰/۵ درصد به هر کدام از نمونه‌ها اضافه شد و در حمام آب گرم ۱۰۰°C به‌مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه، لوله‌ها از حمام خارج شده و پس از سرد شدن میزان مالون دی‌آلدئید با اندازه‌گیری

جذب در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی (ε=155 $\mu M\ cm^{-1}$) محاسبه شد. به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز ابتدا ۰/۲ گرم از بذرهای منجمد شده با بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۶/۸)، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد عصاره‌گیری شد. سپس همگن‌های حاصل در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیم‌ها و پروتئین مورد استفاده قرار گرفت. سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز به روش ککمک و هورست (Cakmak and Horst, 1991) انجام شد. مخلوط واکنش شامل عصارهٔ آنزیمی، بافر و پراکسید هیدروژن با غلظت نهائی ۱۰ میلی‌مولار بود. تجزیه آب اکسیژنه با کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر پیگیری و به ازای هر میلی‌گرم پروتئین در عصارهٔ آنزیمی بیان شد. سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به‌روش گیانوپولیتیس و ریس (Giannopolitis and Ries, 1997) انجام شد. مخلوط واکنش شامل بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۶/۸)، ال- متیونین ۱۲ میلی‌مولار، ریبوفلاوین ۱ میکرومولار، کربنات کلسیم ۵۰ میلی‌مولار، نیترو بلو تترازولیوم (NBT) ۷۵ میکرومولار و ۲۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. نمونه‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه در معرض نور قرار داده شدند و پس از این مدت جذب آن‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد. همچنین از یک لوله آزمایش حاوی مخلوط واکنش به جزء عصاره آنزیمی به‌عنوان شاهد استفاده گشت. یک واحد فعالیت سوپراکسید دیسموتاز به‌عنوان مقدار آنزیمی در نظر گرفته شد که منجر به مهار ۵۰٪ احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم می‌گردد.

میزان پروتئین گیاهچه‌ها نیز طبق روش برادفورد (Bradford, 1976) با استفاده از BSA به‌عنوان استاندارد محاسبه گردید. بدین منظور ۱ میلی‌لیتر از محلول برادفورد به‌همراه ۱۰۰ میکرولیتر عصارهٔ آنزیمی پس از مخلوط شدن در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار گرفت و جذب محلول در طول موج ۵۹۵ نانومتر ثبت شد. غلظت پروتئین بر حسب میلی‌گرم بر گرم بافت تازه با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شد.

از نرم‌افزار SAS برای تجزیه آماری داده‌ها استفاده و با مشاهده تفاوت معنی‌دار در تجزیه واریانس (ANOVA) مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت.

نتایج

درصد و سرعت جوانه‌زنی و بنیه گیاهچه

نتیجه تجزیه واریانس نشان داد که درصد و سرعت جوانه‌زنی و بنیه گیاهچه تحت تأثیر اثرات اصلی زوال و اسید آسکوربیک و اثر متقابل آن‌ها قرار گرفت (جدول ۱). با افزایش زوال درصد و سرعت جوانه‌زنی در مقایسه با تیمار بدون زوال کاهش یافت. اسید آسکوربیک با غلظت ۰/۲۸ میلی‌مولار درصد جوانه‌زنی را در تیمار بدون زوال و کلیه تیمارهای زوال نسبت به شاهد (پرایم با آب مقطر) افزایش داد، هرچند در تیمار ۶ روز زوال اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت (جدول ۲). در حالی‌که غلظت ۰/۵۶ میلی‌مولار اسید آسکوربیک سبب کاهش درصد جوانه‌زنی در تیمار بدون زوال و تیمار ۸ روز زوال نسبت به شاهد (پرایم با آب مقطر) شد ولی در سایر سطوح زوال اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت (جدول ۲). پرایمینگ با اسید آسکوربیک ۰/۲۸ میلی‌مولار در تمامی سطوح زوال سبب افزایش سرعت جوانه‌زنی نسبت به شاهد شد ولی در تیمار بدون زوال اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت. همچنین اسید آسکوربیک با غلظت ۰/۵۶ میلی‌مولار از نظر سرعت جوانه‌زنی در کلیه تیمارهای زوال اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت (جدول ۲). با افزایش زوال بنیه گیاهچه در مقایسه با تیمار بدون زوال کاهش یافت (جدول ۲). اسید آسکوربیک با غلظت ۰/۲۸ میلی‌مولار بنیه گیاهچه را در تیمار بدون زوال و کلیه تیمارهای زوال نسبت به شاهد افزایش داد در حالی‌که غلظت ۰/۵۶ میلی‌مولار اسید آسکوربیک سبب کاهش بنیه گیاهچه در تیمار بدون زوال و تیمار ۱۰ روز زوال یافته نسبت به شاهد شد ولی در سایر سطوح زوال اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت (جدول ۲).

طول ساقه‌چه و ریشه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه

مطابق نتایج تجزیه واریانس اثر زوال و اسید آسکوربیک و اثر متقابل آن‌ها بر طول ساقه‌چه، طول

جدول۱- تجزیه واریانس اثرات زوال و اسید آسکوربیک بر صفات جوانه‌زنی گلرنگ

Table 1. Analysis of variance of aging and ascorbic acid effects on germination characteristics in safflower

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی d.f.	میانگین مربعات Mean square						
		درصد جوانه‌زنی GP	سرعت جوانه‌زنی GR	بنیه گیاهچه SV	طول ساقه‌چه SL	طول ریشه‌چه RL	وزن خشک ساقه‌چه SDW	وزن خشک ریشه‌چه RDW
زوال Aging (A)	4	3149.67**	437.73**	132680.35**	2.20**	5.34**	0.003**	0.0002**
اسیدآسکوربیک Ascorbic acid (AS)	2	632.45**	19.36**	43622.17**	1.12**	2.72**	0.001**	0.0004**
زوال × اسیدآسکوربیک (A) × (AS)	8	25.15*	0.66*	2005.68**	0.13**	0.12*	0.0001**	0.000004**
خطای آزمایش Error	30	10.49	0.27	456.52	0.04	0.04	0.00004	0.000001
ضریب تغییرات CV (%)		7.24	5.06	12.40	12.92	11.56	10.46	10.36

** در سطح ۱ درصد معنی‌دار، * در سطح ۵ درصد معنی‌دار، ns عدم تفاوت معنی‌دار

* and ** Significant at 5% and 1% probability levels, respectively. d.f., degree of freedom; CV, coefficient of variation, GP, germination percentage, GR, germination rate, SV, seedling vigour index, SL, shoot length, RL rot length, DWS, shoot dry weight, RDW, root dry weight.

جدول۲- اثر زوال و اسید آسکوربیک بر صفات جوانه‌زنی گلرنگ

Table 2. Aging and ascorbic acid effects on germination characteristics in safflower

زوال Aging (days)	اسید آسکوربیک Ascorbic acid (mM)	درصد جوانه‌زنی GP	سرعت جوانه‌زنیGR	بنیه گیاهچه SV	طول ساقه‌چه SL (cm)	طول ریشه‌چه RL (cm)	وزن خشک ساقه‌چه SDW (g)	وزن خشک ریشه‌چه RDW (g)
بدون زوال No-aging	0	69.16b	21.43ab	361.53b	2.27a	2.95ab	0.085ab	0.015c
	0.28	83.33a	22.30a	432.30a	2ab	3.18a	0.092a	0.026a
	0.56	62c	20.77b	268.80d	1.84b	2.49c	0.077bc	0.015c
4	0	52.83d	11.53d	182e	1.69bcd	1.74d	0.068cd	0.011de
	۰0.28	61.16c	14.42c	308.83c	2.25a	2.80bc	0.087ab	0.023b
	0.56	53.33d	10.80d	183.73e	1.73bcd	1.71de	0.065de	0.011de
6	0	37.66ef	8.14f	119.43fg	1.46cde	1.71de	0.065de	0.009ef
	0.28	42.83e	9.90e	199.27e	1.99ab	2.62bc	0.080b	0.016c
	0.56	33.33fg	8.08f	103.10gh	1.42de	1.66def	0.061def	0.009efg
8	0	33.33fg	4.90h	87.90ghi	1.26e	1.37efg	0.046ghi	0.008fg
	0.28	39.66e	6.38g	140.97f	1.76bc	1.78d	0.056efg	0.015c
	0.56	25.83h	4.57hi	66.17ij	1.23e	1.33fg	0.042i	0.007g
10	0	24.16hi	3.90ij	38.67jk	0.80f	0.80h	0.043hi	0.004h
	0.28	31.66g	5.33h	78.33hi	1.22e	1.23g	0.054fgh	0.012d
	0.56	20.16i	3.28j	12.90k	0.30g	0.34i	0.012j	0.002h

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند

Means in each column followed by a similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level using LSD Test. germination rate, SL, shoot length, RL rot length, DWS, shoot dry weight, RDW, root dry weight

ریشه‌چه، وزن خشک ساقه‌چه و وزن خشک ریشه‌چه معنی-دار بود (جدول۱). طول ساقه‌چه و ریشه‌چه در تمامی سطوح زوال با افزایش غلظت اسید آسکوربیک به ۰/۲۸ میلی‌مولار افزایش یافت. در بذرهای زوال یافته، پرایمینگ با اسید آسکوربیک ۰/۲۸ میلی‌مولار از نظر طول ساقه‌چه اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت در حالی‌که پرایم با ۰/۵۶ میلی‌مولار اسید آسکوربیک سبب کاهش طول ساقه‌چه در بذرهای بدون زوال و بذرهای ۱۰ روز زوال یافته گردید ولی در سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت (جدول ۲). اسید آسکوربیک با غلظت ۰/۲۸ میلی-مولار طول ریشه‌چه را در تیمار بدون زوال و کلیه تیمارهای زوال نسبت به شاهد افزایش داد در حالی‌که اسید آسکوربیک با غلظت ۰/۵۶ میلی‌مولار تنها در بذرهای بدون زوال و ۱۰ روز زوال یافته نسبت به شاهد افزایش نشان داد ولی در سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری با شاهد مشاهده نشد (جدول ۲). کاربرد اسید آسکوربیک با غلظت ۰/۲۸ میلی‌مولار وزن خشک ساقه‌چه را در کلیه سطوح زوال نسبت به شاهد افزایش داد ولی در تیمار بدون زوال اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت (جدول ۲). در بذرهای ۱۰ روز زوال یافته، غلظت ۰/۵۶ میلی‌مولار اسید آسکوربیک به‌طور قابل توجهی وزن خشک ساقه‌چه را کاهش داد ولی در تیمار بدون زوال و سایر سطوح زوال اختلاف معنی‌داری با شاهد مشاهده نشد (جدول ۲). با افزایش زوال وزن خشک ریشه-چه کاهش یافت. اسید آسکوربیک با غلظت ۰/۲۸ میلی‌مولار وزن خشک ریشه‌چه را در تیمار بدون زوال و کلیه تیمارهای زوال نسبت به شاهد افزایش داد در حالی‌که اسید آسکوربیک با غلظت ۰/۵۶ میلی‌مولار در کلیه سطوح زوال و تیمار بدون زوال نسبت به شاهد ختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۲).

مالون دی‌آلدئید

محتوای مالون دی‌آلدئید (MDA) بعد از ۱۲ ساعت آبگیری بذر تحت تأثیر اثرات اصلی زوال و اسید آسکوربیک و اثر متقابل آن‌ها قرار گرفت، در حالی‌که محتوی MDA بعد از ۲۴ ساعت آبگیری تحت تأثیر هیچ یک از اثرات اصلی زوال و اسید آسکوربیک و همچنین اثر متقابل آن‌ها قرار نگرفت (جدول ۳). با افزایش مدت زمان زوال میزان MDA بعد از ۱۲ ساعت آبگیری افزایش یافته و در تیمار ۱۰ روز زوال یافته به حداکثر مقدار خود رسید. از تیمار ۶ روز زوال به بعد اسید آسکوربیک با غلظت ۰/۲۸ میلی‌مولار سبب کاهش میزان MDA بعد از ۱۲ ساعت آبگیری شد ولی در تیمار بدون زوال و ۴ روز زوال اختلاف معنی‌داری با شاهد (پرایم با آب مقطر) مشاهده نشد (جدول ۴). اسید آسکوربیک با غلظت ۰/۵۶ میلی‌مولار در تیمار ۴ روز زوال از نظر میزان MDA اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت ولی در تیمار بدون زوال و سایر سطوح زوال سبب افزایش میزان MDA نسبت به شاهد شد. (جدول ۴).

کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز بعد از ۱۲ ساعت آبگیری بذر تحت تأثیر اثرات زوال و اسید آسکوربیک و اثر متقابل آن‌ها قرار گرفت (جدول ۳). در حالی‌که فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز بعد از ۲۴ ساعت آبگیری بذر تنها تحت تأثیر اثر زوال و اسید آسکوربیک قرار گرفت (جدول ۳). با افزایش زوال فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز بعد از ۱۲ ساعت آبگیری کاهش یافت. اسید آسکوربیک با غلظت ۰/۲۸ میلی‌مولار در تمامی سطوح زوال فعالیت آنزیم کاتالاز را نسبت به شاهد (پرایم با آب مقطر) افزایش داد، هر چند در تیمار ۶ روز زوال اختلاف معنی‌دار نبود ولی در تیمار بدون زوال سبب کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شاهد شد. در تیمار بدون زوال اسید آسکوربیک با غلظت ۰/۵۶ میلی‌مولار فعالیت آنزیم کاتالاز را نسبت به شاهد کاهش داد ولی در تمامی سطوح زوال اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت (جدول ۴). در تیمار بدون زوال و کلیه سطوح زوال اسید آسکوربیک ۰/۲۸ میلی‌مولار سبب افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نسبت به شاهد شد و کاربرد اسید آسکوربیک ۰/۵۶ میلی-مولار فعالیت این آنزیم را نسبت به شاهد کاهش داد (جدول ۴). میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز بعد از ۲۴ ساعت آبگیری بذر با افزایش زوال کاهش یافتند و کمترین فعالیت این آنزیم‌ها در بذرهای ۱۰ روز زوال یافته مشاهده شد (جدول ۵). اسید آسکوربیک با غلظت ۰/۲۸ میلی‌مولار بیشترین تأثیر را در مقدار کاتالاز داشت و در اسید آسکوربیک با غلظت ۰/۵۶ میلی‌مولار این آنزیم کمترین میزان را به خود اختصاص داد (جدول ۵). مقدار آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بعد از ۲۴ ساعت آبگیری بذر نیز در غلظت

جدول۳- تجزیه واریانس اثرات زوال و اسید آسکوربیک بر خصوصیات فیزیولوژیک بذرهای گلرنگ

Table 3. Analysis of variance of aging and ascorbic acid effects on physiologic characteristics in safflower seeds

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی d.f.	۱۲ ساعت آبگیری After 12 hours imbibition				۲۴ ساعت آبگیری After 24 hours imbibition			
		مالون دی آلدئید MDA	کاتالاز CAT	سوپراکسید دیسموتاز SOD	پروتئین PRO	مالون دی آلدئیدMDA	کاتالاز CAT	سوپراکسید دیسموتاز SOD	پروتئین PRO
زوال Aging (A)	4	0.133**	26.15**	2729.31**	0.074**	0.008ns	44.33**	24.89**	0.004ns
اسیدآسکوربیک Ascorbic acid (AS)	2	0.083**	7.64*	59367.38**	0.137**	0.002ns	21.45**	48.47**	0.012**
زوال × اسیدآسکوربیک (A) × (AS)	8	0.004**	7.26**	287.25**	0.006*	0.006ns	1.20ns	3.16ns	0.0003ns
خطای آزمایش Error	30	0.001	1.88	71.609	0.002	0.004	1.38	3.44	0.002
ضریب تغییرات CV (%)		6.67	14.63	9.60	10.84	12	19.09	16.70	8.33

** در سطح ۱ درصد معنی‌دار، * در سطح ۵ درصد معنی‌دار، ns عدم تفاوت معنی‌دار

* and ** Significant at 5% and 1% probability levels, respectively. d.f., degree of freedom; CV, coefficient of variation. MDA, Malondialdehyde, CAT, catalase activity, SOD, superoxide dismutase activity, PRO, protein content.

جدول۴- اثر زوال و اسید آسکوربیک بر خصوصیات فیزیولوژیک بذرهای گلرنگ

Table 4. Effects aging and ascorbic acid on physiologic characteristics in safflower seeds.

زوال Aging (days)	اسید آسکوربیک Ascorbic acid (mM)	۱۲ ساعت آبگیری After 12 hours imbibition			
		مالون دی آلدئید MDA (mg. g^{-1} FW)	کاتالاز CAT (Units mg $protein^{-1}$ min^{-1})	سوپراکسیددیسموتاز SOD (Units mg $protein^{-1}$ min^{-1})	پروتئین PRO (mg. g^{-1} FW)
بدون زوال No-aging	0	0.40i	13.88a	108.80d	0.67a
	0.28	0.39i	9.30cde	190.28/0a	0.68a
	0.56	0.49h	11.05bc	42.20g	0.48bc
4	0	0.54efgh	9.22cde	78.60e	0.45bcde
	0.28	0.52fgh	12.47ab	165.80b	0.62a
	0.56	0.56efg	9.13cde	38.96g	0.43bcde
6	0	0.57ef	9.67cde	78.10e	0.41bcdef
	0.28	0.28/0gh	10.13cd	155.57bc	0.64a
	0.56	0.66cd	9.37cde	21.57h	0.40cdef
8	0	0.60de	8.18def	70.23ef	0.38defg
	0.28	0.28/0gh	9.62cde	141.87c	0.49b
	0.56	0.69bc	7.79efg	28.63gh	0.34fg
10	0	0.75b	6.55fg	57.03f	0.37efg
	0.28	0.65cd	8.60def	122.80d	0.46bcd
	0.56	0.89a	5.73g	21.57h	0.31g

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند

Means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level using LSD Test. MDA, Malondialdehyde, CAT, catalase activity, SOD, superoxide dismutase activity, PRO, protein content.

جدول۵- مقایسه میانگین اثرات اصلی زوال و اسید آسکوربیک بر خصوصیات فیزیولوژیکی بذرهای گلرنگ

Table 5. Mean comparisons of main effects of aging and ascorbic acid on physiologic characteristics in safflower seeds.

تیمارها Treatments	۲۴ ساعت آبگیری بعد از After 24 hours imbibition		
	کاتالاز CAT (Units mg protein^{-1} min^{-1})	سوپراکسید دیسموتاز SOD (Units mg protein^{-1} min^{-1})	پروتئین PRO (mg. g^{-1} FW)
زوال Aging (days)			
بدون زوال No-aging	9.33a	12.82a	0.569a
4	7.46b	12.51a	0.557ab
6	5.24c	11.11ab	0.551ab
8	4.99c	10.39bc	0.520b
10	3.75d	8.73c	0.517b
اسید آسکوربیک Ascorbic acid (mM)			
0	5.78b	11.56a	0.542ab
0.28	7.49a	12.64a	0.572a
0.56	5.19b	9.13b	0.514b

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند

Means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level using LSD Test. CAT, catalase activity, SOD, superoxide dismutase activity, PRO, protein content.

۰/۲۸ میلی‌مولار اسید آسکوربیک افزایش یافت اما اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت (جدول ۵).

پروتئین

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که میزان پروتئین بذر بعد از ۱۲ ساعت آبگیری تحت تأثیر زوال، اسید آسکوربیک و اثر متقابل آن‌ها قرار گرفت در حالی‌که این صفت بعد از ۲۴ ساعت آبگیری تنها تحت تأثیر اسید آسکوربیک بود (جدول ۳). زوال سبب کاهش میزان پروتئین بعد از ۱۲ ساعت آبگیری شد. در تمامی سطوح زوال میزان پروتئین بعد از ۱۲ ساعت آبگیری بذر، در اسید آسکوربیک با غلظت ۰/۲۸ میلی‌مولار نسبت به شاهد افزایش نشان داد ولی در تیمار بدون زوال اختلاف معنی‌دار با شاهد نداشت (جدول ۴). اسید آسکوربیک با غلظت ۰/۵۶ میلی‌مولار در تیمار بدون زوال میزان پروتئین را نسبت به شاهد کاهش داد ولی در تمامی سطوح زوال اختلاف معنی‌دار با شاهد مشاهده نشد (جدول ۴). اسید آسکوربیک با غلظت ۰/۲۸ میلی‌مولار نیز سبب افزایش مقدار پروتئین بعد از ۲۴ ساعت آبگیری شد ولی با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۵).

بحث

نتایج این آزمایش نشان داد که با افزایش مدت زوال درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، بنیه گیاهچه و رشد گیاهچه کاهش یافت. یافته‌های سایر محققان نیز حاکی از آن است که جوانه‌زنی و رشد گیاهچه در بذرهای زوال یافته گلرنگ کاهش یافته است (Zamani *et al*., 2010).

همچنین در مطالعه حاضر با افزایش مدت زمان زوال میزان MDA اندازه‌گیری شده بعد از ۱۲ ساعت آبگیری بذر افزایش یافت. تعیین میزان مالون دی‌آلدئید (MDA) یک روش مناسب برای مشخص کردن مقدار پراکسیداسیون چربی‌ها به‌ویژه در دانه‌های روغنی با محتوی اسید لینولئیک و لینولنیک بالا است (Sung and Jeng, 1994; Chang and Sung, 1998). افزایش میزان مالون دی‌آلدئید با افزایش زوال در بادام زمینی (Sung and Jeng, 1994)،

پنبه (Goel *et al*., 2003) و سویا (Xia *et al*., 2014) نیز گزارش شده است. پراکسیداسیون چربی با تولید رادیکال‌های آزاد شروع می‌شود. تولید رادیکال‌های آزاد ممکن است سبب خسارت به اجزای سلولی مانند لیپیدهای غشاء، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک در طول جوانه‌زنی بذر شود (MacDonald, 1999). در بذرهای تازه، رادیکال‌های آزاد در سطح پایینی توسط سیستم‌های آنزیمی و غیر آنزیمی نگه داشته می‌شوند (MacDonald, 1999; Chang and Sung, 1998). افزایش رادیکال‌های آزاد سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های خنثی کننده رادیکال-های آزاد از جمله کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز می‌شود (Escobar *et al*., 1996). زوال بذر نیز سبب کاهش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شده و در نهایت موجب کاهش تولید پروتئین می‌شود (Priestly, 1986; McDonald, 1999; Basra *et al*., 2003; Seiadat *et al*., 2012). در مطالعه حاضر نیز با افزایش زوال کاهش در میزان پروتئین، فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) مشاهده شد. کاهش مشابه-ای در میزان پروتئین، فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) در بذرهای زوال یافته Mung (Maity *et al*., 2000)، ذرت (Bernal *et al*., 2000) و براسیکا (Verma *et al*., 2003) نیز گزارش شده است. همچنین گوئل و همکاران (Goel *et al*., 2003) و زیا و همکاران (Xia *et al*., 2014) کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را در بذرهای زوال یافته پنبه و سویا گزارش کردند. در این مطالعه، در تمامی سطوح زوال، غلظت ۰/۲۸ میلی‌مولار اسید آسکوربیک سبب افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی، و رشد گیاهچه شده است که دلیل آن می‌تواند اثر این غلظت اسید آسکوربیک روی کاهش پراکسیداسیون غشاء (MDA) و افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز بعد از ۱۲ ساعت آبگیری بذر گلرنگ باشد. بنابراین به‌نظر می‌رسد که اسید آسکوربیک در این غلظت با پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد، از اکسیداسیون چربی‌ها جلوگیری نموده و مانع افزایش مالون دی‌آلدئید می‌شود. گوئل و همکاران (Goel *et al*., 2003) نیز گزارش کردند تیمار بذر های پنبه در طول زوال با اسید آسکوربیک سبب کاهش MDA، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و بهبود جوانه‌زنی می‌گردد. کاهش زوال بذر و بهبود جوانه‌زنی بذر توسط آنتی‌اکسیدان‌ها مانند اسید آسکوربیک به علت کاهش رایکال‌های آزاد و افزایش فعالیت آنزیم‌های خنثی کننده رادیکال‌های آزاد می‌باشد (Hailstones and Smith, 1991). همچنین نتایج نشان داد که کاربرد اسید آسکوربیک با غلظت ۰/۵۶ میلی‌مولار درصد و سرعت جوانه-زنی، و رشد گیاهچه در تمامی سطوح زوال کاهش داد و سبب افزایش میزان MDA و کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز و میزان پروتئین اندازه‌گیری شده بعد از ۱۲ ساعت آبگیری شد. بنابراین به‌نظر می‌رسد اسید آسکوربیک با غلظت ۰/۵۶ میلی‌مولار در بذرهای زوال یافته گلرنگ رقم گلدشت سبب تشدید تنش اکسیداتیو شده و با خسارت به غشاء و ممانعت از فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سبب کاهش سرعت جوانه‌زنی و رشد گیاهچه شده است. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که تیمار بذرهای زوال یافته با اسید آسکوربیک اثری بر MDA، میزان پروتئین، فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز بعد از ۲۴ ساعت آبگیری بذر نداشت.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که زوال بذرهای گلرنگ رقم گلدشت سبب افزایش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن در بذرها به علت کاهش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی شده و همچنین موجب افزایش پراکسیداسیون لیپیدها شد که باعث کاهش توان جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های گلرنگ گردید. همچنین غلظت ۰/۲۸ میلی‌مولار اسید آسکوربیک با از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی، کند شدن سرعت تخریب پروتئین و کاهش مقدار مالون دی‌آلدئید شده و در نهایت با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سبب افزایش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها در بذرهای زوال یافته گلرنگ گردید. مدت زمان قرار گرفتن بذرهای زوال یافته در تیمار اسید آسکوربیک عامل بسیار مهمی در میزان اثر بخشی آن بر توانایی جوانه‌زنی بذرهای گلرنگ دارد.

منابع

Alivand, R., Tavakkol Afshari, R. and Sharifzadeh, F. 2013. Effects of gibberellin, salicylic acid and ascorbic acid on improvement of germination characteristics of deteriorated seeds of *Brassica Napus.* Iranian Journal of Field Crop Science, 43: 561-571. (In Persian)**(Journal)**

Athar, H., Khan, A. and Ashraf, M. 2008. Exogenously applied ascorbic acid alleviates salt induced oxidative stress in wheat. Environmental and Experimental Botany, 63: 224-231. **(Journal)**

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

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

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

Bernal, L., Camacho, A. and Carballo, A. 2000. Effect of seed ageing on the enzymic antioxidant system of maize cultivars. In: Black M, Bradford KJ, Vazqez- Ramos (Eds.). Seed Biology. CABI Publpshing, UK; pp: 157-160. **(Book)**

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

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

Cakmak, I. and Horst, W. 1991. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glycine max*). Plant Physiology, 83: 463-468. **(Journal)**

Chang, S. M. and Sung, J. M. 1998. Deteriorative changes in primed sweet corn seeds during storage. Seed Science and Technology, 26: 613–626. **(Journal)**

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

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

Escobar, J. A., Rubio, M. A. and Lissi, E. A. 1996. SOD and catalase inactivation by singlet oxygen and peroxyl radicals. Free Radical Biology and Medicine, 16: 445–451. **(Journal)**

Giannopolitis, C. and Ries, S. 1997. Superoxid desmutase. I. Occurrence in higher plant. Plant Physiology, 59: 309-314. **(Journal)**

Goel, A. and Sheoran, I. S. 2003. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes in cotton Seed under natural ageing. Biologia Plantarum, 46(3): 429-43. **(Journal)**

Goel, A., Coel, A. K. and Sheoran, I. S. 2003. Changes in oxidative stress enzymes during artificial ageing in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) seeds. Journal of Plant Physiology, 160: 1093-1100. **(Journal)**

Hailstones, M. D. and Smith, M. T. 1991. Soybean seed invigoration by ferrous sulfate: Changes in lipid peroxidation, conductivity, tetrazolium reduction, DNA and protein synthesis. Journal of Plant Physiology, 137: 307–311. **(Journal)**

Hampton, J. G. and Tekrony, D. M. 1995. Handbook of Vigor Test Methods. Zurich, Switzerland ISTA. pp: 70-78. **(Handbook)**

Kang, G. Z., Wang, Z. X., Xia, K. F. and Sun, G. C. 2007: Protection of ultrastructure in chilling-stressed banana leaves by salicylic acid. Journal of Zheijang University Science B, 8: 277–282. **(Journal)**

Maity, S., Banerjee, G., Roy, M., Pal, C., Pal, B., Chakrabarti, D. and Bhattacharjee, A. 2000. Chemical induced prolongation of seed viability and stress tolerance capacity of mung bean seedlings. Seed Science and Technology, 28: 155–162. **(Journal)**

Maurmicale, G. and Cavallaro, V. 1996. Effect of seed osmopriming on germination of three herbage grasses at low temperatures. Seed Science and Technology, 24: 331-338. **(Journal)**

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

Murungu, F. S., Nyamugafata, P., Chiduza, C., Clark, L. J. and Whalley, W. R. 2003. Effects of seed priming aggregate size and soil matric potential on emergence of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) and Maize (*Zea mays* L.). Soil and Tillage Research, 74: 161-168. **(Journal)**

Perry, L. M. 1980. Medicinal plants of east and Southeast Asia: Attributed pro-perties and uses, MIT Press, Cambridge, and UK P: 632. **(Book)**

Poori, K., Akbari, F. and Ghaderi-Far F. 2012. Response of deteriorated cotton seed to salinity stress at germination and seedling growth stages. Journal of Plant Production, 19: 53-67. (In Persian) **(Journal)**

Priestly, D. A. 1986. Seed aging: Implication for seed storage and persistence in the soil. Cornell University Press. Ithaca, NY, USA. p. 304. **(Book)**

Ramana, S., Biswas, A. K., Kundu, S., Saha, J. K. and Yadava, R. B. R. 2002. Effect of distillery effluent on seed germination in some vegetable crops. Bioresource Technology, 82 (3): 273-275. **(Journal)**

Seiadat, S. A., Moosavi, A. and Sharafizadeh, M. 2012. Effect of seed priming on antioxidant activity and germination characteristics of Maize seeds under different aging treatments. Research Journal of Seed Science, 5(2):51-62. (In Persian)**(Journal)**

Simontacchi, M., Caro, A., Fraga, G. G. and Puntaralo, S. 1993. Oxidative stress affects α- tocopherol Content in soybean embryonic axes during germination. Plant Physiology, 103: 949-953. **(Journal)**

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

Verma, S. S., Verma, U. and Tomer, R. P. S. 2003. Studies on seed quality parameters in deteriorating seeds in Brassica (*Brassica campestris*). Seed Science and Technology, 31: 389-396. **(Journal)**

Xia, X., Tian, Q., Yin, G., Chen, X., Zhang, J., Ng, S. and Lu, X. 2014. Reduced mitochondrial and ascorbate–glutathione activity after artificial ageing in soybean seed. Journal of Plant Physiology, 171: 140– 147. **(Journal)**

Zamani, A., Sadat Noori, S. A., Tavakkol Afshari, R., Irannejad, H., Akbari, GH. A. and Tavakoli, A. 2010. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes activity under natural and accelerated aging in safflower (*carthamus tinctorius*) seed. Iranian Journal of Field Crop Science, 41: 545-554. (In Persian) **(Journal)**

Effect of ascorbic acid on germination and activities of antioxidant enzymes of deteriorated safflower Goldasht cultivar seeds

Nasrin Baharvand[1], Batool Mahdavi[*2], Maryam Dahajipour Heidarabadi[2]

Received: January 23, 2016 Accepted: May 2, 2016

Abstract

To study the effect of ascorbic acid on germination and some physiologic characteristics of aged safflower, an experiment was conducted as a factorial arrangement in a completely randomized design with three replications. Non-aged and aged (40 °C for 4, 6, 8 and 10 d) seeds of safflower were subjected to priming with ascorbic acid at concentrations of 0, 0.28 and 0.56 mM. In this research germination percentage and rate, seedling vigour, shoot, and root length, shoot and root dry weight, malondialdehyde, catalase activity, superoxide dismutase activity, and protein content was measured. The results showed that germination and seedling growth decreased with aging increment. In all levels of aging, germination percentage and rate, shoot and root length, shoot and root dry weight increased at 0.28 mM ascorbic acid compared to other concentrations. Accelerated aging not only resulted in increased malondialdehyde, but also in decreased catalase activity, superoxide dismutase activity, and protein content. Priming with 0.28 mM ascorbic acid decreased malondialdehyde after 12 hours imbibition, whereas increased catalase activity, superoxide dismutase activity and protein content under aging. The results suggest that aged safflower seeds priming with 0.28 mM ascorbic acid improve the germination and seedling growth by reducing membrane peroxidation and increasing the activities of catalase and superoxide dismutase enzymes after 12 hours imbibition.

Key words: Aging; Catalase; Priming; Superoxide dismutase

How to cite this article

Baharvand, N., Mahdavi, B. and Dehajipour Heidarabadi, M. 2017. Effect of ascorbic acid on germination and activities of antioxidant enzymes of deteriorated safflower Goldasht cultivar seeds. Iranian Journal of Seed Science and Research, 4(3): 1-12. (In Persian)**(Journal)**

DOI: 10.22124/jms.2017.2503

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- MSc. Student, Agronomy and Plant Breeding Department, Vali-e-Asr University, Rafsanjan, Iran

2- Assistant Professor, Agronomy and Plant Breeding Department, Vali-e-Asr University, Rafsanjan, Iran

*Corresponding Author: b.mahdavi@vru.ac.ir