اثر پیش‌تیمارهای هورمونی و آبی بر جوانه‌زنی بذر و رشد و خصوصیات بیوشیمیایی گیاهچه گاوزبان اروپایی (*Borago officinalis* L.)

فاطمه محمودی[۱]، پریسا شیخ‌زاده مصدق*[۱]، ناصر زارع[۱] و بهروز اسماعیل‌پور[۲]

[۱] گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، [۲]گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۷/۰٤، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹٦/۰۲/۳۱)

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر پیش‌تیمارهای هورمونی و آبی بر جوانه‌زنی بذر، رشد و خصوصیات بیوشیمیایی گیاهچه گاوزبان اروپایی، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر، دانشگاه محقق اردبیلی اجرا گردید. تیمارها شامل پیش‌تیمار بذر با هورمون‌های جیبرلین (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ پی‌پی‌ام به مدت ۱۲، ۲٤، ٤۸ ساعت) و اسید سالیسیلیک (۲، ۳، ٤ میلی‌مولار به مدت‌های ۲٤، ٤۸ و ٦۰ ساعت)، پیش‌تیمار آبی (۱۲، ۲٤ و ٤۸ ساعت) و شاهد (عدم پیش‌تیمار) بود. نتایج نشان داد که پیش‌تیمار بذور باعث افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی، وزن خشک گیاهچه، شاخص قدرت، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و پرولین گیاهچه‌ها در مقایسه با شاهد گردید. بیشترین سرعت جوانه‌زنی، مربوط به پیش‌تیمار آبی به مدت ٤۸ ساعت و ٤ میلی مولار اسید سالیسیلیک به مدت ٦۰ ساعت بود که به‌طور معنی‌داری بیشتر از شاهد و سایر پیش‌تیمارها بودند. شاخص قدرت و وزن خشک گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش‌تیمار شده با آب به‌مدت ٤۸ ساعت به ترتیب در حدود ٦/۸ و ٦/۵ برابر بیشتر از شاهد به دست آمد. بیشترین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز گیاهچه‌ها از بذور پیش‌تیمار شده با ۱۵۰ پی‌پی‌ام جیبرلین به مدت ٤۸ ساعت حاصل شد که به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود. مقدار پرولین و پروتئین کل به ترتیب در پیش‌تیمار آبی به مدت ٤۸ ساعت و ٤ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به مدت ٦۰ ساعت بیشترین بود. به‌طورکلی، اعمال پیش‌تیمار آبی بذور به مدت ٤۸ ساعت، ۱۵۰ پی‌پی‌ام جیبرلین به مدت ٤۸ ساعت و ٤ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به مدت ٦۰ ساعت جهت حصول بالاترین ویژگی‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پیش‌تیمار بذر، گاوزبان اروپایی، وزن خشک گیاهچه

مقدمه

گاوزبان اروپایی (*Borago officinalis* L.) یکی از گیاهان دارویی مهم است که امروزه در اکثر نقاط دنیا پرورش می‌یابد. دانه‌های این گیاه حاوی مواد موسیلاژی، تانن و ترکیبات فنولی و نیز مقدار کمی آلکالوئید است. به‌طوریکه به‌عنوان یکی از منابع اصلی و غنی اسیدهای چرب گاما لینولئیک اسید به‌شمار می‌رود. از گل و برگ‌های این گیاه به عنوان معرق، آرام‌کننده، ضد سرفه و التهابات ریه، تقویت قلب و اعصاب و تصفیه کننده خون استفاده می‌شود (صالحی سورمقی، ۱۳۹۰).

جوانه‌زنی به عنوان اولین و حساس‌ترین مرحله نموی در

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: sheikhzadehmp@gmail.com

چرخه رشدی هر گیاه و فرایند کلیدی در سبز شدن گیاهچه‌ها به شمار می‌آید که نقش عمده‌ای را در تعیین تراکم نهایی گیاه دارد (بهادری و همکاران، ۱۳۹۳). یکی از مشکلات عمده و مهم در تولید گیاهان دارویی، جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه‌ها می‌باشد. زیرا بذر اغلب گونه‌های دارویی، برخلاف گیاهان زراعی از جوانه‌زنی ناهماهنگ و ضعیفی برخوردار هستند (هاشمی و همکاران، ۱۳۸۹). بنابراین، به‌کار بردن تکنیک‌هایی که بتواند جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه را در این گیاهان بهبود بخشید، از اهمیت زیادی برخوردار است. یکی از روش‌های حصول جوانه‌زنی مطلوب، استفاده از پیش تیمار بذر (Seed Priming) می‌باشد که یک تکنیک اقتصادی، ساده و قابل توصیه به کشاورزان برای بهبود جوانه‌زنی، سبز شدن، استقرار گیاهچه‌ها و عملکرد است (Harris *et al*., 2001).

هر تیمار بذری که در آن مرطوب کردن بذور تا نقطه‌ای که فرایندهای متابولیکی جوانه‌زنی انجام گیرد، بدون اینکه ریشه‌چه از بذر خارج شود را پیش‌تیمار بذر می‌گویند (Sivasubramaniam *et al*., 2011). خیس کردن بذر در آب، محلول نمک غیرآلی، محلول‌های آلی مختلف اسمزی، تیمار بذور در دماهای بالا و پائین، مرطوب کردن با استفاده از ترکیبات بیولوژیکی، تیمار با ماده جامد ماتریکی و استفاده از هورمون‌ها به عنوان روش‌های مهم پیش تیمار بذر شناخته شده‌اند (Ghiyasi *et al*., 2008).

یکی از رایج‌ترین روش‌های پرایمینگ، پیش‌تیمار آبی است که در این روش، بذرها با آب خالص و بدون استفاده از هیچ ماده شیمیایی تیمار می‌شوند که این نوع پیش‌تیمار بسیار ساده و ارزان بوده و مقدار جذب آب از طریق مدت زمانی که بذرها در تماس با آب هستند، کنترل می‌شوند. در روش پیش‌تیمار بذور با هورمون‌های گیاهی، خیساندن بذور با مطلوب‌ترین غلظت هورمون‌های گیاهی و مواد تنظیم‌کننده رشد شامل اکسین، جیبرلین (GA)، کینتین، اسید آبسیزیک (ABA)، پلی‌آمین‌ها، اتیلن، اسید سالیسیلیک و اسید آسکوربیک صورت می‌گیرد (Ashraf and Foolad, 2005). اسیدسالیسیلیک از ترکیبات فنولی است که توسط ریشه تولید می‌شود و در تنظیم فرآیندهای جوانه‌زنی، رشد و نمو، جذب یون‌ها و فتوسنتز نقش داشته و از طریق کاهش فعالیت‌های گونه‌های اکسیژن فعال (Reactive Oxygen Species) سبب افزایش مقاومت گیاهان نسبت به تنش‌های مختلف محیطی می‌گردد (Hayat and Ahmad, 2007). اسیدجیبرلیک یکی دیگر از هورمون‌های مهم رشد گیاهی است که از طریق فعال‌سازی متابولیسم، هضم مواد ذخیره‌ای و انتقال به جنین، تقسیم و رشد سلولی موجب جوانه‌زنی بذور می‌شود (قاسمی پیربلوطی، ۱۳۸٦).

پیش‌تیمار بذر از طریق کاهش مدت زمان لازم برای جذب آب، موجب کاهش زمان جوانه‌زنی و خروج سریع‌تر ریشه‌چه شده که در نهایت بهبود فرایند جوانه‌زنی و ظهور بهتر گیاهچه‌ها را سبب می‌شود (Armin *et al*., 2010). پیش‌تیمار بذر باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در بذور می‌گردد که این آنزیم‌ها فعالیت پراکسیداسیون لیپیدی را در طی جوانه‌زنی کاهش می‌دهند و در نتیجه باعث افزایش درصد جوانه‌زنی می‌شوند (Patade *et al*, 2009). پیش تیمار بذر می‌تواند تغییرات تخریبی همانند کاهش سنتز پروتئین‌ها، اسید نوکلوئیک، خسارت به DNA و تغییر فعالیت آنزیم‌های هیدرولیز کننده را تا حدودی ترمیم و طول عمر بذور را افزایش دهد (McDonald, 2000). مطالعات نشان داده که ترمیم DNA، RNA، پروتئین، غشای سلولی و آنزیم‌ها در نتیجه پیش‌تیمار بذر اتفاق می‌افتد (Afzal *et al*., 2002). بنابراین، پیش‌تیمار بذر از طریق کاهش موانع رشد جنین و افزایش قدرت بذور، باعث یکنواختی جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه‌ها شده که این امر منجر به تولید گیاهچه‌های قویتری می‌گردد (Omidi *et al*., 2005). پیش‌تیمار بذر با اسید سالیسیلیک با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار به‌مدت ۲٤ ساعت موجب افزایش جوانه‌زنی بذور بامیه (*Abelmoschus esculentus*) شده و روی سرعت رشد گیاهچه‌ها نیز تأثیر می‌گذارد (بهادری و همکاران، ۱۳۹۳). طبق گزارش مکی‌زاده و همکاران (۱۳۸۵) در بذور گاوزبان، پیش تیمار بذر با استفاده از محلول پلی اتیلن گلیکول با پتانسیل اسمزی ۸- بار به مدت ۷۲ ساعت تأثیر معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی بذور داشته و کمترین درصد

جوانه‌زنی در بذور شاهد به‌دست آمد. هنگامی که بذر پیش تیمار شده در محیط جوانه‌زنی قرار می‌گیرد سریع‌تر از بذر شاهد جوانه می‌زند (Lemaire *et al.*, 2008). سودمندی پیش‌تیمار بذر بر جوانه‌زنی و رشد سریع و مطلوب گیاهچه‌ها در مورد گندم (Iqbal and Ashraf, 2006)، آفتابگردان (Demirkaya *et al.*, 2006)، پنبه (Casenave and Toselli, 2007)، نیشکر (Patade *et al.*, 2009) و هویج (Eisvand *et al.*, 2011) و گیاهان دارویی خار مقدس (*Cnicus benedictus*)، کاسنی (*Cichorium intybus*) (کافی و همکاران، ۱۳۸۸)، سیاه دانه (*Nigella sativa* L.) (احمدپور دهکردی و بلوچی، ۱۳۹۳) و همیشه بهار (Moosavi, *et al.*, 2009) نشان داده شده است.

از آنجایی که گیاهان دارویی از جمله گاوزبان اروپایی معمولاً از جوانه‌زنی ضعیف و غیریکنواخت‌تری (دوازده امامی و مجنون حسینی، ۱۳۸۷؛ شکاری و همکاران، ۱۳۸۹) نسبت به گیاهان زراعی برخوردار هستند ، بنابراین استفاده از روش‌های بهبوددهنده جوانه‌زنی و یکنواختی رشد گیاهچه‌ها می‌تواند روی بهبود تولیدات این گیاهان تأثیر مثبت داشته باشد. بنابراین، در این پژوهش سعی شده تا تأثیر پیش‌تیمارهای مختلف بذر روی جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های حاصل از بذور گاوزبان اروپایی مورد مطالعه قرار گیرد و بهترین تیمار و مناسب‌ترین غلظت برای جوانه‌زنی و استقرار بهتر گیاهچه‌ها نیز تعیین گردد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق بر پایه‌ی طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹٤ انجام گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل هورمون جیبرلین (غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ پی‌پی‌ام به مدت‌های ۱۲، ۲٤، ٤۸ ساعت) و اسید سالیسیلیک (غلظت‌های ۲، ۳، ٤ میلی مولار به مدت ۲٤، ٤۸ و ٦۰ ساعت)، پیش‌تیمار آبی (به مدت ۱۲، ۲٤ و ٤۸ ساعت) و بذور شاهد (بدون پیش‌تیمار) بود.

در روش پیش‌تیمار آبی، ابتدا بذور گاوزبان اروپایی که از مرکز جهاد کشاورزی اردبیل تهیه شده بود را با آب مقطر شسته و سپس به مدت‌های ۱۲، ۲٤، ٤۸ ساعت در آب مقطر در انکوباتوری با دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای اعمال پیش‌تیمار بذر با هورمون‌های جیبرلین و اسید سالیسیلیک، بعد از تهیه غلظت‌های مختلف از این مواد، بذرها به داخل ارلن‌های حاوی محلول‌های مورد نظر انتقال داده شدند و برای مدت زمان‌های تعیین شده در انکوباتوری با دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. جهت جلوگیری از تغییر غلظت محلول و جلوگیری از آلودگی‌های احتمالی، درب ارلن‌ها با فویل آلومینیومی بسته شدند. پس از اتمام دوره‌های ذکر شده، بذور پیش‌تیمار شده مجدداً با آب مقطر شسته شده و تا رسیدن به رطوبت اولیه در محیط آزمایشگاه در دمای ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد خشک شدند.

آزمون جوانه‌زنی: جهت انجام آزمون جوانه‌زنی، ابتدا سه تکرار ۲۵ بذری به طور تصادفی از هر تیمار جدا گردید و بعد از ضدغفونی با قارچ‌کش بنومیل به پتریدیش‌هایی با قطر دهانه ۱۰ سانتی‌متر که حاوی دو لایه کاغذ صافی بودند، انتقال یافتند. بذور گاوزبان اروپایی به روش روی کاغذ (Top of paper) کشت شدند. سپس نمونه‌ها به ژرمیناتوری با دمای۲۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند (ISTA, 2010). تعداد بذور جوانه‌زده به‌صورت روزانه تا ۱۰روز مورد شمارش قرار گرفته و ظهور ریشه‌چه به اندازه ۲ میلی‌متر به‌عنوان معیاری برای جوانه‌زنی بذرها در نظر گرفته شد. بعد از اتمام مدت جوانه‌زنی، تعداد جوانه‌های نرمال و غیرنرمال و درصد جوانه‌زنی آن‌ها تعیین گردید. برای تعیین سرعت جوانه‌زنی از رابطه زیر استفاده شد (Ellis and Roberts., 1980):

$$\overline{R} = \frac{\sum n}{\sum D.n}$$

در این فرمول R میانگین سرعت جوانه زنی، D تعداد روزهای سپری شده از شروع آزمایش و n تعداد بذور جوانه‌زده در روز مورد نظر می‌باشد.

جهت تعیین وزن خشک گیاهچه، گیاهچه‌های نرمال از هر تیمار و تکرار به صورت جداگانه در پاکت‌های کاغذی ریخته شده و در آونی با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤

ساعت قرار داده شدند تا خشک شوند. شاخص قدرت با استفاده از رابطه‌ی زیر محاسبه گردید (ISTA, 2010):

شاخص وزنی قدرت (درصد)= جوانه‌زنی استاندارد (mg) × میانگین وزن خشک گیاهچه

عصاره‌گیری برای سنجش فعالیت آنزیمی: برای تهیه عصاره آنزیمی از روش Chang و Koa (۱۹۸۸) استفاده شد. در پایان آزمون جوانه‌زنی (۱۰ روز) تغییرات بیوشیمیایی گیاهچه‌ها اندازه‌گیری شد. به منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پروکسیداز حدود ۰/۸ گرم ماده تر گیاهچه‌های ۱۰ روزه از هر نمونه در داخل هاون کاملاً له شده و سپس شش میلی‌لیتر بافر استخراج (Tris-HCL ۰/۰۵ مولار (PH=۷)، $MgCl_2$ سه میلی‌مولار و EDTA یک میلی‌مولار) به آن اضافه شد. محلول به‌مدت ۲۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ گردید. پس از آن محلول روشناور برای اندازه‌گیری آنزیم‌ها به فریزر۷۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز: برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Aebi (۱۹۸٤) استفاده شد که بر پایه تجزیه پراکسید هیدروژن توسط این آنزیم استوار است. مخلوط واکنش شامل سه میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۱۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره بود. پس از اضافه کردن عصاره، کاهش جذب در طول موج ۲٤۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (Aebi, 1984). از محلول بلانک برای صفر کردن دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده گردید. محلول جذب زمینه شامل تمام مواد واکنش به جز عصاره آنزیمی استخراج شده بود. برای سنجش میزان فعالیت این آنزیم در اثر اعمال تیمارهای محرک، از معادله زیر استفاده شد:

$$\text{Unit/ ml enzyme extract} = \frac{(\Delta A240nm)(3)(df)}{(40)(0.05)}$$

در این فرمول، df بیان کننده فاکتور رقیق‌سازی، عدد ۳ نشان دهنده حجم محلول مورد سنجش بر حسب میلی‌لیتر، ۰/۰۵ نشان دهنده حجم عصاره آنزیمی، عدد ٤۰ بیان کننده ضریب خاموشی پراکسیدهیدروژن و ΔA۲٤۰ بیان کننده عدد قرائت شده توسط اسپکتروفتومتری در طول موج ۲٤۰ نانومتر می‌باشد. عدد به‌دست آمده بیان کننده میزان فعالیت آنزیم بر حسب هر واحد از آنزیم می‌باشد.

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز: فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش Chance و Maehly (۱۹۵۵) اندازه‌گیری شد. اندازه گیری فعالیت این آنزیم بر پایه تشکیل تتراگایاکول از گایاکول در حضور پراکسید هیدروژن و آنزیم گایاکول است. مخلوط واکنش شامل سه میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۵۰ میکرولیتر گایاکول ۲۰ میلی‌مولار، ۵۰ میکرولیتر پراکسیدهیدروژن ۱۵ میلی مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره سلولی بود. پس از اضافه کردن عصاره سلولی، کاهش جذب در طول موج ٤۷۰ نانومتر به‌مدت یک دقیقه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی (ε=26.6 $mM^{-1}cm^{-1}$) برای تتراگایاکول برحسب واحد در میلی‌لیتر عصاره آنزیمی محاسبه گردید.

$$\text{Unit/ ml enzyme extract} = \frac{(\Delta A470nm)(3)(df)}{(26.6)(0.05)}$$

که در آن، ΔA470 میزان جذب قرائت شده از هر نمونه توسط اسپکتروفتومتر، ۳ مقدار حجم واکنش، df ضریب رقت که از طریق تقسیم حجم نهایی واکنش مورد استفاده یعنی سه میلی لیتر (۳۰۰۰ میکرولیتر) بر حجم اولیه عصاره آنزیمی مورد استفاده یعنی ۵۰ میکرولیتر محاسبه می‌شود، ۲٦/٦ ضریب خاموشی تتراگایاکول و ۰/۰۵ هم حجم عصاره آنزیمی مورد استفاده برحسب میلی‌لیتر است.

سنجش محتوای پرولین: پرولین با استفاده از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) صورت گرفت. به این ترتیب که نیم گرم از بافت‌تر گیاهی در ۱۰ میلی‌لیتر از سولفوسالسیلیک اسید ۳٪ ساییده شد و بعد محلول صاف گردید. به محلول حاصل شده ۲ میلی‌لیتر اسید نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر استیک‌اسیدگلاسیال افزوده و به‌مدت یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد جوشانده شد. ٤ میلی‌لیتر تولوئن به مخلوط واکنش افزوده و جذب روشناور را در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر قرائت گردید و غلظت پرولین بر حسب میلی‌گرم بر گرم بافت تازه برگ با استفاده از منحنی استاندارد

تعیین شد.

سنجش مقدار پروتئین کل: اندازه‌گیری مقدار پروتئین کل به روش Bradford (۱۹۷۶) انجام شد. جهت استخراج پروتئین کل، یک گرم بافت‌تر در حضور بافر استخراج (تریس اسید کلریدریک pH=۷/۵) له شد. به منظور عصاره‌گیری، مخلوط حاصل به لوله‌های سانتریفیوژ انتقال داده شد و در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ٤ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس غلظت پروتئین کل اندازه‌گیری شد. جهت رسم منحنی استاندارد (غلظت‌های مختلف پروتئین آلبومین سرم گاوی) استفاده گردید.

در پایان کلیه تجزیه و تحلیل‌های آماری داده‌های حاصل از این آزمایش، پس از اطمینان از نرمال بودن آنها، با استفاده از نرم افزار SAS صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵درصد انجام شد. نمودارها نیز توسط نرم‌افزار EXCEL رسم گردید.

نتایج و بحث

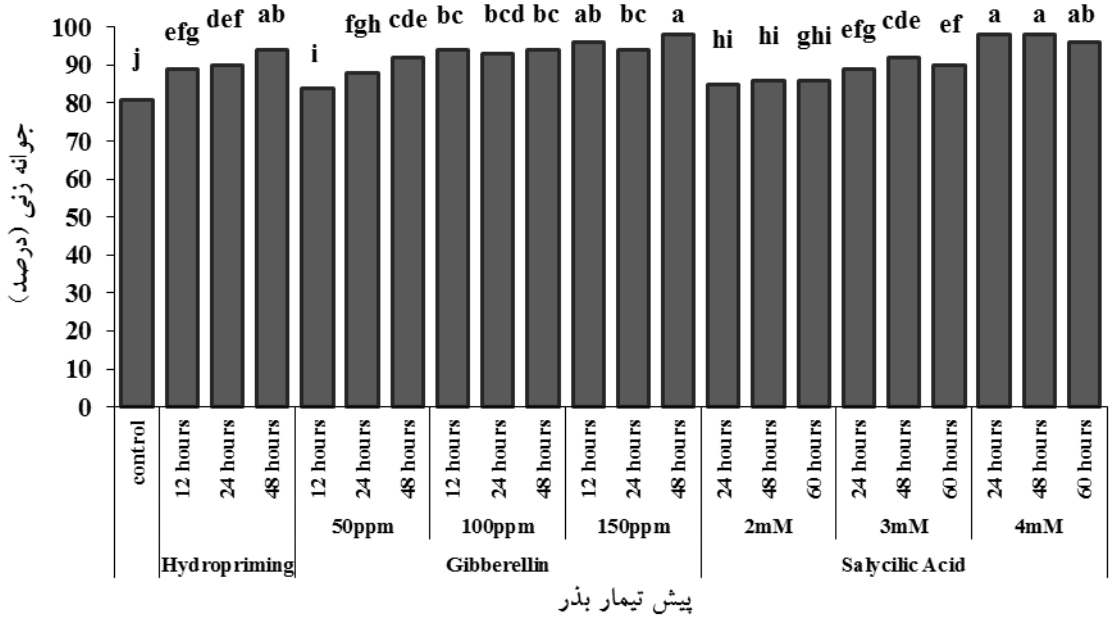
درصد جوانه‌زنی: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که درصد جوانه‌زنی بذور گاوزبان اروپایی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر پیش‌تیمار بذر قرار گرفت (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که میانگین درصد جوانه‌زنی بذور پیش‌تیمار شده به‌طور معنی‌داری بیشتر از بذور شاهد بود (شکل ۱). در بین پیش‌تیمارهای مختلف، بیشترین درصد جوانه‌زنی در بذور پیش‌تیمار شده با غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام جیبرلین به مدت ٤۸ ساعت و غلظت ٤ میلی مولار اسید سالسیلیک به مدت ۲٤ و ٤۸ ساعت به‌دست آمد که با بذور پیش‌تیمار شده با آب مقطر به مدت ٤۸ ساعت، غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام جیبرلین به مدت ۱۲ ساعت و غلظت ٤ میلی‌مولار اسیدسالسیلیک به مدت ٦۰ ساعت اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (شکل ۱). با افزایش مدت زمان پیش‌تیمار بذور گاوزبان اروپایی با آب و غلظت ۵۰ پی‌پی‌ام جیبرلین، درصد جوانه‌زنی افزایش یافت. به‌طوریکه درصد جوانه‌زنی بذور پیش‌تیمار شده به مدت ٤۸ ساعت به طور معنی‌داری بیشتر از ۱۲ و ۲٤ ساعت بود (شکل ۱). در حالیکه در غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام جیبرلین بین مدت‌زمان‌های پیش‌تیمار بذر با این هورمون اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۱). با افزایش غلظت اسیدسالسیلیک، درصد جوانه‌زنی بذور گاوزبان به‌طور معنی داری افزایش یافت، اما بین مدت زمان‌های پیش‌تیمار اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۱).

به‌نظر می‌رسد افزایش درصد جوانه‌زنی در نتیجه اعمال پیش‌تیمار آبی ممکن است ناشی از این واقعیت باشد که پیش‌تیمار بذر موجب القا تغییرات بیوشیمیایی همانند هیدرولیز، فعال کردن آنزیم‌ها، همانندسازی DNA، افزایش سنتز RNA و سنتز پروتئین‌ها می‌گردد که این امر سبب افزایش رشد جنین و کاهش نشت متابولیت‌ها و در نهایت بهبود قدرت بذر و جوانه‌زنی بذور گاوزبان اروپایی می‌گردد (McDonald, 2000). از طرف دیگر، پیش‌تیمار آبی بذر از طریق کاهش مدت لازم برای جذب آب، موجب بهبود جوانه‌زنی، سبز شدن و استقرار سریع و مطلوب گیاهچه‌ها در دامنه وسیعی از شرایط محیطی می‌شود (Rowse *et al.*, 2001). افزایش درصد جوانه‌زنی در نتیجه تیمار بذور گاوزبان اروپایی با استفاده از اسید سالیسیلیک و جیبرلین نسبت به جوانه‌زنی بذور شاهد، می‌تواند ناشی از آزادسازی آنزیم‌های تجزیه‌کننده کربوهیدرات و پروتئین در داخل بذر باشد (Jamil and Rha, 2007). کاربرد اسید سالیسیلیک به صورت پیش‌تیمار بذری در بذور عدس (محمدی و همکاران، ۱۳۸۸) و بذور کلزا (مظاهری تیرانی و منوچهری کلانتری، ۱۳۸۵) موجب افزایش درصدجوانه‌زنی شد. اثر پیش‌تیمار بذر با جیبرلین روی جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های حاصل از بذور چاودار کوهی (*Secale montanum*) نشان داد که تیمار بذر با جیبرلین سبب افزایش درصد جوانه‌زنی می‌شود (Ansari and Sharif-Zadeh, 2012). در بررسی اثر پیش‌تیمار آبی بر جوانه‌زنی بذر زیره سبز (*Cuminam cyminum*) گزارش شد که پیش‌تیمار آبی سبب افزایش درصد جوانه‌زنی این بذور شده است (Neamatollahi *et al.*, 2009) که با نتایجاین آزمایش مطابقت دارد. در ذرت شیرین، پیش تیمار بذر، فعالیت آنزیم‌های β و α آمیلاز را که از آنزیم‌های مؤثر در جوانه زنی بذر هستند را افزایش می‌دهند

جدول ۱- تجزیه واریانس اثرات پیش‌تیمارهای مختلف بر جوانه‌زنی، رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی

منابع تغییر	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	وزن خشک گیاهچه	شاخص قدرت	فعالیت آنزیم کاتالاز	فعالیت آنزیم پراکسیداز	پرولین	پروتئین کل
پیش‌تیمار	۲۱	۶۸/۴۸**	۰/۰۱۶**	$۳_{\times}۱۰^{-۴}$**	۳۵۱۱۷۵۴/۲**	۰/۰۰۲**	۳۸۲/۶۴**	۰/۰۴**	۰/۰۰۱**
خطا	۴۴	۲/۵۴	۰/۰۰۶	$۲_{\times}۱۰^{-۶}$	۲۱۰۹۱/۸	$۱_{\times}۱۰^{-۷}$	۱/۹۸	$۳_{\times}۱۰^{-۴}$	۰/۰۰۰۳
ضریب تغییرات(٪)		۱/۷۴	۵/۵۶	۷/۱۳	۷/۸	۰/۴۳	۱/۷۱	۱/۳۴	۲/۳۴

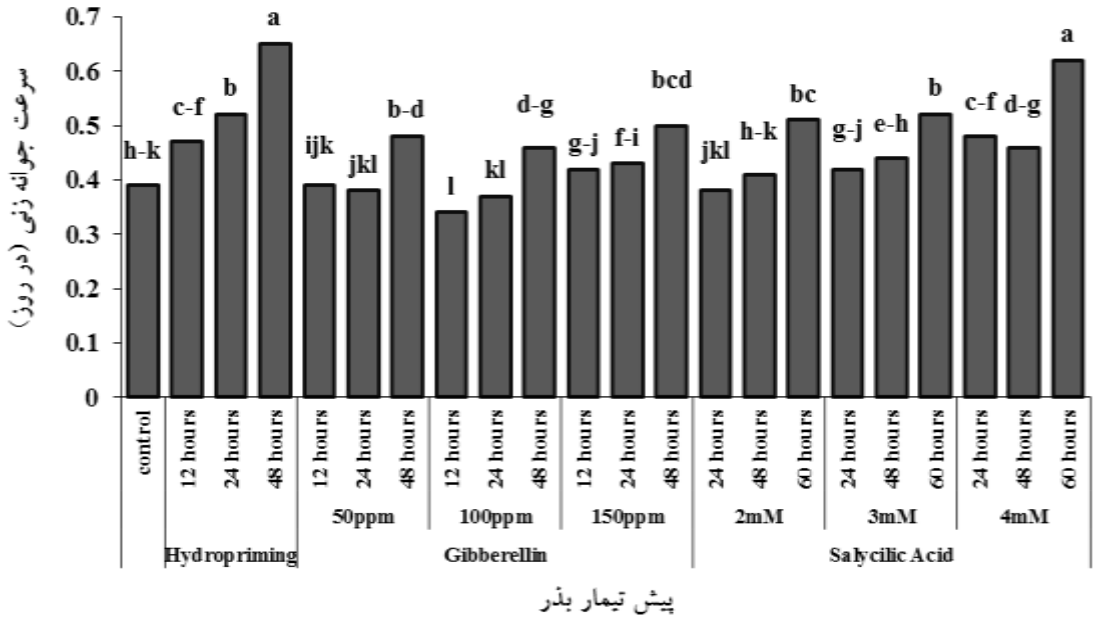
ns، * و **: به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد



شکل۱- تأثیر پیش‌تیمارهای آبی و هورمونی بر درصد جوانه‌زنی بذور گاوزبان اروپایی. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه دارای اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ نمی‌باشند.

که این امر سبب افزایش قدرت بذر می‌گردد (Jamil and Rha, 2007). اعمال پیش‌تیمار آبی در بذرهای نخود، موجب افزایش فعالیت آنزیم آمیلاز، اینورتاز، ساکارز سنتاز و ساکارز فسفات سنتاز در گیاهچه‌های پیش تیمار شده نسبت به گیاهچه‌های حاصل از بذور شاهد گردید (Kaur, *et al.*, 2002).

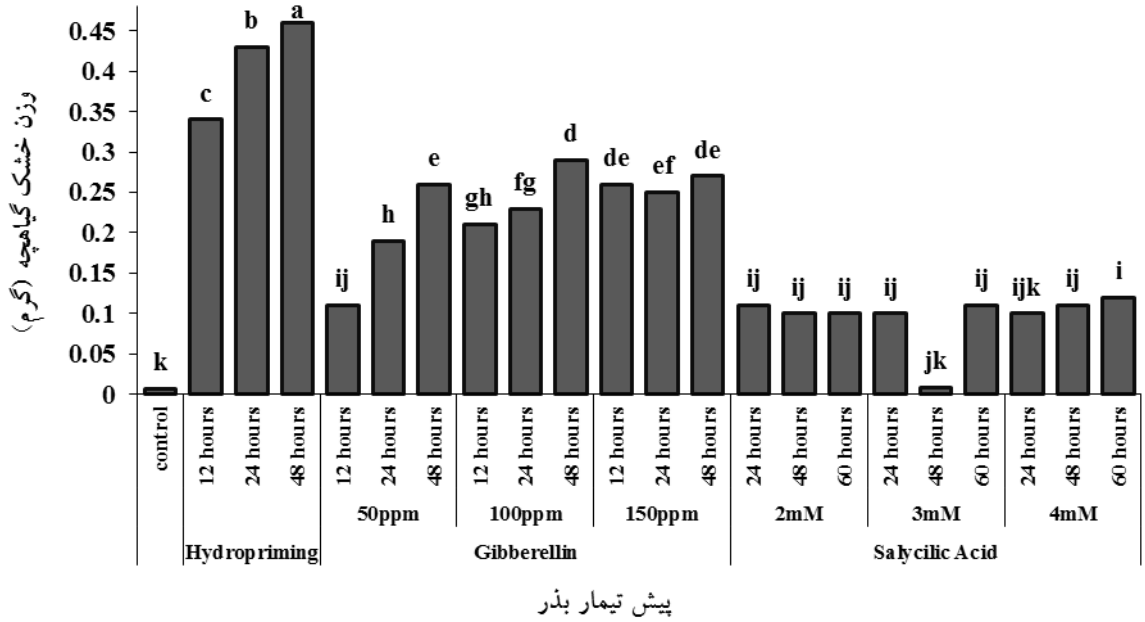
سرعت جوانه‌زنی: نتایج نشان داد که سرعت جوانه‌زنی تحت تأثیر پیش‌تیمار بذر قرار گرفت (جدول ۱). بیشترین میانگین سرعت جوانه‌زنی، مربوط به پیش‌تیمار آبی به مدت ۴۸ ساعت و غلظت ٤ میلی‌مولار اسیدسالیسیلیک به مدت ۶۰ ساعت بود که این تیمارها به‌طور معنی‌داری بیشتر از بذور شاهد و سایر پیش‌تیمارها بودند (شکل ۲). در همه‌ی پیش تیمارها، با افزایش مدت زمان پیش‌تیمار بذور، سرعت جوانه زنی افزایش یافت. به‌طوریکه حداکثر سرعت جوانه‌زنی بذور با غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک مربوط به ۶۰ ساعت و غلظت‌های مختلف جیبرلین و پیش‌تیمار آبی مربوط به ۴۸ ساعت بود که به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر مدت‌های پیش تیمار بود (شکل ۲). افزایش سرعت جوانه‌زنی در بذرهای پیش‌تیمار شده به مدت ۴۸ ساعت و ۶۰ ساعت در مقایسه با بذور شاهد (شکل۲) را می‌توان به دلیل ایجاد تغییرات



شکل۲- تاثیر پیش‌تیمارهای آبی و هورمونی بر سرعت جوانه‌زنی بذور گاوزبان اروپایی. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه دارای اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ نمی‌باشند.

بیوشیمیایی هیدرولیز کننده و افزایش فعالیت‌های آنزیم‌های تجزیه کننده در بذر دانست که سبب بهبود جوانه‌زنی بذر می شود (Omidi *et al*., 2005). پیش‌تیمار آبی، غلظت‌های مختلف هورمون جیبرلین به مدت ٤٨ ساعت و غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک به مدت ٦٠ ساعت، سرعت جوانه‌زنی بذور گاوزبان اروپایی را به ترتیب در حدود ۱/۲ تا ۱/٦، ۱/۲ تا ۱/۳ و ۱/۳ تا ۱/٦ برابر نسبت به بذور شاهد افزایش داد. تسریع جوانه‌زنی در بذرهای پیش‌تیمار شده می‌تواند ناشی از آن باشد که این بذور در مرحله جذب آب، از طریق بهبود ترمیم غشای سیتوپلاسمی و DNA، کاهش نشت متابولیت‌ها و افزایش فعالیت‌های متابولیکی از جمله افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده مثل آلفا- آمیلاز، افزایش ATP، افزایش سنتز RNA وDNA، افزایش تعداد و در عین حال ارتقای عملکرد میتوکندری‌ها (Afzal *et al*. 2002)، موجب کوتاه شدن زمان جوانه‌زنی نسبت به بذور شاهد می‌گردد که این امر سبب می‌شود تا بذور پیش‌تیمار شده از لحاظ مراحل جوانه‌زنی نسبت به بذور شاهد پیشرفته‌تر باشند (Rowse *et al*., 2001). بنابراین افزایش سرعت جوانه‌زنی در اثر اعمال پیش‌تیمار بذر، نمایانگر افزایش قدرت این بذرها است که این امر می‌تواند موجب بهبود سرعت رشد گیاهان و افزایش کیفیت و کمیت عملکرد شود (شیخ‌زاده و همکاران، ۱۳۹۳). افضل و همکاران (۲۰۰۲) تسریع جوانه‌زنی در بذور ذرت پیش‌تیمار شده را ناشی از افزایش فعالیت آنزیم‌های آلفاآمیلاز، افزایش مقدار ATP، افزایش سنتز DNA و RNA می‌دانند. همچنین گزارش شده است که پیش‌تیمار آبی سبب کوتاه شدن مدت زمان جوانه‌زنی در بذرهای آفتابگردان می‌شود (Demirkaya *et al*., 2006). آنها اظهار کردند که بذور پیش تیمار شده به سرعت آب جذب می‌کنند و متابولیسم بذر سریع‌تر فعال می‌شود. در نتیجه پیش تیمار بذر سرعت جوانه‌زنی را افزایش داده و موجب کاهش ناهمگونی فیزیولوژیکی ذاتی در بذر می شود (Maestrini *et al*., 2004). افزایش سرعت جوانه‌زنی بر اثر پیش‌تیمار آبی در بذور گندم (Sivasubramaniam *et al*., 2011)، ذرت (Khodary, 2004)، گیاه دارویی همیشه‌بهار (Moosavi *et al*., 2009) و چاودار کوهی (Ansari and Sharifzadeh, 2012) نیز گزارش شده است که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

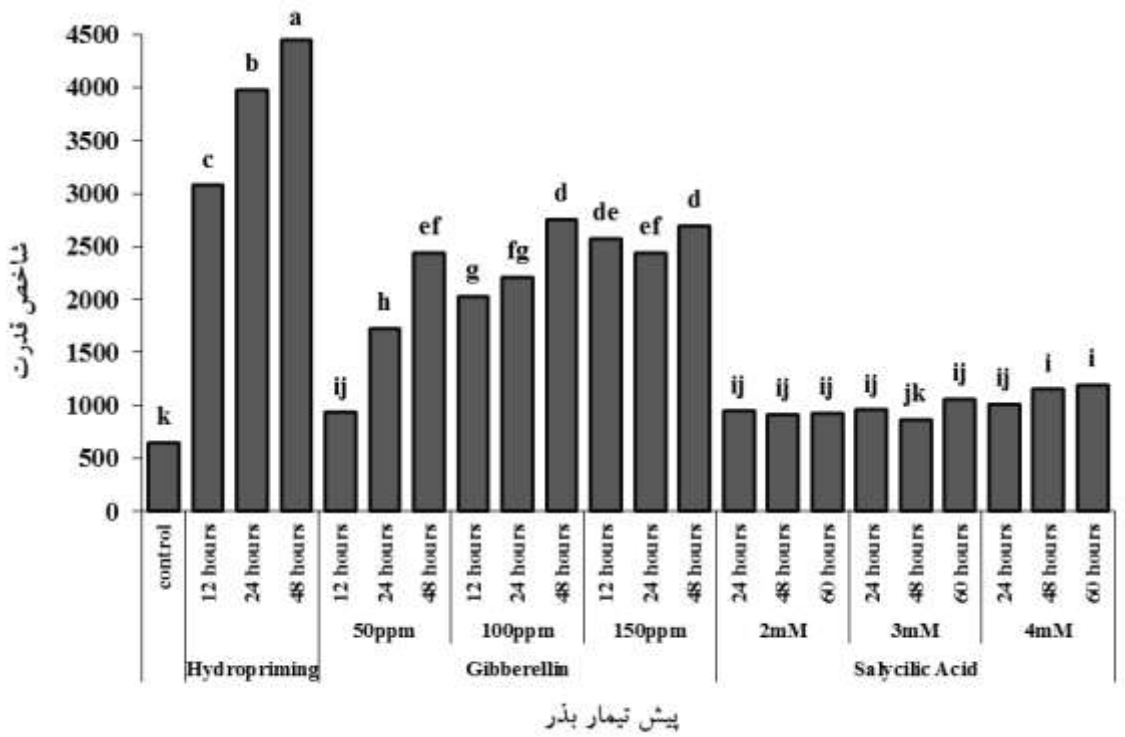
وزن خشک گیاهچه: بر طبق نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) تأثیر پیش‌تیمار بذر بر وزن خشک گیاهچه‌ها



شکل۳- تأثیر پیش‌تیمارهای آبی و هورمونی بر وزن خشک گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه دارای اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ نمی‌باشند.

معنی‌دار به‌دست آمد. مطابق شکل ۳، همه‌ی سطوح پیش-تیمار بذر به جز پیش‌تیمار بذور با غلظت‌های ۳ و ٤ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به ترتیب به مدت ٤٨ و ٢٤ ساعت، موجب افزایش معنی‌دار وزن خشک گیاهچه‌ها گردید. بیشترین وزن خشک گیاهچه‌ها مربوط به بذور پیش‌تیمار شده با آب به مدت ٤٨ ساعت بود که به‌طور معنی‌داری بیشتر از بذور شاهد و سایر پیش‌تیمارها به‌دست آمد (شکل ۳). با افزایش مدت پیش‌تیمار بذور با آب مقطر و غلظت ۵۰ پی‌پی‌ام جیبرلین، وزن خشک گیاهچه‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در این تیمارها، بیشترین وزن خشک گیاهچه‌ها مربوط به مدت زمان ٤٨ ساعت می‌باشد. درحالیکه بین غلظت‌ها و مدت زمان پیش تیمار کردن بذور گاوزبان اروپایی با اسید سالسیلیک اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۳). پیش‌تیمار آبی موجب افزایش حدود ٤٨ تا ٦٥ برابر وزن خشک گیاهچه‌ها نسبت به بذور شاهد گردید. برتری بذور پیش‌تیمار شده از نظر تولید گیاهچه‌های بزرگ‌تر را می‌توان به سرعت جوانه‌زنی بالاتر نسبت داد. با توجه به این که بذرهای پیش‌تیمار شده درصد جوانه‌زنی بالاتری نسبت به بذرهای شاهد داشتند، این امر موجب شد تا در یک زمان معین، ماده خشک بیشتری نسبت به بذور شاهد تولید کنند. این نتایج با یافته‌های رشید و همکاران (۲۰۰٦) روی بذور جو، شیخ‌زاده و همکاران (۱۳۹۳) روی بذور کلزا، بهادری و همکاران (۱۳۹۳) روی بذور بامیه، قاسمی گلعذانی و همکاران (۲۰۱۰) روی بذور عدس و جباری و همکاران (۱۳۹۰) روی بذور زیره سبز مطابقت دارد. Sivritepe و همکاران (۲۰۰۳) افزایش وزن خشک گیاهچه های حاصل از بذرهای هیدروپرایمنگ شده را ناشی از افزایش سنتز آنزیم‌های هیدرولیتیک و به دنبال آن افزایش میزان پویایی ذخایر بذر می‌دانند.

شاخص قدرت: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که شاخص قدرت گیاهچه به طور معنی داری تحت تأثیر پیش‌تیمار بذر قرار گرفت. میانگین شاخص قدرت گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش‌تیمار شده بیشتر از بذور شاهد به‌دست آمد. اما پیش‌تیمار بذر با غلظت ۳ میلی مولار اسید سالسیلیک به مدت ٤٨ ساعت و بذور شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. بیشترین شاخص قدرت گیاهچه‌ها مربوط به پیش‌تیمار آبی به مدت ٤٨ ساعت بود که

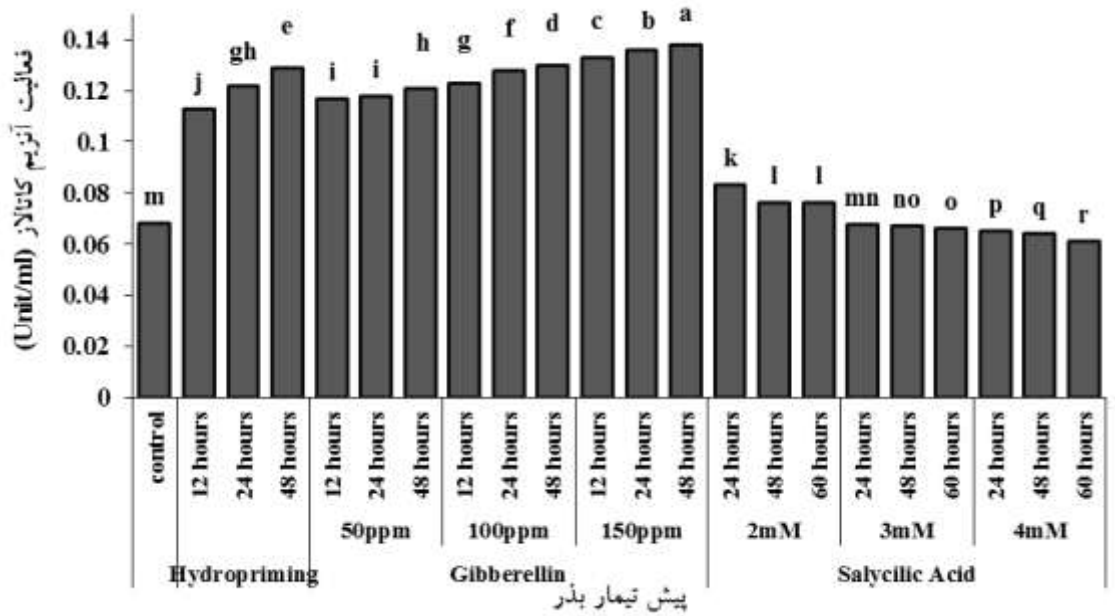


شکل٤- تاثیر پیش‌تیمارهای آبی و هورمونی بر شاخص وزنی گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه دارای اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ نمی‌باشند.

به‌طور معنی‌داری بیشتر از بذور شاهد و سایر پیش‌تیمارها به‌دست آمد. بین مدت زمان‌های تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در حالیکه با افزایش مدت پیش‌تیمار بذر با آب و غلظت‌های مختلف جیبرلین، شاخص قدرت گیاهچه افزایش یافت. به‌طوریکه بیشترین شاخص قدرت گیاهچه در این تیمارها مربوط به مدت زمان ٤٨ ساعت بود که به‌طور معنی داری بیشتر از سایر مدت زمان‌های پیش‌تیمار بذرها می‌باشد (شکل ٤).

اعمال پیش‌تیمار بر بذور گاوزبان اروپایی با آب و غلظت های مختلف جیرلین، موجب افزایش ١/٤ تا ٦/٩ برابری شاخص قدرت این گیاهچه نسبت به بذور شاهد شد. پیش تیمار بذر مکانیسم‌های ترمیمی و متابولیکی فرآیندهای متابولیکی مؤثر بر مراحل اولیه جوانه‌زنی را بهبود بخشیده که این امر موجب بهبود قدرت جوانه‌زنی و تولید گیاهچه‌هایی با قدرت رشد بالا می‌شود (Casenave and Toselli, 2007) که از این طریق موجب افزایش شاخص قدرت گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی می‌گردد. بنابراین شاخص قدرت گیاهچه یکی از ویژگی‌های تعیین کننده کیفیت بذر می‌باشد. زیرا بذرهایی که دارای شاخص قدرت بالاتری هستند، علاوه بر داشتن درصد و سرعت جوانه‌زنی بالا، گیاهچه‌های قوی و بزرگتری نیز تولید می‌کنند (ربیعی و بیات، ۱۳۸۸). در آزمایش روی ذرت نشان داده شده که کاربرد اسیدسالیسیلیک به صورت پیش‌تیمار بذور و محلول‌پاشی موجب افزایش قدرت بذر و گیاهچه‌ها شد (El-Khallal *et al*., 2009).

فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز: طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱)، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز به طور معنی‌داری تحت تأثیر پیش‌تیمار بذر قرار گرفت. فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش تیمار شده با آب، غلظت‌های مختلف جیبرلین و غلظت ۲ میلی مولار اسید سالیسیلیک به‌طور معنی‌داری بیشتر از بذور شاهد بود (شکل ۵). بیشترین فعالیت این آنزیم در گیاهچه‌های



شکل۵- تاثیر پیش‌تیمارهای آبی و هورمونی بر فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه دارای اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ نمی‌باشند.

حاصل از بذور پیش‌تیمار شده با غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام جیبرلین به مدت ٤۸ ساعت به‌دست آمد که به‌طور معنی‌داری بیشتر از گیاهچه‌های حاصل از بذور شاهد و سایر پیش‌تیمارها بود (شکل ۵). افزایش غلظت جیبرلین و افزایش مدت زمان پیش تیمار آبی و هورمون جیبرلین، موجب افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه‌های حاصل شده به‌طورمعنی‌داری گردید. از نظر مدت زمان پیش‌تیمار آبی و هورمون جیبرلین بیشترین فعالیت این آنزیم در گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش‌تیمار شده به مدت ٤۸ ساعت به‌دست آمد.

نشان داده شده که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان ناشی از کاربرد جیبرلین می‌تواند ناشی از افزایش القای رونویسی ژن و سنتز پروتئین آنزیم و یا به واسطه تغییرات پس از ترجمه‌ی پروتئین آنزیم‌های موجود باشد (Vitoria *et al.*, 2007). همچنین گزارش شده است که جیبرلین با تأثیر مثبت بر جذب مواد معدنی در تأمین کوفاکتورهای ضروری در آنزیم-های آنتی‌اکسیدان نقش اساسی ایفا نموده و از این طریق در افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان نقش داشته است (Panou-Philtheou *et al.*, 2002). تحقیق محمدی و همکاران (۱۳۸۸) نشانگر آن است که پیش‌تیمار بذر با هورمون جیبرلین باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهچه‌های عدس می شود. همچنین پیش‌تیمار آبی در بذور نخود (فاتح و همکاران، ۱۳۸۹)، در ارزن مرواریدی (*Pennisetum glaucum*) (یونسی و همکاران، ۱۳۸۹) و پنبه (Varier *et al.*, 2010) موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شده است.

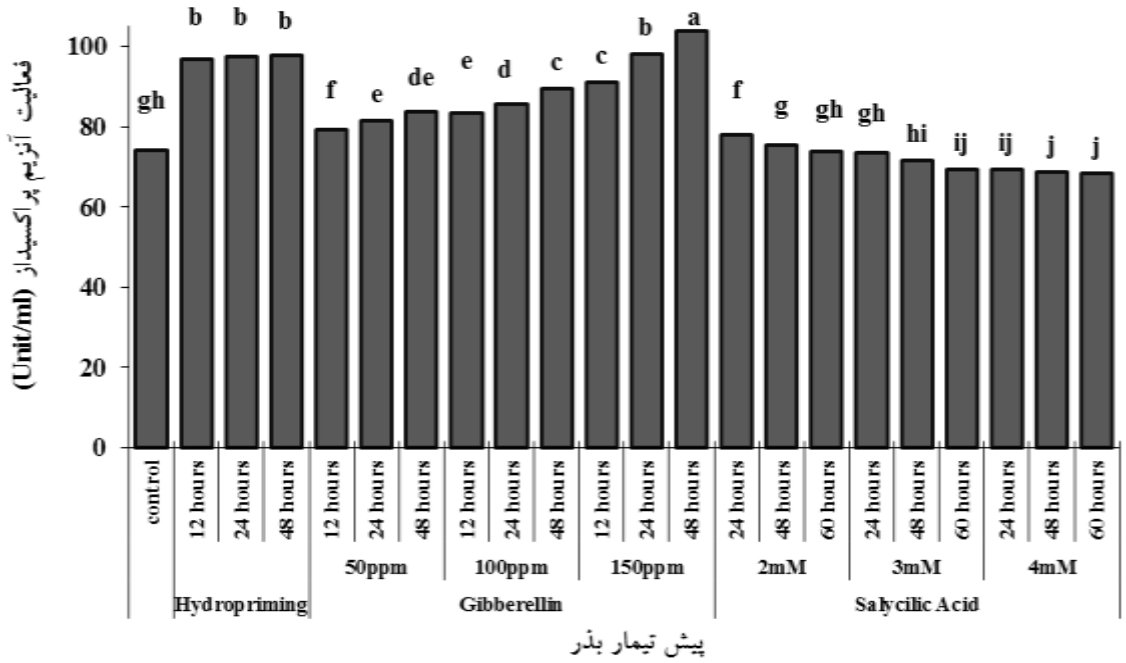
فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهچه‌های حاصل از بذور پیشتیمار شده با ٤ میلی مولار اسید سالیسیلیک به طور معنی داری کمتر از سایر بذور پیش‌تیمار شده و بذور شاهد حاصل شد (شکل ۵). پایین بودن فعالیت این آنزیم می‌تواند به این دلیل باشد که اسیدسالیسیلیک به دلیل داشتن اکسیژن گروه هیدروکسیل آزاد روی حلقه بنزوئیک قادر به کلاته کردن آهن موجود در کاتالاز می‌باشد (Shi, and Zhu, 2008). بنابراین، اسیدسالیسیلیک سبب بازدارندگی فعالیت آنزیم کاتالاز (که یک آنزیم پاکسازی‌کننده پراکسیدهیدروژن است) می‌گردد و در نتیجه، با کاهش فعالیت این آنزیم موجب افزایش پراکسیدهیدروژن در گیاه می‌شود. این نتایج با یافته‌های دولت آبادیان و همکاران (۱۳۸٦) در گندم و فرهودی و همکاران (۲۰۱۱) در خربزه (*Cucumis melo*) مطابقت دارد.

فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش

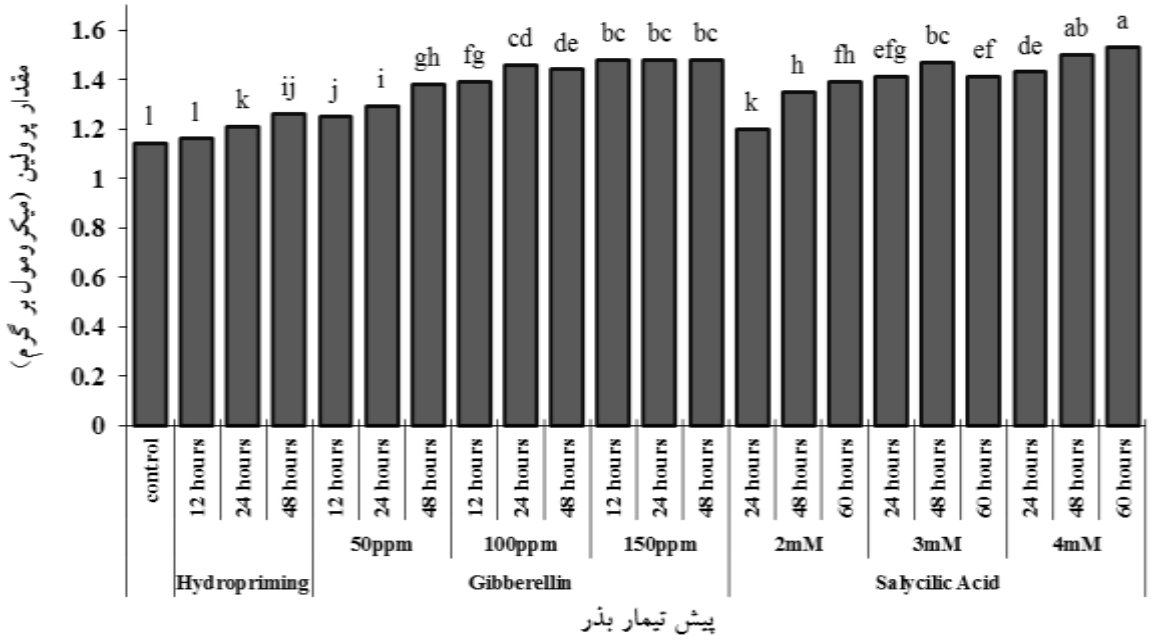
تیمار شده با آب، غلظت‌های مختلف جیبرلین و غلظت ۲ میلی‌مولار اسید سالسیلیک به مدت ۲٤ ساعت به‌طور معنی داری بیشتر از بذور شاهد بود (شکل٦). بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش‌تیمار شده با غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام جیبرلین به مدت ٤۸ ساعت به‌دست آمد که به‌طور معنی‌داری بیشتر از بذور شاهد و سایر پیش‌تیمارها بود (شکل٦). در هر سه غلظت جیبرلین به کار برده شده، با افزایش مدت پیش‌تیمار بذر، فعالیت این آنزیم در گیاهچه‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. به‌طوریکه بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در این پیش‌تیمارها مربوط به مدت ٤۸ ساعت بود. تیمار بذور گاوزبان اروپایی با هورمون جیبرلین موجب افزایش حدود ۱ تا ۱/٤ برابر فعالیت آنزیم پراکسیداز شد، که با نتایج محمدی و همکاران (۱۳۸۸) در عدس و انصاری و همکاران (۲۰۱۲) در چاودار کوهی مطابقت دارد. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در نتیجه کاربرد جبیرلین می‌تواند ناشی از افزایش القای رونویسی ژن و سنتز پروتئین آنزیم و یا به واسطه تغییرات پس از ترجمه‌ای پروتئین‌های آنزیم‌های موجود باشد (Vitoria *et al.*, 2007). اگرچه فعالیت آنزیم پراکسیداز در بذور پیش‌تیمار شده با آب مقطر به طور معنی داری بیشتر از بذور شاهد به‌دست آمد. اما بین مدت‌های پیش تیمار آبی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ٦). Varierو همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که پیش‌تیمار آبی باعث افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در پنبه شده است.

به‌تدریج با افزایش غلظت اسیدسالیسیلیک فعالیت آنزیم پراکسیداز کاهش یافت. کمترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در بذور پیش‌تیمار شده با غلظت ٤ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری از نظر آماری با بذور پیش تیمار شده با غلظت ۳ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به مدت ٦۰ ساعت نداشت (شکل ٦). کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز در نخودفرنگی تحت تیمار با اسیدسالیسیلیک توسط Srivasta (۲۰۰۱) گزارش شده است که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان موجود در گیاهان از قبیل پراکسیداز و کاتالاز گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) را تجزیه می‌کنند (Mittler, 2002)، در نتیجه از آسیب‌های وارده توسط ROSها جلوگیری می‌گردد که این امر موجب بهبود درصد جوانه‌زنی (شکل ۱)، سرعت جوانه‌زنی (شکل۲) و وزن خشک گیاهچه (شکل ۳) می‌شود.

مقدار پرولین: طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱)، مقدار پرولین به طور معنی‌داری تحت تأثیر پیش تیمار بذر قرار گرفت. همانطور که در شکل ۷ مشاهده می‌شود، مقدار اسیدآمینه پرولین گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش‌تیمار شده با اسید سالیسیلیک، هورمون جیبرلین و پیش‌تیمار آبی به مدت ۲٤ و ٤۸ ساعت به‌طور معنی‌داری بیشتر از گیاهچه‌های حاصل از بذور شاهد بود. کمترین مقدار پرولین در گیاهچه‌های حاصل از بذور شاهد مشاهده شد که در این صفت، با گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش‌تیمار شده با آب به مدت ۱۲ ساعت از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نداشتند. بیشترین مقدار اسیدآمینه پرولین در گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش‌تیمار شده با غلظت ٤ میلی مولار اسید سالیسیلیک به مدت ٦۰ ساعت به‌دست آمد که به‌طور معنی‌داری بیشتر از بذور شاهد و سایر پیش‌تیمارها بود اما اختلاف معنی‌داری با گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش‌تیمار شده با غلظت ٤ میلی مولار اسید سالیسیلیک به مدت ٤۸ ساعت نداشت (شکل ۷). پیش‌تیمار بذور گاوزبان اروپایی با استفاده از آب، هورمون‌هایجیبرلین و اسید سالیسیلیک موجب افزایش محتوای پرولین به نسبت به شاهد گردید که با یافته‌های رحیمی و همکاران (۱۳۹۱) در بذور گلرنگ مطابقت دارد. در نتیجه اعمال پیش‌تیمار بذر، تجمع پرولین به عنوان یک ماده محافظت کننده غیرسمی، برای تنظیم اسمزی صورت می‌گیرد و به‌طور قابل ملاحظه‌ای موجب خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل، ثبات غشاء و فرآیندهای سلولی در شرایط بدون تنش و تنش‌زا می‌شود (Abraham *et al.*, 2003). افزایش تجمع پرولین در گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش‌تیمار شده به دلیل کاهش تنش اکسیداتیو حتی در شرایط بدون تنش سبب رشد بهتر این گیاهچه‌ها (شکل ۳) و شاخص قدرت (شکل ٤) نسبت گیاهچه‌های شاهد شده است. تغییرات فیزیولوژیک



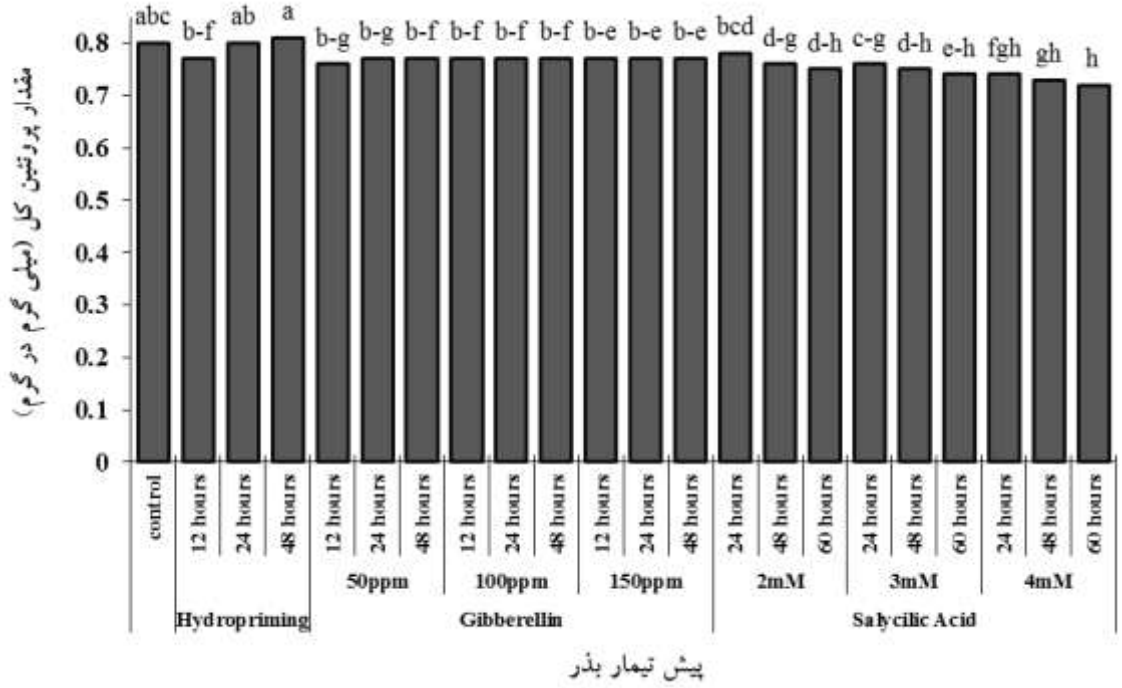
شکل٦- تأثیر پیش‌تیمارهای آبی و هورمونی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه دارای اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ نمی‌باشند.



شکل۷- تاثیر پیش‌تیمارهای آبی و هورمونی بر مقدار پرولین گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه دارای اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ نمی‌باشند.

و بیوشیمیایی ایجاد شده در طی پیش تیمار بذر منجر به تجمع بیشتر پرولین در مرحله رشد گیاهچه می‌شوند (اشرفی و رزمجو، ۱۳۸۸).

مقدار پروتئین کل: مقدار پروتئین کل به طور معنی‌داری تحت تاثیر پیش‌تیمار بذر قرار گرفت (جدول ۱). با افزایش مدت زمان پیش‌تیمار آبی، غلظت پروتئین کل گیاهچه‌ها



شکل۸- تأثیر پیش‌تیمارهای آبی و هورمونی بر مقدار پروتئین گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه دارای اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ نمی‌باشند.

افزایش یافت. در بین پیش‌تیمارهای مختلف، بیشترین مقدار پروتئین کل در گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش‌تیمار شده با آب به مدت ٤٨ ساعت به‌دست آمد که اختلاف معنی-داری با گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش‌تیمار شده با آب به مدت ٢٤ ساعت و گیاهچه‌های حاصل از بذور شاهد نداشت (شکل ۸). همچنین گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش‌تیمار شده با آب به مدت ٢٤ ساعت با گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش-تیمار شده با غلظت‌های مختلف هورمون جیبرلین از نظر میزان پروتئین کل اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. اعمال پیش تیمار در بذور جو (El-Tayeb, 2005) و گندم (El-Shintinawy and El-Shourbagy, 2001) موجب افزایش مقدار پروتئین کل گیاهچه‌ها گردیده است. کاور و همکاران (۲۰۰۲) نیز نشان دادند که بذرهای نخود پیش تیمار شده با آب نسبت به بذور شاهد از پروتئین بیشتری برخوردار می‌باشند.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این پژوهش به‌خوبی نشان داد با توجه به جوانه‌زنی ضعیف و غیر یکنواخت گاوزبان اروپایی، پیش‌تیمار بذور موجب بهبود جوانه‌زنی بذرها، رشد گیاهچه‌ها، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پرولین گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی گردید. در بین پیش‌تیمارهای مورد استفاده روی بذور این گیاه، پیش‌تیمار آبی بذر به مدت ٤٨ ساعت، پیش‌تیمار بذر با غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام جیبرلین به مدت ٤٨ ساعت و ٤ میلی مولار اسید سالسیلیک به مدت ٦٠ بیشترین اثر مثبت را بر جوانه‌زنی، کیفیت و قدرت بذور و گیاهچه‌ها را نشان داد. اما چون پیش‌تیمار آبی روشی ساده و مقرون به‌صرفه‌ای بوده و در عین سادگی و عدم نیاز به دانش فنی پیچیده، به آسانی می‌تواند توسط کشاورزان اجرا گردد. بنابراین این روش جهت بهبود جوانه‌زنی، رشد گیاهچه و افزایش کیفیت و قدرت بذور گاوزبان اروپایی توصیه می‌شود.

منابع

احمدپور دهکردی، س. و بلوچی، ح. (۱۳۹۳) اثر پرایمینگ بذر بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی و پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلول تحت تنش شوری و خشکی (*Nigella sativa* L.) گیاهچه سیاهدانه. مجله الکترونیک تولید گیاهان زراعی ۵: ۸۵-۶۳.

اشرفی، ا. و رزمجو، خ. (۱۳۸۸) بررسی اثر هیدورپرایمینگ بر خصوصیات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گلرنگ تحت تنش خشکی. فصلنامه علمی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی ۱: ۳۴-۴۳.

بهادری، س.، اسماعیل‌پور، ب.، حیدری، م.، خرم دل، س. و شیخ‌زاده مصدق، پ. (۱۳۹۳) تأثیر زمان و غلظت‌های مختلف پیش‌تیمار بذر با سالیسیلیک اسید در پیش‌تیمار بذر بر شاخص‌های جوانه‌زنی بامیه رقم بسنطی (*Abelmoschus esculentus*). مجموعه مقالات سومین کنگره ملی کشاورزی ارگانیک و مرسوم، اردبیل، ایران.

جباری، ر.، امینی دهقی، م.، گنجی ارجنکی، ف. و آگاهی، ک. (۱۳۹۰) تأثیر مدت و روش‌های پرایمینگ بر جوانه‌زنی زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.). دانش زراعت ٤: ۳۰-۲۳.

دولت آبادیان، آ.، مدرس ثانوی، ع. و اعتمادی، ف. (۱۳۸٦) اثر پیش تیمار اسید سالیسیلیک بر جوانه‌زنی بذر گندم (*Triticum aestivum* L.) درشرایط تنش شوری. مجله زیست شناسی ۲۱: ۷۰۲-٦۹۳.

ربیعی، ب. و بیات، م. (۱۳۸۸) بررسی شاخص‌های جوانه زنی بذر و رشد گیاهچه ارقام کلزا (*Brassica napus* L.) با استفاده از آزمون‌های بنیه بذر. مجله علوم گیاهان زراعی ایران ٤۰: ۱۰٤-۹۳.

رحیمی، ا.، زیبایی، س. و دشتی، ح. (۱۳۹۱) تأثیر پرایمینگ بذر بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک رقم گلدشت گلرنگ در شرایط تنش شوری. مجله تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی۳: ۱٤-۱.

شکاری، ف.، بالجانی، ر.، صبا، ج.، افصحی، ک. و شکاری، ف.، ۱۳۸۹، تأثیر پرایمینگ با سالسیلیک اسید روی خصوصیات گیاهچه گاوزبان (*Borago officinalis*)، مجله دانش نوین کشاورزی ٤: ۵۳-٤۷.

شیخ‌زاده مصدق، پ.، نبوی، ت. و آزرمی، ب. (۱۳۹۳) تأثیر تنش شوری ناشی از کلرید سدیم بر مولفه‌های جوانه زنی و رشد گیاهچه های ارقام بهاره کلزا. مجموعه مقالات سومین کنگره ملی کشاورزی ارگانیک و مرسوم، اردبیل، ایران.

صالحی سورمقی، م. ح. (۱۳۹۳) گیاهان دارویی و گیاه درمانی. جلد سوم، انتشارات دنیای تغذیه، تهران.

فاتح، ح.، سی و سه مرده، ع. و کریمپور، م. (۱۳۸۹) اثرات پرایمینگ بذر و تاریخ کاشت بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و عملکرد نخود در شرایط دیم. فناوری تولیدات گیاهی۱۰: ۱٦-۱.

قاسمی پیربلوطی، ع.، گلپرور، ا.، ریاحی دهکردی، م، و نوید، ع. (۱۳۸٦) بررسی اثر تیمارهای مختلف در شکستن خواب و تحریک جوانه‌زنی بذر پنج گونه گیاه دارویی منطقه چهار محال و بختیاری. پژوهش و سازندگی ۷٤: ۱۹۲-۱۸۵.

کافی، م.، برزوئی، ا.، صالحی، م.، کمندی، ع.، معصومی، ع. و نباتی، ج. (۱۳۸۸) فیزیولوژی تنش‌های محیطی در گیاهان، انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.

محمدی، م.، فهیمی، ح. و مجر، ا. (۱۳۸۸) بررسی مقایسه‌ای اثر سالسیلیک اسید و جیبرلین بر سرعت جوانه‌زنی بذر عدس مجله زیست شناسی دانشگاه آزاد گرمسار ٤: ٤٤-۳۳.

مظاهری تیرانی، م. و منوچهری کلانتری، خ. (۱۳۸۵) بررسی سه فاکتور سالیسیلیک اسید، تنش خشکی و اتیلن و اثر متقابل آنها بر جوانه زنی بذر کلزا (*Brassica napus* L.). مجله زیست شناسی ایران ۱۸: ٤۱۸-٤۰۸.

مکی‌زاده تفتی، م.، توکل افشاری، ر.، مجنون حسینی، ن.، نقدی بادی، ح. و مهدی‌زاده، ع. (۱۳۸۵) تأثیر آماده‌سازی اسمزی بر جوانه‌زنی بذر گاوزبان (*Borago officinalis* L.) در راستای بهینه‌سازی تولید. فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۲۲: ۲۲۲-۲۱۶.

هاشمی، ش.، اسرار، ز. و پورسیدی، ش. (۱۳۸۹) اثرات پیش‌تیمار بذر توسط سالیسیلیک اسید بر رشد و برخی از شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در شاهی. مجله زیست شناسی گیاهی ایران شماره ۲: ۱۰-۱.

یونسی، ا.، بهاری، ع. ع.، آزادی، م. ص. و انصاری، ا. (۱۳۹۲) اثر هیدروپرایمینگ و پیری تسریع شده بر روی شاخص‌های جوانه‌زنی و آنزیم کاتالاز در بذر ارزن مرواریدی (*Miliaceum Panucum*). نشریه تحقیقات بذر ٤: ۷۰-٦۱.

Abraham, E., Rigo, G., Szekely G., Nagy, R., Koncz, C. and Szabados, L. (2003) Light-dependent induction of proline biosynthesis by abscisic acid and salt stress is inhibited by brassinosteroid in Arabidopsis. Plant Molecular Biology Journal 51: 363 372.

Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. Methods in Enzymology 105: 121–126.

Afzal, I. Barsa, S. M. A., Ahmad, R. and Igbal, A. (2002) Effect of different seed vigor enhancement techniques on hybrid maize (*Zea mays* L.). Pakistan Journal of Agricultural Science 39: 109-112.

Ansari, O. and Sharifzadeh, F. (2012) Osmo and hydro priming improvement germination characteristics and enzyme activity of Mountain Rye (*Secale montanum*) seeds under drought stress. Journal of Stress Physiology and Biochemistry 8: 253-261.

Ansari, O., Choghazardi, H. R. Sharif Zadeh, F. and Nazarli, H. (2012) Seed reserve utilization and seedling growth of treated seeds of mountain rye (*Secale montanum*) as affected by drought stress. Cercetari Agronomice in Moldova 2: 43-48.

Armin, M., Asgharipour, M. and Razavi-Omrani, M.(2010) The effect of seed priming on germination and seedling growth of watermelon (*Citrullus Lanatus*). Advances in Environmental Biology 4: 501-505.

Ashraf, M. and Foolad, M. R. (2005) Pre-sowing seed treatment: A shotgun approach to improve germination plant growth, and crop yield under saline and non-saline conditions. Advances in Agronomy 88: 223-271.

Basra, S. M. A. Zia, M. N., Mahmood, T., Afzal, I. and Khaliq, A. (2003) Comparison of different invigoration techniques in wheat (*Triticum aestivum* L.) seeds. Pakistan Journal of Arid Agriculture 5: 6-11.

Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil 39: 205–207.

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

Casenave, E. C. and Toselli, M. E. (2007) Hydropriming as a pre-treatment for cotton germination under thermal and water stress conditions. Seed Science and Technology 35: 88-98

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

Chang, C. J. and Koa, C. H. (1988) H_2O_2 metabolism during sense scence of rice leaves changes in enzyme activities in light and darkness. Plant Growth Regulation 25: 11–15.

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

Eisvand, H. R., Shahrosvand, S., Zahedi, B. Heidari, S. and Afroughe, S. (2011) Effects of hydro-priming and hormonal priming by gibberellin and salicylic acid on seed and seedling quality of carrot (*Daucus carota* var. sativus). Iranian Journal Plant Physiology 1: 233_239

El-Khallal, S. M. Hathout, T. Ashour, A. A. and Kerrit, A. A. (2009) Brassinolide and salicylic acid induced growth, biochemical activities and productivity of maize plants grown under salt stress. Research Journal of Agriculture and Biological Science 5: 380-390.

Ellis, R. H and Roberts, E. H. (1980) The quantification of aging and survival in orthodox seeds. Seed Science and Technology 9: 373-409.

El-Shintinawy, F. and El-Shourbagy, M. N. (2001) Alleviation of changes in protein metabolism in NaCl-stressed wheat seedlings by thiamine. Biologia Plantarum 44: 541-545

El-Tayeb, M. A. (2005) Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. Plant Growth Regul 45: 215–224.

Farhoudi, R., Saeedipour, S. and Mohammadreza, D. (2011) The effect of NaCl seed priming on salt tolerance, antioxidant enzyme activity, proline and carbohydrate accumulation of muskmelon (*Cucumis melo* L.) under saline condition. African Journal of Agricultural Research 6: 1363-1370.

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 Agrofarebotanici Cluj-Napoca 38: 109-113.

Ghiyasi, M., Pouryousef- Myandoab, M. and Tajbakhsh, M. (2008). Influence of osmopriming treatment on emerngency and yield of maize (*Zea mays* L.). Research Journal Biological sciences 3: 1452-1455.

Harris, D., Pathan, A. K., Gothkar, P., Joshi, A., Chivasa, W. and Nyamudeza, P. (2001) On-farm seed priming: Using participatory methods to revive and refine a key technology. Agricultural Systems 69: 151-164.

Hayat, S., Ali, B. and Ahmad, A. (2007) Salicylic acid: Biosynthesis, metabolism and physiological role in plants. In: Salicylic Acid: A Plant Hormone (eds. Hayat, S. and Ahmad, A.) Pp 1- 14. Springer, Dordrecht, The Netherlands.

International Seed Testing Association (ISTA) (2010). International rules for seed testing, Seed vigour testing. Chapter 15: 1-20.

Iqbal, M. and Ashraf, M. (2006) Wheat seed priming in relation to salt tolerance, growth, yield and level of free salicylic acid and polyamines. Annales Botanici Fennici 43: 250-259.

Jamil, M. and Rha, E. S. (2007) Gibberllic acid (GA3) enhance seed water uptake, germination and early seedling growth in sugar beet under salt stress. Pakistan Journal of Biological Sciences 10: 654-658.

Kaur, S., Gupta, A. K. and Kaur, N. (2002) Effect of osmo and hydropriming of chickpea seeds on seedling growth and carbohydrate metabolism under water deficit stress. Plant Growth Regulation 37: 17-22.

Khan, N. A., Ahmad, I., Singh, S. and Nazar, R. (2006) Variation in growth, photosynthesis and yield of five wheat cultivars exposed to cadmium stress. World Journal of Agricultural Sciences 2: 223-226.

Khodary, S. E. A. (2004). Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt-stressed maize plants. International Journal of Agriculture and Biology 6: 5-8.

Lemaire, S., Maupas, F., Cournede, P. H. and Reffye, P. A. (2008) A morphogenetic crop model for sugar-beet (*Beta vulgaris* L.). In: International Symposium on Crop Modeling and Decision, Nanjing, China.

Maestrini, C. F. Fontana, M. Donatelli, G. Bellocchini and S. Poggiolini (2004) A frame to model specific leaf area in sugar beet. In: The 8th ESA Congress, pp. 301-302.

Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science 7: 405-410.

Moosavi, A., Tavakkol Afshari, R., Sharif-Zadeh, F. and Aynehband, A. (2009). Effect of seed priming on germination characteristics, polyphenol oxidase and peroxidase activities of four amaranth cultivars. Journal of Food Agriculture and Environment 7: 353 – 358.

Neamatollahi, E. M. Bannayan, Souhani Darban, A. and Ghanbari, A. (2009). Hydropriming and osmopriming effects on cumin (*Cuminum Cyminum* L.) seeds germination. World Academy of Science, Engineering and Technology 57: 526-529.

Omidi H, A. Sorushzadeh, Salehi, A. and Ghezeli, F. (2005). Evaluation of Priming pretreatments on germination rapeseed. Agricultural Science and Technology 19: 1-10.

Panou-Philtheou, H., Koukourikoupetridou, M., Bosabalidis, A and Karataglis, S (2002) Relation of endogenous and applied gibberellins to growth and accumulation of essential elements in aregano plants grown in copper rich soils. Advances in Horticultural Science 16: 63-71.

Patade, V. Y. Bhargava, S. and Suprasanna, P (2009) Halopriming imparts tolerance to salt and PEG induced drought stress in sugarcane. Agriculture, Ecosystems and Environment 134: 24-28.

Rashid, A. P.A., Hollington, D. Harris and P. Khan (2006) On farm seed priming for barely on normal, saline and sodic soils in North West Frontier province, Pakistan. European Journal of Agronomy 24: 276-281.

Rowse, H. R., Mckee, J. M. T. and Finch-Savage W. E. (2001) Membrane priming: A method for small samples of high value seeds. Seed Science and Technology 9: 587-597.

Shi, Q. and Zhu, Z. (2008) Effect of exogenous salicylic acid on manganese toxicity, element contents and antioxidative system in cucumber. Environmental and Experimental Botany 63:317-326.

Sivasubramaniam, K., Geetha, R., Sujatha, K., Raja, K., Sripunitha, A. and Selvarani, R (2011) Seed priming: triumphs and tribulations. Madras Agriculture Journal 98: 197-209.

Sivritepe, N., Sivritepe, H. O. and Eris, A. (2003) The effect of NaCl priming on salt tolerance in melon seedling grown under saline condition. Scientia Horticulturae 97: 229-237.

Srivasta, k. (2001) Shoot regeneration from immature cotyledons of *Cicer aretinum*. Biologia Plantarum 44:333-337.

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

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