علوم و تحقیقات بذر ایران
سال هفتم/ شماره دوم/ ۱۳۹۹ (۱۷۷ - ۱۶۱)

DOI: 10.22124/jms.2020.4555

تاثیر اسید سینامیک بر جوانه‌زنی، بنیه بذر و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک، عملکرد دانه و اجزای عملکرد لوبیا چشم بلبلی (*Vigna unguiculata*) توده محلی بسطام حاصل از بذرهای فرسوده و غیرفرسوده

مریم اکبری[۱]، مهدی برادران فیروزآبادی*[۲]، محمدرضا عامریان[۲]، ناصر فرخی[۳]

تاریخ دریافت: ۹۷/۷/۲ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۲/۲۲

چکیده

کیفیت پایین بذر ناشی از فرسودگی از عوامل عمده کاهش کیفیت و کمیت تولید در بخش کشاورزی می‌باشد. به‌کارگیری ترکیباتی نظیر اسید سینامیک که بهبوددهندگی آن در تنش‌های محیطی ثابت شده، برای کاهش اثرات مخرب فرسودگی مهم می‌باشد. تاثیر پیش‌تیمار پنج غلظت CA بر جوانه‌زنی و بنیه بذر با چهار تکرار در یک آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی در آزمایشگاه بذر دانشگاه وخنینگن و اثر سه غلظت بر صفات فیزیولوژیک و زراعی لوبیا چشم بلبلی در آزمایش مزرعه ای دو ساله در قالب طرح فاکتوریل سه عاملی بر پایه بلوک‌های کامل تصادفی بررسی گردید. بر اساس نتایج پیش‌تیمار CA در بذرهای غیرفرسوده تاثیری بر درصد جوانه‌زنی نداشت اما پیش‌تیمار غلظت‌های ۱۵ و ۳۰ میکرومولار سبب بهبود بنیه آن‌ها شد. پیش‌تیمار بذرهای فرسوده با غلظت‌های ۴۵ و ۶۰ میکرومولار سبب بهبود ۱۳درصدی جوانه‌زنی و ۴۵ میکرومولار موجب افزایش ۳۸ درصدی بنیه گردید. گیاهان حاصل بر حسب کیفیت اولیه بذر واکنش متفاوتی به CA داشتند. هرگاه CA سبب بهبود صفتی گردید آن صفت در گیاهان حاصل از بذرهایی با کیفیت متفاوت کاهش داشت. در مجموع، در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده محلول‌پاشی CA در مقایسه با پیش‌تیمار برای افزایش عملکرد و اجزای آن مفیدتر بود. اما در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده برعکس بود. در تجمع ماده خشک، پیش‌تیمار بذرهای فرسوده در مقایسه با محلول‌پاشی مفیدتر بود. در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده پیش‌تیمار سبب کاهش این صفت گردید.

واژه‌های کلیدی: بنیه بذر، تجمع ماده خشک، تکنیک های بهبوددهنده بذر، جوانه زنی، رنگیزه‌های فتوسنتزی، فرسودگی بذر، مسیر فنیل پروپانوئید

۱- دانشجوی دکترای فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران
۲- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران
۴- استادیار گروه زیست‌شناسی سلولی مولکولی دانشکده علوم زیستی و بیوتکنولوژی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
*نویسنده مسئول: m.baradaran.f@gmail.com

مقدمه

فرسودگی بذر و کاهش قابلیت انبارداری آن مسئله‌ای اساسی در ذخیره بذرها محسوب می گردد که در نهایت می تواند سبب افزایش هزینه تولید محصولات کشاورزی گردد. این تلفات به‌ویژه در کشورهای کم‌تر توسعه‌یافته و نیز در نواحی جغرافیایی که بذرها طی دوره رسیدگی و انبارداری با دما و رطوبت نسبی بالا مواجه می شوند، به مراتب بیش‌تر است (Salunkhe *et al*., 1985). به‌طوری‌که طبق آمار، سالیانه حدود ۲۵ درصد بذر تولیدی به‌ویژه در اثر نگهداری در شرایط نامناسب پس از تولید از دست می رود (Shelar *et al*., 2008). فرسودگی بذر را می توان به‌صورت ازدست‌رفتن کیفیت، قابلیت حیات و بنیه بذر به‌صورت غیرقابل برگشت طی زمان تعریف کرد که با بالا رفتن دما و رطوبت شدت آن افزایش می‌یابد. در چنین شرایطی حفظ قابلیت حیات طی دوره انبارداری بسیار مشکل خواهد بود. کیفیت بذر به هنگام کاشت به کیفیت اولیه آن در انبار، دما، محتوای رطوبت بذر، مقدار رطوبت محیط نگهداری بذر و نیز عوامل زنده موجود در محیط نگهداری بذر (نظیر قارچ‌ها) بستگی دارد. در این بین، دما و رطوبت بالا از جمله مهم‌ترین عوامل نامساعد فراهم‌کننده شرایط وقوع فرسودگی بذر به‌ویژه در کشورهای درحال توسعه که کشاورزان بخشی از بذر تولیدی را برای کشت در سال زراعی بعد در انبارهایی با شرایط نامناسب نگهداری می‌کنند، می‌باشد.

امروزه تکنیک‌های مختلفی به‌منظور افزایش بنیه بذر در دسترس است که به‌عنوان تکنیک های بهبوددهنده بذر[1] و نیز تکنیک‌های تقویت‌کننده بذر[2] شناخته می‌شوند. این روش ها شامل دامنه ای از تیمارهای بذری پس از برداشت (یا پیش از کاشت) هستند که در نهایت سبب بهبود جوانه‌زنی و رشد گیاهچه از طریق تغییر بنیه و یا بهبود وضعیت فیزیولوژیک و سیتولوژیک بذر می گردند. هدف این تیمارها کوتاه‌کردن فاصله زمانی کاشت تا جوانه زنی است (Balestrazzi, 2012; Hussian *et al*., 2014). پیش تیمار بذر در گیاهان زراعی به‌وفور مورد استفاده قرار می‌گیرد و هدف آن بهبود کارایی جوانه‌زنی، ظهور و استقرار گیاهچه های قوی در مزرعه در شرایط نامساعد محیطی می باشد. پیش‌تیمار بذر سبب آغاز متابولیسم پیش از جوانه‌زنی می گردد. این فرآیند طی مراحل اولیه آبنوشی بذر می گردد و شامل پاسخ های بازسازی بذر (فعّالسازی مسیرهای بازسازی DNA و مکانیسم های آنتی اکسیدانت) می باشد که برای حفظ تمامیت ژنوم، اطمینان از وقوع جوانه‌زنی مناسب و رشد گیاهچه ضروری است (Paparella *et al*., 2015). تاکنون مطالعات زیادی در مورد به‌کارگیری پیش‌تیمار به کمک ترکیبات شیمیایی، ویتامین‌ها، قارچکش‌ها، تنظیم کننده‌های رشد و ترکیبات آنتی‌اکسیدانت به‌منظور بهبود آسیب های ناشی از فرسودگی بذر صورت گرفته است. نتایج حاکی از آن است که کاربرد ترکیباتی نظیر اسید آسکوربیک (Brilhante *et al*., 2013; Reza *et al*., 2013)، انواع ویتامین B (Alipoor and Mohsenzadeh, 2013)، پلی آمین‌هایی نظیر پوتریسین و اسپرمیدین (Apel and Hirt, 2015; Harindrachampa *et al*., 2015)، گلوتاتیون (Nemat Alla and Hasan, 2014)، اسید سالیسیلیک (Reza *et al*., 2013)، بخار روغن گیاه اکالیپتوس (Bhattacharjee *et al*., 2006)، برخی ترکیبات و داروهای شیمیایی نظیر ایبوپروفن و آسپرین (Dey *et al*., 2012)، ترکیبات خام گیاهی نظیر عصاره برگ برخی گیاهان (Hussian *et al*., 2014) و نیز ترکیب سنتزی دیکگولاک سدیم (Bhattacharjee *et al*., 2006) به صورت پیش تیمار بذر و یا محلول پاشی برگی قادر به تخفیف اثرات منفی انواع تنش‌های زنده و غیرزنده و بعضاً کاهش اثرات مخرب فرسودگی بذر می‌باشند.

یکی از این ترکیبات اسید سینامیک (CA) می‌باشدکه مهم‌ترین متابولیت ثانویه در مسیر بیوسنتزی فنیل پروپانوئید است و سایر ترکیبات فنولی در این مسیر از آن مشتق می شوند. خواص آنتی اکسیدانتی CA و مشتقات آن در شرایط وقوع انواع تنش های محیطی به اثبات رسیده و سطوح آن‌ها غالبا در مواجهه با انواع تنش ها تنظیم می گردد (Shalaby and Horwitz, 2014). مطالعاتی روی اثرات CA بر کاهش اثرات انواع تنش‌های محیطی از جمله تنش شوری (Singh and Chaturvedi, 2014) و گرما (Dai *et al*., 2012) انجام گردیده است.

لوبیا چشم‌بلبلی (*Vigna unguiculata*) یکی از حبوبات مهم می باشد. ارقام مختلف این گیاه سطوح

[1]Seed improvement
[2]Seed invigoration techniques

متفاوتی از مقاومت به فرسودگی بذر را نشان می‌دهند. اما در مجموع می‌توان گفت فرسودگی بذر در این گیاه سبب کاهش وزن تر و وزن خشک گیاهچه، طول گیاهچه، شاخص ویگور گیاهچه، شاخص سرعت جوانه زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه می‌گردد (Shahin *et al*., 2013) که هر یک از این ها می تواند زمینه ساز به وجود آمدن یک گیاه ضعیف و حساس به شرایط سخت محیطی با عملکرد و کیفیت پایین گردد. تاکنون مطالعه‌ای روی اثرات CA بر بذرهای فرسوده انجام نگرفته است. از این رو، این بررسی با هدف مطالعه پاسخ جوانه‌زنی و بنیه بذر، عملکرد، اجزای عملکرد، تجمع ماده خشک و محتوای کلروفیل و کاروتنوئید گیاه لوبیا چشم‌بلبلی حاصل از بذرهایی با کیفیت اولیه متفاوت (غیرفرسوده و فرسوده) به پیش تیمار و محلول پاشی غلظت های مختلف CA انجام شده است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در دو بخش آزمایشگاهی و مزرعه‌ای (طی دو سال زراعی متوالی ۱۳۹۵-۱۳۹۴ و ۱۳۹۶-۱۳۹۵) به‌ترتیب در آزمایشگاه بذر گروه فیزیولوژی گیاهی دانشگاه وخنینگن هلند و مزرعه تحقیقاتی دانشگاه صنعتی شاهرود انجام شد. بذرهای لوبیا چشم‌بلبلی رقم محلی بسطام که در سال زراعی قبل تولید شده بودند از مزرعه نمایشی مدیریت جهاد کشاورزی شهرستان شاهرود تهیه و به دو گروه (غیرفرسوده و فرسوده) تقسیم شدند. به‌منظور فراهم‌آوردن بذرهای فرسوده از روش پیری تسریع‌شده استفاده گردید. بدین منظور لازم بود بر اساس آزمون استاندارد پیری تسریع شده برای گونه های مختلف (ISTA, 1999)، بذرها به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای ۴۱±۰/۳ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی اشباع قرار بگیرند. به‌منظور تعیین مناسب‌ترین دما و رطوبت، پیش از شروع مطالعه در یک آزمایش پایلوت دمای لازم برای فرسوده‌شدن بذرهای در دسترس در این مطالعه مشخص گردید. بر این اساس، در دمای ۴۱ درجه سلسیوس و رطوبت نزدیک اشباع افتی در درصد جوانه زنی بذرها رخ نداد. لذا دما به اندازه یک درجه سلسیوس بالاتر در نظر گرفته شد. در دمای ۴۲ درجه سلسیوس نیز افتی معادل تنها ۳ درصد در مقایسه با بذرهای شاهد مشاهده گردید. اینطور نتیجه‌گیری شد که در این شرایط بذرها پیر نشده اند. اما با اعمال دمای ۴۳ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی نزدیک اشباع درصد جوانه‌زنی در مقایسه با شاهد (جوانه زنی ۱۰۰ درصد) به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت. با افزایش دما تا حد ۴۴ و ۴۵ درجه، بذرها قابلیت حیات خود را از دست دادند. در نتیجه شرایط مناسب برای اعمال تیمار پیری در بذرهای مورد مطالعه، دمای ۴۳ درجه سلسیوس و رطوبت نزدیک به اشباع در نظر گرفته شد. سپس هر دو گروه بذرهای فرسوده و غیرفرسوده برای انجام آزمون جوانه‌زنی استاندارد و بنیه بذر با طیف وسیع تری از غلظت‌های CA (با خلوص آنالیتیکال ۹۷ درصد) شامل پنج غلظت صفر، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ میکرومولار به‌مدت ۶ ساعت پیش‌تیمار شدند. جهت انجام آزمون جوانه زنی دمای ژرمیناتور روی ۲۵ درجه سلسیوس تنظیم گردید. صفات مربوط به جوانه‌زنی با استفاده از نرم‌افزار GERMINATOR (Joosen *et al.*, 2010) محاسبه گردید. بخش سخت‌افزاری این نرم‌افزار شامل یک دوربین (Nikon D80) متصل به کامپیوتر (Microsoft Windows XP, Microsoft Office 2003) می‌باشد. همچنین از سینی‌های جوانه‌زنی با ابعاد ۱۵×۲۱ سانتی‌متر دارای کاغذ صافی با ابعاد ۱۴/۲×۲۰/۳ استفاده شد. در این پکیج، شمارش خودکار بذرهای جوانه‌زده بر اساس تباین رنگی بین ریشه چه و پوسته بذر انجام می‌شود. روز هشتم به‌عنوان آخرین روز جوانه‌زنی در نظر گرفته شد.

برای محاسبه شاخص بنیه بذر از رابطه زیر استفاده گردید:

VI= LS*MaxG (رابطه ۱)

که در آن LS میانگین طول گیاهچه (طول ریشه‌چه+ طول ساقه‌چه (mm) و MaxG درصد جوانه‌زنی می‌باشد.

در بخش مزرعه ای، بذرهای پیش تیمارشده با سه غلظت مختلف CA شامل صفر، ۳۰ و ۶۰ میکرومولار پس از آماده‌سازی بستر، کشت گردیدند. آزمایش به‌صورت فاکتوریل سه عاملی بر پایه بلوک کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. تیمارها شامل دو سطح کیفیت بذر (غیرفرسوده و فرسوده)، سه سطح پیش‌تیمار با غلظت‌های CA (صفر، ۳۰ و ۶۰ میکرومولار) و سه سطح محلول‌پاشی CA (صفر، ۳۰ و ۶۰ میکرومولار) بودند. بذرهای لوبیا چشم‌بلبلی (رقم محلی بسطامی) از مزرعه نمونه مدیریت جهاد کشاورزی شهرستان شاهرود که در همان سال

زراعی تولید شده بودند تهیه گردید. پس از انجام عملیات آماده‌سازی بستر،کاشت بذرها به فاصله ۱۰ سانتی‌متر روی ردیف و فاصله ردیف ۵۰ سانتی‌متر انجام گرفت. آبیاری به‌صورت جوی و پشته هر هفت روز یک بار انجام شد. پس از استقرار بوته‌ها اقدام به تنک‌کردن بوته‌های اضافی گردید. طی دوره رشد، سه بار وجین علف های هرز به صورت دستی انجام گرفت.

قبل از زمان گلدهی (۸۰ روز پس از کاشت) گیاهان با غلظت های مورد مطالعه CA محلول پاشی شدند. برای برآورد عملکرد نهایی دانه و بررسی اجزای عملکرد در زمان رسیدگی فیزیولوژیک تعداد پنج بوته از هر کرت آزمایشی برداشت گردید. به‌منظور اندازه گیری کلروفیل برگ، یک هفته پس از محلول‌پاشی به‌طور تصادفی از چند گیاه در هر کرت، از برگ های همسن نمونه برداری انجام شد. به این صورت که برگ های همسن در قسمت یک سوم بالا، وسط و پایین در هر کرت نمونه برداری شدند. جهت ارزیابی غلظت کلروفیل برگ از روش بدون لهیدگی استفاده شد. ۰/۰۱ گرم از بافت برگ توزین و به قطعات کوچک خرد شد. به نمونه‌ها شش میلی‌لیتر دی متیل سولفوکساید اضافه شد. محلول حاصل به‌مدت چهار ساعت درون حمام آبگرم با دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار گرفت. نمونه ها از حمام آبگرم خارج شدند و پس از سردشدن میزان جذب آن‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. سپس با استفاده از روابط زیر میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و میزان کاروتنوئید محاسبه گردید (Hiscox and Israelstam, 1979).

پس از جایگزین کردن داده‌ها در روابط بالا اعداد به دست‌آمده در نهایت بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شدند.

(رابطه ۲) $Chl\ a\ (\mu g/ml) = (12.25\ A\ 663) - (2.55\ A\ 645)$

(رابطه ۳) $Chl\ b\ (\mu g/ml) = (20.31\ A\ 645) - (4.91\ A\ 663)$

(رابطه ۴) $Chl\ T = Chl\ a + Chl\ b$

(رابطه ۵) $Car\ (\mu g/ml) = (1000\ A\ 470 - 1.90\ Chl\ a - 63.14\ Chl\ b)/214$

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS® ۹,۱ و رسم شکل‌ها توسط نرم‌افزار EXCEL انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح ۵ درصد با نرم افزار MSTATC صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

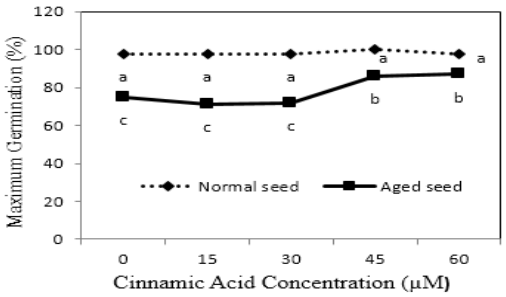
درصد جوانه‌زنی و بنیه بذر

فرسودگی منجر به کاهش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی و بنیه بذرهای شاهد فرسوده در مقایسه با بذرهای شاهد غیرفرسوده گردید (جدول ۱) (شکل‌های ۱- الف و ۱-ب). به‌طوری‌که کاهشی معادل ۲۳ درصد در درصد جوانه‌زنی این بذرها مشاهده شد و کاهش در بنیه بذر به‌طور قابل ملاحظه‌ای شدیدتر بود. از سوی‌دیگر، پیش تیمار بذرهای غیرفرسوده با CA اثر معنی داری بر درصد جوانه زنی نداشت. درحالی‌که غلظت‌های ۱۵ و ۳۰ میکرومولار به‌طور معنی دار بنیه بذرهای غیرفرسوده را بهبود بخشیدند. اما افزایش غلظت سبب کاهش معنی‌دار این صفت در مقایسه با بذرهای شاهد غیرفرسوده گردید. پیش تیمار بذرهای فرسوده با غلظت های ۴۵ و ۶۰ میکرومولار سبب بهبود درصد جوانه‌زنی شد (شکل ۱-الف). غلظت ۴۵ میکرومولار بنیه بذر را نیز بهبود بخشید اما غلظت بالاتر سبب کاهش این صفت در مقایسه با شاهد گردید (شکل ۱-ب).

کاهش طول عمر بذر یا قابلیت انبارداری آن مشکلی جدی در نگهداری بذر محسوب می‌گردد که می تواند در نهایت منجر به افزایش هزینه های تولید گردد. وقوع فرآیندهای پیری در بذر منجر به فرسودگی پیش‌رونده و در نهایت عدم جوانه‌زنی یا دست کم کاهش جوانه‌زنی می شود. همچنین بنیه بذر یک ویژگی فیزیولوژیک پیچیده است که برای ظهور سریع و یکنواخت گیاهچه در مزرعه ضروری می باشد و به توانایی ماندگاری بذر در انبار و مقاومت آن به شرایط نامناسب محیطی بستگی دارد. بذرهای با بنیه کم را می توان از طریق اعمال یک سری پیش‌تیمارهای قبل از کاشت بهبود بخشید.

نتایج بررسی ها نشان می دهد پیش تیمار بذری اسید سالیسیلیک که خود از مشتقات اسید سینامیک می باشد نیز می تواند سبب بهبود درصد جوانه زنی و بنیه بذر در برخی واریته های گندم تحت شرایط شوری گردد. در مطالعه دیگری مشخص گردید پیش‌تیمار بذرهای ذرت با اسید سینامیک در شرایط تنش شوری قادر به کاهش اثرات مخرب تنش و تنظیم آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت می باشد. آن‌ها ابراز داشتند اثرات مفید اسید سینامیک تحت شرایط تنش به مراتب بارزتر از اثرات آن در شرایط بدون تنش است.

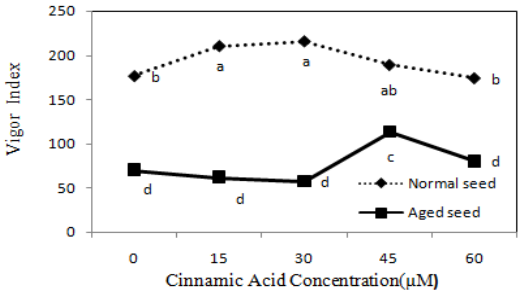
نتایج این بررسی حاکی از آن است که کاربرد CA در بذرهای فرسوده لوبیا چشم‌بلبلی به دلیل اثرات آنتی اکسیدانتی این ترکیب می تواند سبب بهبود درصد جوانه زنی و بنیه بذرهای پیر گردد. اما همان‌طورکه در شکل‌ها نشان داده شده است پیش تیمار بذری با اسید سینامیک



شکل ۱- الف- درصد جوانه‌زنی. تاثیر پیش‌تیمار بذر با غلظت‌های مختلف CA بر درصد جوانه‌زنی بذرهای غیرفرسوده و فرسوده. حروف غیرمشترک بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

Figure 1-a. Effect of seed pretreatment with different CA concentrations on maximum germination percentage in normal and aged seeds. Different letters indicate significant difference at 0.05 level among treatments as determined by LSD test.

در بذرهای غیرفرسوده تاثیر چندانی بر این صفات نداشته است که می تواند ناشی از کامل و فعال بودن سایر مکانیسم های دفاعی بذر در شرایط عدم تنش باشد. در نتیجه بذر نیازی به مکانیسم های دیگر و صرف انرژی اضافی نداشته است.



شکل ۱- ب- تاثیر پیش‌تیمار بذر با غلظت‌های مختلف CA بر بنیه بذرهای غیرفرسوده و فرسوده. حروف غیرمشترک بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

Figure 1-b. Effect of seed pretreatment with different CA concentrations on vigor index in normal and aged seeds. Different letters indicate significant difference at 0.05 level among treatments as determined by LSD test.

جدول ۱-تجزیه واریانس (میانگین مربعات) درصد جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر

Table 1. Variance analysis (mean of squares) of seed germination and vigor

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	شاخص بنیه بذر SVI
A	1	4080.4**	3532482.77**
B	4	136.6*	92614.7
AB	4	105.4*	250693.5**
ضریب تغییرات CV(%)		7.18	16.58

، *و ** به‌ترتیب بیان‌گر معنی‌دار نشدن و معنی داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

A :کیفیت اولیه بذر، B: پیش‌تیمار با اسید سینامیک

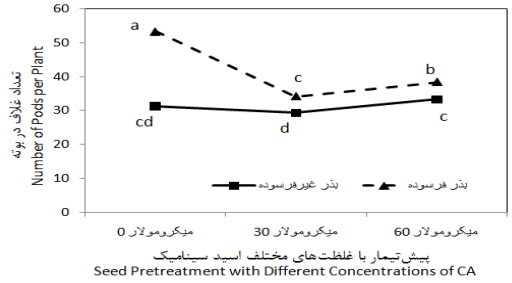
اجزای عملکرد

اجزای عملکرد نهایی در لوبیا چشم‌بلبلی شامل تعداد دانه در غلاف، تعداد غلاف در بوته و وزن هزاردانه می باشند.

تعداد غلاف در بوته

نتایج تجزیه واریانس داده های مربوط به تعداد غلاف در بوته نشان داد اثرات متقابل کیفیت اولیه بذر و پیش تیمار با غلظت‌های مختلف CA در سطح ۱ درصد، کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف CA در سطح ۱ درصد، اثر متقابل پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت های مختلف CA در سطح ۱ درصد و نیز اثر سه گانه کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت های مختلف CA در سطح ۱ درصد بر این صفت معنی‌دار می باشند. همچنین اثر سال بر این صفت معنی دار نبود (جدول ۲). همان‌طور که در شکل های ۲- الف و ۲-ب نشان داده شده است، تعداد غلاف در بوته گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده در مقایسه با گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده به‌طور متوسط ۴۳ درصد بیش‌تر بود. شکل۲-الف نشان می‌دهد پیش تیمار بذرهای غیرفرسوده با CA تاثیری بر مقدار این صفت نداشته است. درحالی‌که پیش-تیمار بذری CA سبب کاهش معنی دار این صفت در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده در مقایسه با شاهد گردید. به طوری‌که کاربرد غلظت ۳۰ میکرومولار و ۶۰ میکرومولار در بذرهای فرسوده موجب کاهش تعداد غلاف

در بوته به‌میزان به‌ترتیب ۳۶ درصد و ۲۸ درصد گردید. محلول‌پاشی CA نیز در این گیاهان منجر به کاهش به‌ترتیب ۱۳ و ۲۴ درصدی این صفت گردید (شکل ۲-ب). این بدان معناست که تنش فرسودگی بذر سبب فعال‌شدن مکانیسم‌های دفاعی داخلی گیاه گردیده است. به‌طوری‌که نیازی به فعال‌شدن مکانیسم‌های اضافی که مستلزم صرف انرژی می‌باشد، نبوده است و احتمالا با اعمال این تیمارها مقادیر داخلی این متابولیت افزایش یافته و سبب بروز تنش اکسیداتیو منتهی به کاهش این صفت گردیده است. همان‌طور که در شکل ۲-ب مشاهده می گردد محلول-پاشی گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده با غلظت ۶۰ میکرومولار افزایش معنی‌دار این صفت را در پی داشت و غلظت پایین‌تر معنی‌دار نبود. از بررسی اثر متقابل پیش

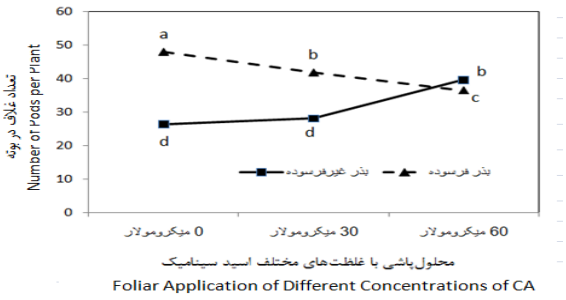


شکل ۲- الف-تعداد غلاف در بوته. تغییرات تعداد غلاف در بوته در گیاهان حاصل از بذرهایی با کیفیت اولیه متفاوت تحت تاثیر پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف CA. حروف غیرمشترک بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

Figure 2- a. Number of pods per plant. Changes in number of pods per plant under the interaction effect of seed primary quality and pretreatment of different concentrations of cinnamic acid. Different letters indicate significant difference at 0.05 level among treatments as determined by LSD test.

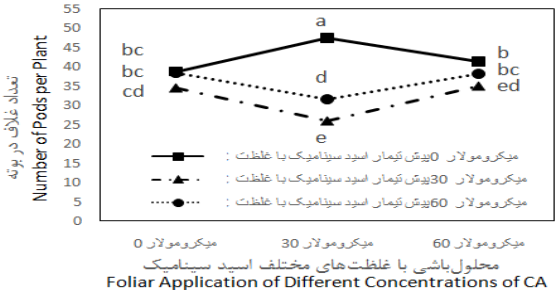
تیمار و محلول پاشی با غلظت های مختلف CA مشخص گردید بیش‌ترین تعداد غلاف در بوته معادل حدودا ۴۷ غلاف در گیاهان محلول‌پاشی شده با غلظت ۳۰ میکرومولار بدون پیش‌تیمار بذری و کم‌ترین تعداد معادل حدودا ۲۶ غلاف در بوته های پیش تیمار و محلول پاشی شده با غلظت ۳۰ میکرومولار حاصل گردیده است (شکل۲-ج).

بررسی اثرات سه‌گانه کیفیت اولیه بذر، پیش تیمار و محلول پاشی غلظت‌های مختلف CA حاکی از آن بود که ترکیب تیماری عدم پیش تیمار و محلول پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده بیش‌ترین تعداد غلاف در بوته را دارد (جدول پیوست ۱).



شکل ۲- ب- تعداد غلاف در بوته. تغییرات تعداد غلاف در بوته در گیاهان حاصل از بذرهایی با کیفیت اولیه متفاوت تحت تاثیر محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف CA. حروف غیرمشترک بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

Figure 2- b. Number of pods per plant. Changes in number of pods per plant under the interaction effect of seed primary quality and foliar application of different concentrations of cinnamic acid. Different letters indicate significant difference at 0.05 level among treatments as determined by LSD test.



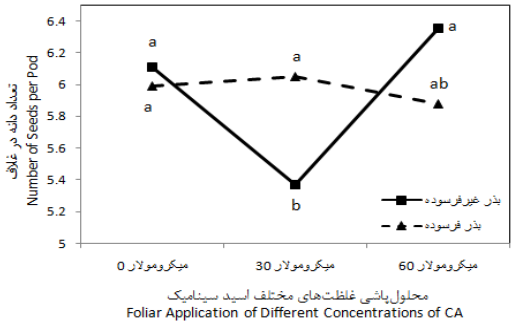
شکل ۲- ج- تعداد غلاف در بوته. تغییرات تعداد غلاف در بوته تحت تاثیر اثر متقابل پیش‌تیمار و محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف CA. حروف غیرمشترک بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

Figure 2- c. Number of pods per plant. Changes in number of pods per plant under the interaction effect of seed primary quality and foliar application of different concentrations of cinnamic acid. Different letters indicate significant difference at 0.05 level among treatments as determined by LSD test.

تعداد دانه در غلاف

نتایج تجزیه واریانس حاکی از آن بود که اثرات متقابل کیفیت اولیه بذر و محلول پاشی CA در سطح ۵ درصد، پیش تیمار با CA و محلول پاشی آن در سطح ۱ درصد و نیز اثر سه جانبه کیفیت اولیه بذر، پیش تیمار و محلول پاشی با غلظت های مختلف CA در سطح ۱ درصد بر تعداد دانه در غلاف معنی دار می باشند. همچنین اثر سال بر این صفت معنی‌دار نبود (جدول ۲).

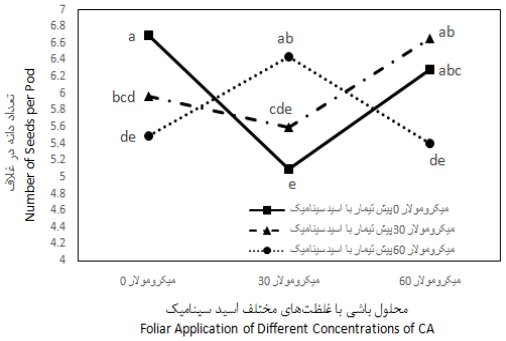
فرسودگی بذر تاثیری بر تعداد دانه در غلاف گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده در مقایسه با این تعداد در



شکل ۳-الف- تعداد دانه در غلاف. تغییرات تعداد دانه در غلاف تحت تاثیر اثر متقابل کیفیت اولیه بذر و محلول پاشی غلظت‌های مختلف CA. حروف غیرمشترک بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

Figure 3- a. Number of seeds per pod. Changes in number of seeds per pod under the interaction effect of seed primary quality and pretreatment of different concentrations of cinnamic acid. Different letters indicate significant difference at 0.05 level among treatments as determined by LSD test.

همان‌طورکه در شکل ۲-ب نشان داده شده است ترکیبات تیماری عدم پیش‌تیمار یا محلول‌پاشی CA، عدم پیش تیمار و محلول پاشی CA با غلظت ۶۰ میکرومولار، پیش تیمار با غلظت ۳۰ میکرومولار و محلول پاشی غلظت ۶۰ میکرومولار و نیز پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار و محلول پاشی با ۳۰ میکرومولار از نظر تولید بیش‌ترین تعداد دانه در غلاف در یک گروه آماری قرار گرفتند. در حالی که کم‌ترین تعداد دانه در غلاف در ترکیبات تیماری محلول پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار بدون اعمال پیش تیمار، پیش تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار، پیش تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار و عدم محلول پاشی CA و نیز پیش تیمار و محلول پاشی با غلظت ۶۰ میکرومولار CA حاصل گردید. همچنین بررسی مقایسه گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده ایجاد نکرد (شکل ۳-الف). گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده به محلول-پاشی غلظت های مختلف CA واکنش متفاوتی نشان دادند. به‌طوری‌که کاربرد غلظت پائین‌تر موجب افت حدودا ۱۲ درصدی این صفت شد، درحالی‌که محلول پاشی با غلظت بالاتر سبب افزایش تعداد غلاف در بوته تا حد تعداد آن در گیاهان شاهد حاصل از بذرهای فرسوده یعنی حدود ۶ بذر در غلاف گردید. در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده واکنش معنی داری به محلول پاشی CA ملاحظه نگردید (شکل ۳-الف).



شکل ۳-ب- تعداد دانه در غلاف. تغییرات تعداد دانه در غلاف تحت تاثیر اثر متقابل پیش‌تیمار و محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف CA. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

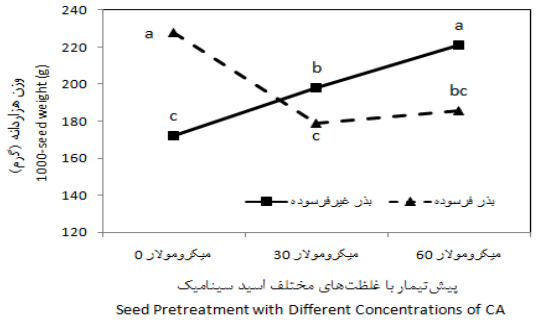
Figure 3- b. Number of seeds per pod. Changes in number of seeds per pod under the interaction effect of seed primary quality and pretreatment of different concentrations of cinnamic acid. Different letters indicate significant difference at 0.05 level among treatments as determined by LSD test.

میانگین اثرات متقابل سه‌گانه کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار و محلول پاشی با CA برای این صفت نشان داد که ترکیبات تیماری بذرهای شاهد غیرفرسوده، بذرهای غیرفرسوده بدون پیش تیمار و محلول پاشی‌شده با غلظت ۳۰ میکرومولار CA و نیز بذرهای غیرفرسوده پیش تیمارشده با غلظت ۳۰ میکرومولار و محلول پاشی‌شده با غلظت ۶۰ میکرومولار از نظر تولید بیش‌ترین تعداد دانه در غلاف در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول پیوست ۱).

وزن هزاردانه

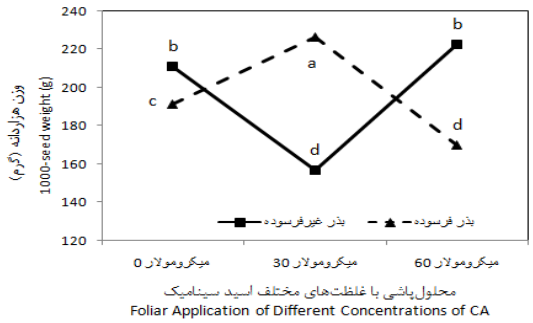
از میان منابع تغییر، اثرات متقابل کیفیت اولیه بذر و پیش تیمار غلظت های مختلف CA در سطح ۱ درصد، کیفیت اولیه بذر و محلول پاشی غلظت های مختلف CA

در سطح ۱ درصد و نیز اثر سه جانبه کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی CA در سطح ۱ درصد معنی‌دار بودند. همچنین اثر سال بر هیچ یک از منابع تغییر معنی-دار نشد (جدول ۲).همان‌طور که در شکل ۴-الف مشخص می باشد پیش تیمار با غلظت های مختلف CA سبب افزایش وزن هزاردانه گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده در مقایسه با شاهد گردید. به‌طوری‌که کاربرد و افزایش غلظت CA از صفر تا ۳۰ میکرومولار و سپس ۶۰ میکرومولار افزایشی معادل به‌ترتیب ۱۳/۲۴ درصد و ۲۲/۱۸ درصد را در پی داشت. فرسودگی بذر سبب فعال-شدن مکانیسم‌های داخلی گیاه گردیده است. به‌طوری‌که



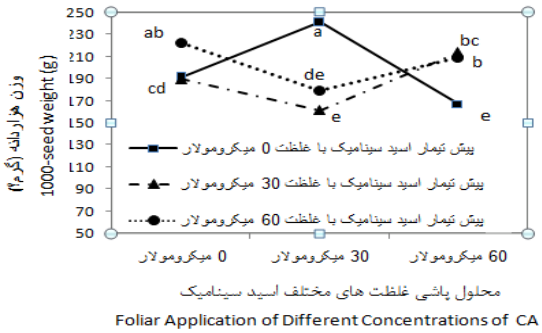
شکل ۴-الف- وزن هزاردانه. تغییرات وزن هزاردانه تحت تاثیر اثر متقابل کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف CA. حروف غیرمشترک بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

Figure 3- a. 1000-seed weight. Changes in 1000-seed weight under the interaction effect of seed primary quality and pretreatment of different concentrations of cinnamic acid. Different letters indicate significant difference at 0.05 level among treatments as determined by LSD test.



شکل ۴-ب- وزن هزاردانه. تغییرات وزن هزاردانه تحت تاثیر اثر متقابل کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی غلظت های مختلف CA. حروف غیرمشترک بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

Figure 3- b: 1000-seed weight. Changes in 1000-seed weight under the interaction effect of seed primary quality and pretreatment of different concentrations of cinnamic acid. Different letters indicate significant difference at 0.05 level among treatments as determined by LSD test.



شکل ۴-ج- وزن هزاردانه. تغییرات وزن هزاردانه تحت تاثیر اثر متقابل پیش‌تیمار و محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف CA. حروف غیرمشترک بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

Figure 4- c. 1000-seed weight. Changes in 1000-seed weight under the interaction effect of seed pretreatment and foliar application of different concentrations of cinnamic acid. Different lettersindicate significant difference at 0.05 level among treatments as determined by LSD test.

وزن هزاردانه گیاهان شاهد حاصل از بذرهای فرسوده حدود ۵۶ گرم بیش‌تر از گیاهان شاهد غیرفرسوده بود. پیش تیمار بذرهای فرسوده با غلظت های CA موجب کاهش قابل ملاحظه و معنی‌دار وزن هزاردانه این گیاهان در مقایسه با شاهد گردید. به‌طور کلی می‌توان گفت پیش تیمار بذرهای فرسوده با CA اثر کاهشی بر این صفت داشته است.

محلول پاشی این ترکیب با غلظت های مورد مطالعه CA نیز سبب بروز پاسخ‌های متفاوتی در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده و فرسوده گردید، به‌طوری‌که کاربرد

برگی غلظت ۳۰ میکرومولار این متابولیت در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده منجر به کاهش شدید وزن هزاردانه گردید. اما غلظت بالاتر بی تاثیر بود. در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده محلول‌پاشی غلظت ۳۰ میکرومولار افزایش معنی‌دار و غلظت بالاتر، کاهش معنی دار در مقایسه با شاهد را در پی داشت (شکل ۴-ب). همچنین بررسی اثر متقابل پیش تیمار و محلول پاشی غلظت‌های اسید سینامیک نشان داد بیش‌ترین مقدار وزن هزاردانه از ترکیب تیماری عدم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی غلظت ۳۰ میکرومولار و نیز پیش تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار و عدم محلول‌پاشی بدست آمد (شکل ۴- ج). مطالعه اثرات سه‌گانه کیفیت اولیه بذر، پیش تیمار و محلول پاشی غلظت های مختلف CA نشان داد ترکیب تیماری عدم پیش تیمار و محلول پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار در بذرهای فرسوده بیش‌ترین وزن هزاردانه را دارد (جدول پیوست ۱).

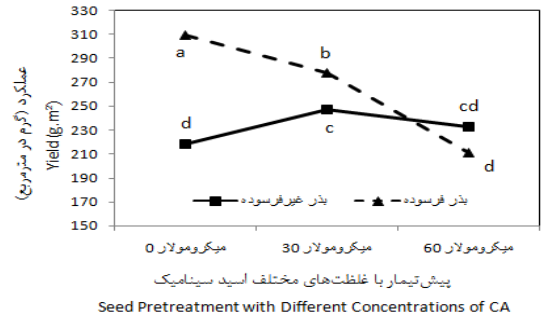
عملکرد

نتایج تجزیه واریانس حاکی از آن بود که اثر متقابل کیفیت اولیه بذر و پیش تیمار بذری CA در سطح ۱ درصد، کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف CA در سطح ۱ درصد، اثر متقابل پیش تیمار و محلول پاشی غلظت‌های CA در سطح ۱ درصد و نیز اثر متقابل سه جانبه کیفیت اولیه بذر، پیش تیمار و محلول پاشی غلظت های CA در سطح ۱ درصد بر عملکرد معنی دار شدند. همچنین اثر سال بر هیچ یک از منابع تغییر این صفت معنی دار نگردید (جدول ۲). میزان عملکرد نهایی گیاهان شاهد حاصل از بذرهای فرسوده به‌طور قابل ملاحظه‌ای (حدود ۳۰ درصد) بالاتر از مقدار آن در گیاهان شاهد حاصل از بذرهای غیرفرسوده بود (شکل ۵-الف). مطالعه اثر متقابل کیفیت اولیه بذر و پیش تیمار غلظت-های مختلف CA در بوته های حاصل از بذرهای غیرفرسوده نشان داد کاربرد غلظت ۳۰ میکرومولار CA حدود ۱۲ درصد میزان عملکرد نهایی را در مقایسه با بوته‌های شاهد بهبود بخشید. اما بالا بردن غلظت CA تاثیری نداشت. در بوته های حاصل از بذرهای فرسوده پیش تیمار غلظت های مختلف این متابولیت سبب کاهش عملکرد نهایی گردید. این بدان معناست که پیش‌تیمار بذرهای فرسوده با این ترکیب احتمالا سبب افزایش مقادیر داخلی و در نتیجه تحریک بروز سطوحی از تنش اکسیداتیو گردیده که در نهایت کاهش عملکرد را در پی داشته است. در بررسی پاسخ گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده به محلول‌پاشی CA مشخص گردید غلظت ۶۰ میکرومولار سبب افزایش ۲۱ درصدی این صفت در مقایسه با شاهد شده است. این در حالی بود که در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده نیز غلظت پائین‌تر همین مقدار افزایش عملکرد در مقایسه با شاهد را در پی داشت. شایان ذکر است این ترکیب تیماری در مجموع بالاترین میزان عملکرد معادل تقریبا ۳۱۵ گرم در متر مربع را تولید کرد (شکل ۵-ب). این افزایش عملکرد ناشی از افزایش وزن هزاردانه و نیز تعداد غلاف در بوته برای این ترکیب تیماری بود. به‌طوری‌که بالاترین مقادیر وزن هزاردانه و تعداد دانه در غلاف نیز از همین ترکیب تیماری حاصل شد بررسی اثر متقابل پیش تیمار و محلول پاشی غلظت های مختلف CA حاکی از آن بود که پیش‌تیمار CA با غلظت ۳۰ میکرومولار بدون انجام محلول پاشی این متابولیت بیش‌ترین عملکرد در واحد سطح بدست آمد. ترکیبات تیماری عدم پیش تیمار و محلول پاشی، پیش تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار بدون محلول پاشی و نیز پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار و محلول‌پاشی همین غلظت از نظر تولید کم‌ترین عملکرد در یک گروه آماری قرار گرفتند (شکل ۵-ج). مطالعه اثرات سه‌گانه کیفیت اولیه بذر، پیش تیمار و محلول پاشی غلظت های مختلف CA نشان داد بیش‌ترین میزان عملکرد از ترکیب تیماری عدم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار در بذرهای فرسوده بدست آمد. ترکیبات تیماری عدم پیش تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۶۰ میکرومولار در بذرهای فرسوده و نیز پیش تیمار بذرهای فرسوده با غلظت ۳۰ میکرومولار و بدون محلول پاشی در رتبه بعدی از نظر تولید بیش‌ترین عملکرد قرار داشتند (جدول پیوست ۱).

شایان ذکر است بر اساس نتایج این بررسی، گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده احتمال کاهش میزان عملکرد نهایی را از طریق افزایش وزن هزاردانه و تعداد غلاف در بوته جبران کرده اند.

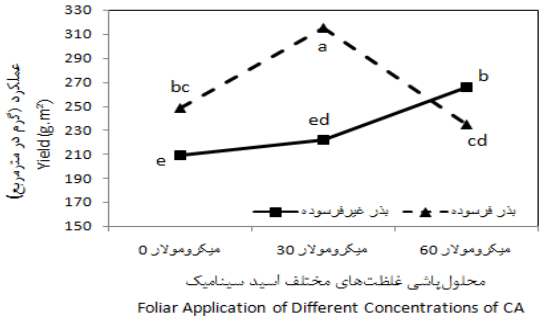
زالایی و همکاران (Szalai *et al*., 2016) در مطالعه ای که روی گیاه ذرت در شرایط تنش سرما انجام دادند

دریافتند پیش‌تیمار بذری اسید سالیسیلیک به‌عنوان یکی از مشتقات مهم CA سبب افزایش سطوح داخلی CA و نیز برخی دیگر از اسمولیت‌ها و در نهایت افزایش عملکرد نهایی گیاه گردید. در بررسی دیگری که توسط عبدالله و همکاران (Abd Allah *et al.*, 2015) روی گیاه کینوا انجام شد مشخص گردید محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و اسید بنزوئیک که از مشتقات CA می‌باشند سبب افزایش وزن هزاردانه و عملکرد این گیاه گردید.



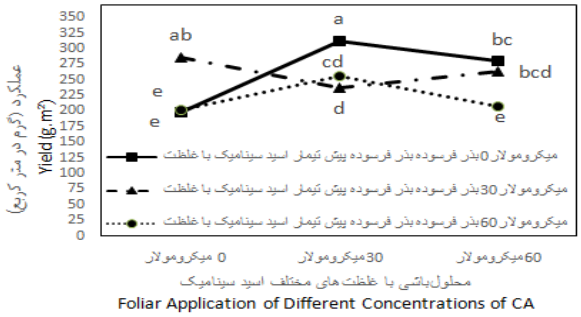
شکل ۵-الف-عملکرد.تغییرات عملکرد دانه تحت تاثیر اثر متقابل کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف CA. حروف غیرمشترک بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

Figure 5- a. Yield. Changes in yield under the interaction effect of seed primary quality and pretreatment of different concentrations of cinnamic acid. Different letters indicate significant difference at 0.05 level among treatments as determined by LSD test.



شکل ۵-ب- عملکرد.عملکرد دانه تحت تاثیر اثر متقابل کیفیت اولیه بذر و محلولپاشی غلظت‌های مختلف CA. حروف غیرمشترک بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد می‌باشد.

Figure 5- b. Yield. Changes in yield under the interaction effect of seed primary quality and pretreatment of different concentrations of cinnamic acid. Different letters indicate significant difference at 0.05 level among treatments as determined by LSD test.



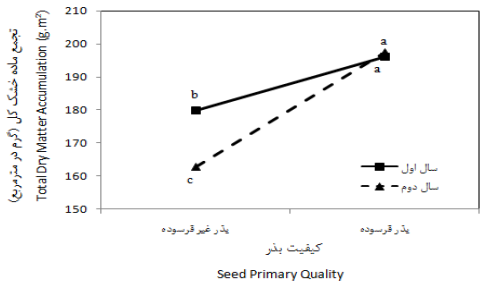
شکل ۵-ج- عملکرد. تغییرات عملکرد دانه تحت تاثیر اثر متقابل پیش‌تیمار و محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف CA. حروف غیرمشترک بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

Figure 5- b. Yield. Changes in yield under the interaction effect of seed primary quality and pretreatment of different concentrations of cinnamic acid. Different letters indicate significant difference at 0.05 level among treatments as determined by LSD test.

تجمع ماده خشک

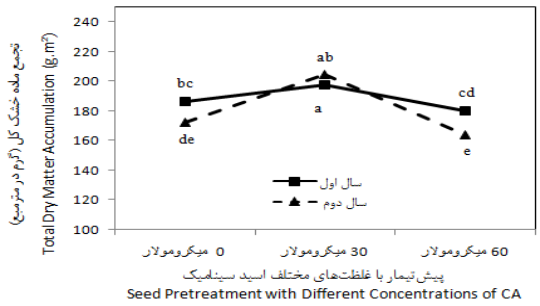
از تجزیه واریانس داده‌های تجمع ماده خشک مشخص گردید از میان منابع تغییر، اثر سال در سطح ۵ درصد، پیش‌تیمار با CA و نیز محلول‌پاشی آن در سطح ۱ درصد معنی‌دار شدند. اثرات متقابل سال و کیفیت اولیه بذر در سطح ۵ درصد، سال و پیش تیمار در سطح ۵ درصد، کیفیت اولیه بذر و پیش تیمار CA در سطح ۱ درصد، کیفیت اولیه بذر و محلول پاشی CA در سطح ۱ درصد، پیش تیمار و محلول پاشی در سطح ۱ درصد و نیز اثرات متقابل سه جانبه کیفیت اولیه بذر، پیش تیمار و محلول-پاشی در سطح ۱ درصد و نیز سال، پیش تیمار و محلول پاشی CA در سطح ۵ درصد معنی دار می‌باشند (جدول ۲). در هر دو سال تجمع ماده خشک در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده در مقایسه با گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده به‌طور معنی داری بیش‌تر بود (۸ درصد در سال اول و ۱۸ درصد در سال دوم) (شکل ۶-الف).

گیاهان حاصل از بذرهای پیش‌تیمارشده با غلظت‌های مختلف CA در سال اول از نظر این صفت تفاوت



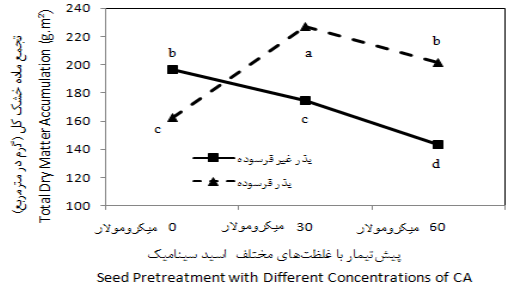
شکل ۶-الف- تجمع ماده خشک کل. تغییرات تجمع ماده خشک تحت تاثیر اثر متقابل کیفیت اولیه بذر و سال. حروف غیرمشترک بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها می‌باشد.

Figure 6- a. Dry matter accumulation. Changes in dry matter accumulation under the interaction effect of seed primary quality and year. Different letters indicate significant difference at 0.05 level among treatments as determined by LSD test.



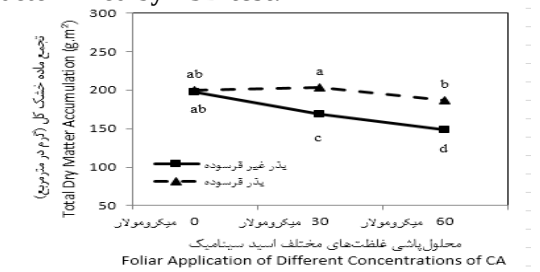
شکل ۶-ب- تجمع ماده خشک کل. تغییرات تجمع ماده خشک تحت تاثیر اثر متقابل پیش تیمار بذر و سال. حروف غیرمشترک بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها می‌باشد.

Figure 6- b. Dry matter accumulation. Changes in dry matter accumulation under the interaction effect of seed primary quality and year. Different letters indicate significant difference at 0.05 level among treatments as determined by LSD test.



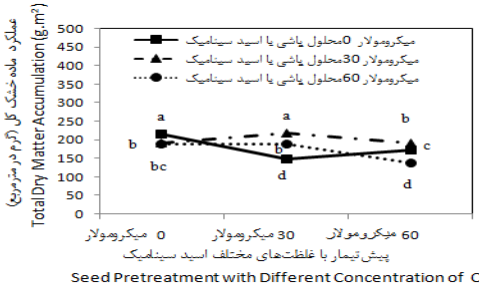
شکل ۶-ج- تجمع ماده خشک کل. تغییرات تجمع ماده خشک تحت تاثیر اثر متقابل کیفیت اولیه بذر و پیش تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک. حروف غیرمشترک بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها می‌باشد.

Figure 6- c. Dry matter accumulation. Changes in dry matter accumulation under the interaction effect of seed primary quality and seed pretreatment. Different letters indicate significant difference at 0.05 level among treatments as determined by LSD test.



شکل ۶-د- تجمع ماده خشک کل. تغییرات تجمع ماده خشک تحت تاثیر اثر متقابل کیفیت اولیه بذر و محلول پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک. حروف غیرمشترک بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها می‌باشد.

Figure 6- d. Dry matter accumulation. Changes in dry matter accumulation under the interaction effect of seed primary quality and foliar application. Different letters indicate significant difference at 0.05 level among treatments as determined by LSD test.



شکل ۶-و- تجمع ماده خشک کل. تغییرات تجمع ماده خشک تحت تاثیر اثر متقابل پیش‌تیمار و محلول پاشی با غلظت های مختلف اسید سینامیک . حروف غیرمشترک بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد.

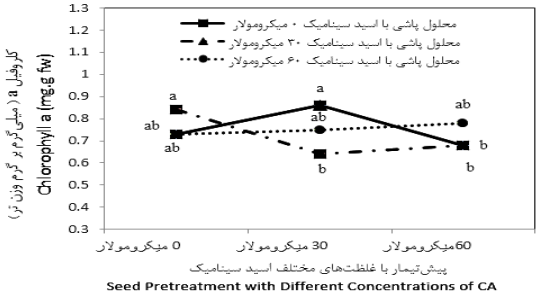
Figure 6-f. Dry matter accumulation. Changes in dry matter accumulation under the interaction effect of seed primary quality and seed pretreatment. Different letters indicate significant difference at 0.05 level among treatments as determined by LSD test.

معنی‌داری با شاهد نداشتند. بین غلظت های CA پیش تیمارشده در این سال اختلاف معنی دار بود. به‌طوری‌که گیاهان حاصل از بذرهای پیش تیمارشده با غلظت ۳۰ میکرومولار ماده خشک بیش‌تری در مقایسه با غلظت بالاتر داشتند. در سال دوم نیز پیش‌تیمار با غلظت پائین‌تر CA به تولید ماده خشک بیش‌تری انجامید که این مقدار افزایش در مقایسه با شاهد معنی دار بود (شکل ۶-ب). گیاهان حاصل از بذرهایی با کیفیت اولیه متفاوت که با غلظت های مختلف CA پیش تیمارشده بودند واکنش متفاوتی به این متابولیت از نظر این صفت نشان دادند. به‌طوری‌که در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده پیش-تیمار CA موجب افت شدید تجمع ماده خشک به‌ترتیب معادل ۱۲/۲۵ درصد و ۳۷/۱۳ درصد در غلظت‌های ۳۰ و ۶۰ میکرومولار گردید. در مورد محلول پاشی نیز همین نتیجه بدست آمد (شکل ۶-ج و ۶-د). اما در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده پیش‌تیمار این ترکیب به افزایش قابل ملاحظه ۴۰ و ۲۴ درصدی برای غلظت‌های ۳۰ و ۶۰ میکرومولار منتهی شد (شکل ۶-ج). محلول پاشی CA با غلظت کم‌تر از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت. این درحالی بود که بالابردن غلظت محلول پاشی موجب کاهش تجمع ماده خشک در این گیاهان گردید (شکل ۶- د). در شکل ۶-ه نشان داده شده است که بیش‌ترین مقدار تجمع ماده خشک در تیمار شاهد و نیز پیش تیمار و محلول پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار و کم‌ترین مقدار از پیش تیمار و محلول پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار و نیز پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۶۰ میکرومولار بدست آمد. در واقع بالارفتن غلظت داخلی این متابولیت با اعمال هر دو تیمار بر این صفت اثر کاهشی داشته است. از بررسی اثرات سه‌گانه کیفیت اولیه بذر، پیش تیمار و محلول پاشی CA مشخص گردید که بیش‌ترین میزان تجمع ماده خشک در تیمار عدم پیش تیمار و محلول‌پاشی CA در بذرهای غیرفرسوده بود. به-طورکلی کاربرد CA در بذرهای غیرفرسوده و گیاهان حاصل از آن‌ها موجب کاهش معنی‌دار تجمع ماده خشک در مقایسه با شاهد گردید. در بذرهای فرسوده ترکیبات تیماری پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار، پیش‌تیمار با غلظت ۳۰ و محلول‌پاشی غلظت ۶۰ میکرومولار، پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ بدون محلول‌پاشی و نیز پیش تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار و محلول پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار بعد از تیمار شاهد غیرفرسوده بالاترین میزان این صفت را در مقایسه با شاهد در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده دارا بودند. بررسی اثر سه‌گانه سال، پیش تیمار و محلول پاشی نیز نشان داد بیش‌ترین مقدار این صفت در سال دوم از پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار بدست آمد (جدول پیوست۲).

بررسی اثرات چهارگانه حاکی از آن بود که نظیر آنچه در بررسی اثرات سه گانه مشاهده گردید، پیش تیمار و محلول‌پاشی با بالاترین غلظت سبب کاهش تجمع ماده خشک گردید. این درحالی بود که بیش‌ترین میزان این صفت از تیمار شاهد در سال اول و نیز پیش تیمار و محلول پاشی بذرهای فرسوده با غلظت پایین تر در سال دوم حاصل شد (جدول پیوست ۳).

محتوای کلروفیل و کاروتنوئید

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به کلروفیل a، b، محتوای کل کلروفیل و نیز محتوای کاروتنوئید حاکی از آن بود که به جز اثر متقابل پیش‌تیمار و محلول‌پاشی



شکل ۷- محتوای کلروفیل a. تغییرات محتوای کلروفیل a تحت تاثیر اثر متقابل پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف CA. حروف غیرمشترک بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

Figure 7. Chlorophyll a. Changes in yield under the interaction effect of seed primary quality and pretreatment of different concentrations of cinnamic acid. Different letters indicate significant difference at 0.05 level among treatments as determined by LSD test.

جدول ۲-تجزیه واریانس (میانگین مربعات) عملکرد دانه، اجزای عملکرد، محتوای کلروفیل، کاروتنوئید و تجمع ماده خشک

Table 2. Variance analysis (mean of squares) of seed yield, yield components, chlorophyll content, carotenoid and dry matter accumulation

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی df	تعداد غلاف در بوته	تعداد بذر در غلاف	وزن هزاردانه	عملکرد	محتوای کلروفیل a	محتوای کلروفیل b	محتوای کلروفیل کل	محتوای کارتنوئید	تجمع ماده خشک
R	2	47.5	0.36	62.57	1008.54	0.0032	0.1669	0.1618	3.0218	1585.10
Y	1	9.48^{ns}	10.10**	131.78^{ns}	22.44^{ns}	0.0001^{ns}	0.1173^{ns}	0.1083^{ns}	1.7429^{ns}	1719.13*
Y×R	2	5.89	0.17	127.65	94.96	0.0095	0.0081	0.0297	0.5522	172.41^{ns}
A	1	3093.37**	0.03^{ns}	51.2^{ns}	30376.5**	0.0403^{ns}	0.1351^{ns}	0.3223^{ns}	2.3349^{ns}	17402.81**
Y×A	1	13.37ns	0.01^{ns}	1.32^{ns}	1206.67^{ns}	0.0049^{ns}	0.0045^{ns}	0.0192^{ns}	0.1959^{ns}	2307.87*
B	2	1024.78**	0.89^{ns}	2179.49^{ns}	20427.96**	0.0284^{ns}	0.0031^{ns}	0.0495^{ns}	1.0758^{ns}	8015.31**
C	2	93.78^{ns}	1.67^{ns}	13.473^{ns}	13977.08**	0.014^{ns}	0.0017^{ns}	0.0156^{ns}	0.6952^{ns}	8666.85**
A×B	2	878.62**	0.86^{ns}	21320.52**	28906.79**	0.0328^{ns}	0.1083^{ns}	0.2158^{ns}	0.01816^{ns}	23849.27**
A×C	2	1449.06**	3.13*	39712.65**	34873.51**	0.0712^{ns}	0.1098^{ns}	0.2845^{ns}	2.2602^{ns}	3794.12**
B×C	4	316.8**	6.99**	15276.19**	22342.54**	0.1122*	0.1965^{ns}	0.5701^{ns}	2.4896^{ns}	9278.35**
A×B×C	4	862.27**	5.02**	7464.01**	31523.23**	0.0076^{ns}	0.0251^{ns}	0.041^{ns}	0.9554^{ns}	2032.23**
Y×B	2	19^{ns}	0.01^{ns}	177.06^{ns}	549.09^{ns}	0.0017^{ns}	0.001^{ns}	0.0025^{ns}	0.2154^{ns}	1494.62*
Y×C	2	78.6^{ns}	0.18^{ns}	760.24^{ns}	562.31^{ns}	0.0027^{ns}	0.0051^{ns}	0.0012^{ns}	0.0304^{ns}	1257.19^{ns}
Y×A×B	2	28.5^{ns}	0.38^{ns}	17.58^{ns}	381.52^{ns}	0.0008^{ns}	0.015^{ns}	0.0232^{ns}	0.4902^{ns}	753.33^{ns}
Y×A×C	2	10.95^{ns}	1.8^{ns}	402.21^{ns}	369.25^{ns}	0.0061^{ns}	0.0011^{ns}	0.0031^{ns}	0.3764^{ns}	228.08^{ns}
Y×B×C	4	93.8^{ns}	0.82^{ns}	224.4^{ns}	730.1^{ns}	0.008^{ns}	0.0074^{ns}	0.0149^{ns}	0.2572^{ns}	1253.61^{ns}
Y×A×B×C	4	23.63^{ns}	0.3^{ns}	309.17^{ns}	732.68^{ns}	0.0042^{ns}	0.0085^{ns}	0.024^{ns}	0.8718^{ns}	915.34*
کل MS	68	34.76	0.75	727.73	1250.5	0.0374	0.111	0.2539	1.1799	422.14
ضریب تغییرات (CV %)		16.06	14.58	13.68	14.18	25.92	27.72	25.85	17.66	20.54

A :کیفیت اولیه بذر B: پیش تیمار با اسید سینامیک C: محلول پاشی با اسید سینامیک Y : سال

غلظت‌های مختلف CA در سطح ۵ درصد هیچ یک از منابع تغییر برای این صفت معنی دار نمی باشند (جدول ۲). همان‌طور که در شکل ۷ نشان داده شده است هیچ یک از ترکیبات تیماری با تیمار شاهد (عدم پیش تیمار و محلول پاشی CA) اختلاف معنی داری نداشتند. در واقع می توان گفت کاربرد CA به‌صورت پیش تیمار بذری و یا محلول پاشی برگی تغییری در مقدار کلروفیل a ایجاد نکرد. اما مقدار کلروفیل a در ترکیبات تیماری عدم پیش-تیمار و محلول پاشی با ۳۰ میکرومولار، پیش تیمار با غلظت ۳۰ میکرومولار بدون انجام محلول پاشی به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از ترکیبات تیماری پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار بدون محلول‌پاشی، پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ و محلول پاشی غلظت ۳۰ میکرومولار و نیز پیش تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار بود.

مطالعه سینگ و همکاران (Singh *et al*., 2013) روی گیاه کلم حاکی از کاهش مقدار رنگیزه‌های گیاه پس از کاربرد CA بود. در مطالعه آن‌ها غلظت‌های بالاتری از CA نسبت به غلظت‌های مورد استفاده در بررسی ما اعمال شده بود. همچنین در بررسی که توسط موهارکار و همکاران (Moharekar *et al*., 2003) صورت گرفت مشخص گردید کاربرد اسید سالیسیلیک به‌عنوان یکی از مشتقات CA نیز سبب کاهش محتوای کلروفیل برگ در گیاهچه های ماش می گردد. آن‌ها نتیجه گیری کردند که احتمالا اسید سالیسیلیک سبب ایجاد تنش اکسیداتیو گردیده است. با توجه به این واقعیت که غلظت‌های بالای ترکیبات اسمولیت نظیر CA و اسید سالیسیلیک سبب بروز تنش اکسیداتیو در گیاهان می گردد، می توان نتیجه گیری کرد که CA در غلظت‌های پائین مورد استفاده در مطالعه ما دست کم سبب بروز شرایط تنش و در نتیجه کاهش میزان رنگیزه ها نگردیده است.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد صفات مورد بررسی بر حسب کیفیت اولیه بذر لوبیا چشم‌بلبلی توده محلی بسطام واکنش متفاوتی به کاربرد CA داشتند. به طوری که هرگاه کاربرد CA سبب بهبود یک صفت گردید آن صفت در گیاهان حاصل از بذرهایی با کیفیت متفاوت کاهش نشان داد. در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده پیش‌تیمارشده تعداد غلاف در بوته، وزن هزاردانه و عملکرد بذر کاهش اما در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده افزایش یافتند. این تیمار در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده و غیرفرسوده به‌ترتیب سبب افزایش و کاهش تجمع ماده خشک گردید. گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده به محلول‌پاشی CA واکنش‌های متفاوتی نشان دادند. تعداد غلاف در بوته کاهش، وزن هزاردانه و عملکرد افزایش یافتند اما بر تعداد دانه در غلاف و تجمع ماده خشک تاثیر معنی دار نداشت. در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده، تعداد غلاف در بوته و عملکرد بهبود یافت. تعداد دانه در غلاف، وزن هزاردانه و تجمع ماده خشک کاهش داشت. محتوای کلروفیل و کاروتنوئید به جز اثر متقابل پیش تیمار و محلول پاشی به کاربرد CA واکنش معنی داری نشان نداد. CA در غلظت های پائین مورد استفاده در مطالعه ما دست کم سبب بروز شرایط تنش و در نتیجه کاهش میزان رنگیزه ها نگردید. در مجموع، در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده، محلول پاشی CA در مقایسه با پیش‌تیمار بذر برای افزایش عملکرد و اجزای آن مفیدتر بود. اما در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده برعکس بود. در مورد تجمع ماده خشک پیش‌تیمار بذرهای فرسوده در مقایسه با محلول پاشی مفیدتر بود. در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده پیش تیمار سبب کاهش این صفت گردید. در مواردی که کاربرد CA سبب کاهش یک صفت در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده گردیده سیستم آنتی‌اکسیدانت گیاه به اندازه کافی کارآمد بوده تا از اثرات مخرب تنش فرسودگی بکاهد و دیگر نیازی به صرف انرژی برای راه اندازی سیستم های دیگر نبوده است. کاهش برخی صفات در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده نیز می‌تواند ناشی از افزایش غلظت درونی این ترکیب باشد.

تشکر و قدردانی

از دانشگاه صنعتی شاهرود برای تامین هزینه‌های این مطالعه و نیز آزمایشگاه بذر دانشگاه وخنینگن هلند به ویژه دکتر هنک هیلهورست به جهت تامین هزینه های مربوط به مطالعات بذر در آزمایشگاه قدردانی می شود. همچنین از دکتر لئو ویلمز به جهت همکاری در انجام آزمایش‌ها در آزمایشگاه نیز تشکر می‌گردد.

منابع

Abd Allah, M.M.S., El-Bassiouny, H.M.S., Abd-El-fattah Elewa, T. and El-Sebai, T.N. 2015. Effect of salicylic acid and benzoic acid on growth, yield and some biochemical aspects of quinoa plant grown in sandy soil. International journal of chemistry and Technology Research, 8(12): 216-225. **(Journal)**

Alipoor, M. and Mohsenzadeh, S. 2013. Effect of vitamin B complex on some biochemical parameters of *Aloe vera L.* under nickel and cadmium stress. Journal of Medicinal Plants, 2: 107-115. **(Journal)**

Apel, K. and Hirt, H. 2015. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Annual Reviews of Plant Biology, 55: 373-399. **(Journal)**

Balestrazzi, A. 2012. Understanding the molecular pathways associated with seed vigor. Plant physiology and biochemistry, 60: 196-206. **(Journal)**

Bhattacharjee, A., Kanp, A.K., Chakrabarti, D. and Pati, C.K. 2006. Technique for storage longevity of mung bean and sunflower seeds using sodium dikegulac and eucalyptus oil. Bangladesh Journal of Botany, 35(1): 55-61. **(Journal)**

Brilhante, J.C., Oliveira, A.B., Silva, J.W.L. and EFilho, J. 2013. Action of exogenous ascorbic acid on physiological quality of cowpea seeds artificially aged. Ciencias Agrarias, 34(3): 985-999. **(Journal)**

Dai, A.H., Nie, Y.X., Yu, B., Li, Q., Lu, L.Y. and Bai, J.G. 2012. Cinnamic acid pretreatment enhances heat tolerance of cucumber leaves through modulating antioxidant enzyme activity. Environmental and Experimental Botany, 79:1-10. **(Journal)**

Dey, S.A., Dey, A. and Das, S. 2012. Invigoration of two rice varieties through chemical treatments. Agricultural Science, 2(1): 51-58. **(Journal)**

Harindrachampa, W.A., Gill, M.I.S., Mahajan, B.V.C. and Bedi, S. 2015. Exogenous treatment of spermine to maintain quality and extend postharvest life of table grapes (*Vitis vinifera L.*) cv. Lame seedlings under low temperature storage. Food Science and Technology, 60: 412-419. **(Journal)**

Hiscox, J.D. and Israelstam, G.F. 1979. A Method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. Canadian Journal of Botany, 57(12): 1332-1334. **(Journal)**

Hussian, I.R., Ahmad, M., Farooq, M., Rehman, A., Amin, M. and Bakar, M.A. 2014. Seed priming: a tool to invigorate the seeds. Scientia Agriculturae, 7: 122-128. **(Journal)**

International Seed Testing Association. 1999. International rules for seed testing. Seed science and technology 27 supplement. 333p. (**Handbook**)

Joosen, R.V.L., Kodde, J., Willems, L., Ligterink, W., Vander Plas, L.H.W. and Hilhorst, H.W.M. 2010. Germinator: a software package for high-throughput scoring and curve fitting of Arabidopsis seed germination. The Plant Journal, (Online First, doi: 10.1111/j.1365-313X.2009.04116.x).

Moharekar, S.T., Lokhande, S. D., Tanaka, A. and Chavan, P. D. 2003. Effect of salicylic acid on chlorophyll and carotenoid contents of wheat and moong seedlings. Photosynthetica, 41: 315. **(Journal)**

Nemat Alla. M.M and Hasan, N.M. 2014. Alleviation of isoproturon toxicity to wheat by exogenous application of glutathione. Biochemistry and Physiology, 112: 56-62. **(Journal)**

Paparella, S., Araujo, S., Rossi, G., WijaYasingh, M., Carbonera, D. and Balestrazzi, A. 2015. Seed priming: State of the art and new perspectives. Plant Cell Reports, 25: 98-105. **(Journal)**

Reza, H., Shafiq, S.f., Chaudhary, M. and Khan, I. 2013. Seed invigoration with water, ascorbic and salicylic acid stimulates development and biochemical characters of okra (*Ablemoschuses culentus*) under normal and saline conditions. International Journal of Agriculture and Biology, 15: 486-492. **(Journal)**

Salunkhe, D.K., Chavan, J.K. and Kadam, S.S. 1985. Postharvest biotechnology of cereals. Boca Raton, CRC press. **(Book)**

Shahin, R., Srinivason, K., Umar, S.H., Suneja, P. and Yadav, S. 2013. Qualitative and quantitative changes in lipids of cowpea (*Vigna unguiculata*): Impact of changes in seed vigor. The Indian Journal of Agricultural Science, 83: 163-175. **(Journal)**

Shalaby, S. and Horwitz, B.A. 2014. Plant phenolic compounds and oxidative stress: Integrated signals in fungal-plant interactions. Molecular Plant-Microbe Interactions Journal, 610: 347-357. **(Journal)**

Shelar, V.R., Shaikh, R.S. and Nikam, A.S. 2008. Soybean seed quality during storage: A review. Agricultural Reviews, 29(2): 125-131. **(Journal)**

Singh, B. and Chaturvedi, V.K. 2014. Impact of cinnamic acid on physiological and anatomical changes in maize plants (*Zea mays* L.) grown under salinity stress. Journal of Stress Physiology and Biochemistry, 10: 122-134. **(Journal)**

Singh, B., Sunaina , S., Yadav, K. and Amist, N. 2013. Phytotoxic effects of cinnamic acid on cabbage (*Brassica oleracea* var. cappitata). Journal of stress physiology and Biochemistry, 9: 307-317. **(Journal)**

Szalai, G., Pal, M., Arendas, T. and Janda, T. 2016. Priming seed with salicylic acid increases grain yield and modifies polyamine levels in maize. Cereal Research Communications, 44: 537-548. **(Journal)**

Effect of cinnamic acid on germination, seed vigor, some physiological traits, seed yield and yield components of cowpea plants (*Vigna unguiculata*) from unaged and aged seeds

Maryam Akbari[1], Mehdi Baradaran Firozabadi[2*], Mohammad Reza Amerian[2], Naser Farrokhi[3]

Received: September 24, 2018 Accepted: March 13, 2019

Abstract

Low quality of seeds resulting from seed deterioration is of major concerns underlying reduction in both quality and quantity of production in agricultural sector. Therefore, applying compounds like CA to alleviate seed aging deleterious effects and eventually to ensure final crop yield is important. Effects of five different CA on germination percentage and seed vigor were assessed as a factorial based on completely randomized design in seed lab of plant physiology group in Wageningen University. Effects of three different concentrations of CA on physiological traits, yield and yield components of cowpea plants from seeds with different primary qualities were assessed in a two-year field experiment as factorial based on completely randomized blocks in three replications. Results indicated that CA had no significant effect on germination of unaged seeds, but concentrations of 15 and 30 µM improved seed vigor. In aged seeds CA pretreatment induced a 13-percent (45 and 60 µM) and 38-peercent (45 µM) in germination and seed vigor, respectively. Assessed characteristics differently responded to CA application based on their primary seed quality. So that when the CA application improved a trait, the trait was reduced in plants of different seed primary quality. In total, CA foliar application in plants from aged seeds was more effective to enhance yield and yield components while the reverse result was obtained for plants from unaged seeds. In case of dry matter accumulation, aged seed pretreatment was more effective than foliar application while a reverse result was obtained for plants from unaged seeds.

Key words: Dry matter accumulation; Germinations; Phenylpropanoid pathway; Photosynthesis pigments; Seed deterioration; Seed improvement techniques; Seed vigor

How to cite this article

Akbari, M., Baradaran Firozabadi, M., Amerian, M.R, and Farrokhi, N. 2020. Effect of cinnamic acid on germination, seed vigor, some physiological traits, seed yield and yield components of cowpea plants (*Vigna unguiculata*) from unaged and aged seeds. Iranian Journal of Seed Science and Research, 7(2): 161-177. (In Persian)(**Journal)**

DOI: 10.22124/jms.2020.4555

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 Plant Physiology, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran
2. Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran
3. Assistant Professor, Department of Cell and Molecular Biology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

*Corresponding author: m.baradaran.f@gmail.com