

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

فاطمه محمودی<sup>۱</sup>، پریسا شیخ‌زاده مصدق<sup>۱\*</sup>، ناصر زارع<sup>۱</sup> و بهروز اسماعیل‌پور<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، <sup>۲</sup> گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی،

دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۷/۰۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۶/۰۲/۳۱)

### چکیده

به منظور بررسی تأثیر پیش تیمارهای 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 پیش تیمار بذر با هورمون‌های جیبرلین (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ پی‌پی‌ام به مدت ۱۲، ۲۴، ۴۸ ساعت) و اسید سالیسیلیک (۲، ۳، ۴ میلی‌مولار به مدت‌های ۲۴، ۴۸ و ۶۰ ساعت)، پیش تیمار آبی (۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت) و شاهد (عدم پیش تیمار) بود. نتایج نشان داد که پیش تیمار 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 پیش تیمار آبی به مدت ۴۸ ساعت و ۴ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به مدت ۶۰ ساعت بود که به طور معنی‌داری بیشتر از شاهد و سایر پیش تیمارها بودند. شاخص قدرت و وزن خشک گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش تیمار شده با آب به مدت ۴۸ ساعت به ترتیب در حدود ۶/۸ و ۶/۵ برابر بیشتر از شاهد به دست آمد. بیشترین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز گیاهچه‌ها از بذور پیش تیمار شده با ۱۵۰ پی‌پی‌ام جیبرلین به مدت ۴۸ ساعت حاصل شد که به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود. مقدار پرولین و پروتئین کل به ترتیب در پیش تیمار آبی به مدت ۴۸ ساعت و ۴ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به مدت ۶۰ ساعت بیشترین بود. به طور کلی، اعمال پیش تیمار آبی بذور به مدت ۴۸ ساعت، ۱۵۰ پی‌پی‌ام جیبرلین به مدت ۴۸ ساعت و ۴ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به مدت ۶۰ ساعت جهت حصول بالاترین ویژگی‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها توصیه می‌شود.

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

### مقدمه

منابع اصلی و غنی اسیدهای چرب گاما لینولئیک اسید به شمار 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

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. به طوریکه به عنوان یکی از

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 پیش تیمار بذر می‌گویند (Sivasubramaniam et al., 2011). خیس کردن بذر در آب، محلول نمک غیر آلی، 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، پیش تیمار آبی است که در این روش، بذرها با آب خالص و بدون استفاده از هیچ ماده شیمیایی تیمار می‌شوند که این نوع پیش تیمار بسیار ساده و ارزان بوده و مقدار جذب آب از طریق مدت زمانی که بذرها در تماس با آب هستند، کنترل می‌شوند. در روش پیش تیمار بذور با هورمون‌های گیاهی، خیساندن بذور با مطلوب‌ترین غلظت هورمون‌های گیاهی و مواد تنظیم‌کننده رشد شامل اکسین، جیبرلین (GA)، کیتین، اسید آبسزیک (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، ۱۳۸۶).

پیش تیمار 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). پیش تیمار 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 نوکلئیک، 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 پیش تیمار بذر اتفاق می‌افتد (Afzal et al., 2002). بنابراین، پیش تیمار 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). پیش تیمار بذر با اسید سالیسیلیک با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار به مدت ۲۴ 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

مرکز جهاد کشاورزی اردبیل تهیه شده بود را با آب مقطر شسته و سپس به مدت‌های ۱۲، ۲۴، ۴۸ 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 دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند (ISTA, 2010). تعداد بذور جوانه‌زده به‌صورت روزانه تا ۱۰ روز 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):

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

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 ۲۴

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 (Casenave and Toselli, 2006)، پنبه (Demirkaya et al., 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 ۱۳۹۴ انجام گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل هورمون جیبرلین (غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ پی‌پی‌ام به مدت‌های ۱۲، ۲۴، ۴۸ ساعت) و اسید سالیسیلیک (غلظت‌های ۲، ۳، ۴ میلی مولار به مدت ۲۴، ۴۸ و ۶۰ ساعت)، پیش‌تیمار آبی (به مدت ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت) و بذور شاهد (بدون پیش‌تیمار) بود.

در روش پیش‌تیمار آبی، ابتدا بذور گاوزبان اروپایی که از

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

$$(mg) \times \text{جوانه زنی استاندارد (درصد)} = \text{شاخص وزنی قدرت}$$

میانگین وزن خشک گیاهچه

#### عصاره‌گیری برای سنجش فعالیت آنزیمی: برای تهیه

عصاره آنزیمی از روش Koa و Chang (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 به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ گردید. پس از آن محلول روشن‌آور برای اندازه‌گیری آنزیم‌ها به فریزر -۷۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شد.

#### سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز: برای اندازه‌گیری فعالیت

آنزیم کاتالاز از روش Aebi (۱۹۸۴) 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 میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره بود. پس از اضافه کردن عصاره، کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ 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:

$$\text{Unit/ml enzyme extract} = \frac{(\Delta A_{240nm})(3)(df)}{(40)(0.05)}$$

در این فرمول، df بیان‌کننده فاکتور رقیق‌سازی، عدد ۳ نشان دهنده حجم محلول مورد سنجش بر حسب میلی‌لیتر، ۰/۰۵ نشان دهنده حجم عصاره آنزیمی، عدد ۴۰ بیان‌کننده ضریب خاموشی پراکسید هیدروژن و  $\Delta A_{240}$  بیان‌کننده عدد قرائت

شده توسط اسپکتروفتومتری در طول موج ۲۴۰ نانومتر می‌باشد. عدد به‌دست آمده بیان‌کننده 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. اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم بر پایه تشکیل تترآگایاکول 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 پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره سلولی بود. پس از اضافه کردن عصاره سلولی، کاهش جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت یک دقیقه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی ( $\epsilon = 26.6 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) برای تترآگایاکول بر حسب واحد در میلی‌لیتر عصاره آنزیمی محاسبه گردید.

$$\text{Unit/ml enzyme extract} = \frac{(\Delta A_{470nm})(3)(df)}{(26.6)(0.05)}$$

که در آن،  $\Delta A_{470}$  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 میلی‌لیتر (۳۰۰۰ میکرولیتر) بر حجم اولیه عصاره آنزیمی مورد استفاده یعنی ۵۰ میکرولیتر محاسبه می‌شود، ۲۶/۶ ضریب خاموشی تترآگایاکول و ۰/۰۵ هم حجم عصاره آنزیمی مورد استفاده بر حسب 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 استیک اسید گلاسیال افزوده و به مدت یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد جوشانده شد. ۴ میلی‌لیتر تولوئن به مخلوط واکنش افزوده و جذب روشن‌آور 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:** اندازه گیری مقدار پروتئین کل به روش Bradford (۱۹۷۶) انجام شد. جهت استخراج پروتئین کل، یک گرم بافت تر در حضور بافر استخراج (تریس اسید کلریدریک pH=۷/۵) له شد. به منظور عصاره گیری، مخلوط حاصل به لوله های سانتریفیوژ انتقال داده شد و در ۱۳۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس غلظت پروتئین کل اندازه گیری شد. جهت رسم منحنی استاندارد (غلظت های مختلف پروتئین آلبومین سرم گاوی) استفاده گردید.

در پایان کلیه تجزیه و تحلیل های آماری داده های حاصل از این آزمایش، پس از اطمینان از نرمال بودن آنها، با استفاده از نرم افزار SAS صورت گرفت و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. نمودارها نیز توسط نرم افزار EXCEL رسم گردید.

## نتایج و بحث

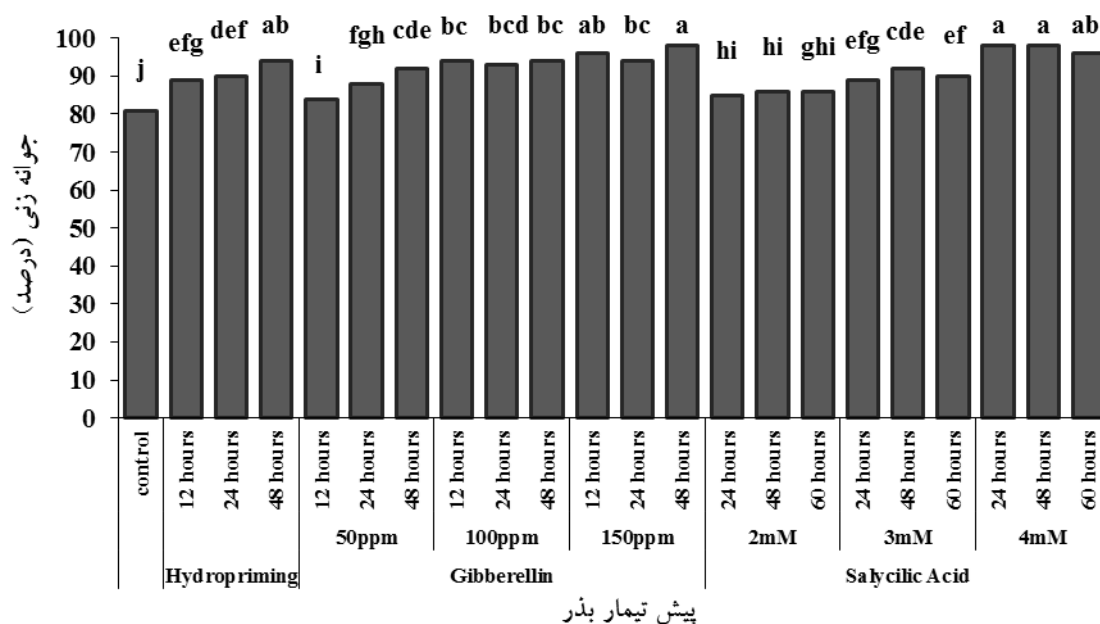
**درصد جوانه زنی:** نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد که درصد جوانه زنی بذر گاوزبان اروپایی به طور معنی داری تحت تأثیر پیش تیمار بذر قرار گرفت (جدول ۱). مقایسه میانگین داده ها نشان داد که میانگین درصد جوانه زنی بذر پیش تیمار شده به طور معنی داری بیشتر از بذر شاهد بود (شکل ۱). در بین پیش تیمارهای مختلف، بیشترین درصد جوانه زنی در بذر پیش تیمار شده با غلظت ۱۵۰ پی پی ام جیبرلین به مدت ۴۸ ساعت و غلظت ۴ میلی مولار اسید سالیسیلیک به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت به دست آمد که با بذر پیش تیمار شده با آب مقطر به مدت ۴۸ ساعت، غلظت ۱۵۰ پی پی ام جیبرلین به مدت ۱۲ ساعت و غلظت ۴ میلی مولار اسید سالیسیلیک به مدت ۶۰ ساعت اختلاف معنی داری نشان ندادند (شکل ۱). با افزایش مدت زمان پیش تیمار بذر گاوزبان اروپایی با آب و غلظت ۵۰ پی پی ام جیبرلین، درصد جوانه زنی افزایش یافت. به طوریکه درصد جوانه زنی بذر پیش تیمار شده به مدت ۴۸ ساعت به طور معنی داری بیشتر از ۱۲ و ۲۴ ساعت بود (شکل ۱). در

حالی که در غلظت ۱۰۰ پی پی ام جیبرلین بین مدت زمان های پیش تیمار بذر با این هورمون اختلاف معنی داری مشاهده نشد (شکل ۱). با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک، درصد جوانه زنی بذر گاوزبان به طور معنی داری افزایش یافت، اما بین مدت زمان های پیش تیمار اختلاف معنی داری مشاهده نشد (شکل ۱). به نظر می رسد افزایش درصد جوانه زنی در نتیجه اعمال پیش تیمار آبی ممکن است ناشی از این واقعیت باشد که پیش تیمار بذر موجب القا تغییرات بیوشیمیایی همانند هیدرولیز، فعال کردن آنزیم ها، همانندسازی DNA، افزایش سنتز RNA و سنتز پروتئین ها می گردد که این امر سبب افزایش رشد جنین و کاهش نشت متابولیت ها و در نهایت بهبود قدرت بذر و جوانه زنی بذر گاوزبان اروپایی می گردد (McDonald, 2000). از طرف دیگر، پیش تیمار آبی بذر از طریق کاهش مدت لازم برای جذب آب، موجب بهبود جوانه زنی، سبز شدن و استقرار سریع و مطلوب گیاهچه ها در دامنه وسیعی از شرایط محیطی می شود (Rowse et al., 2001). افزایش درصد جوانه زنی در نتیجه تیمار بذر گاوزبان اروپایی با استفاده از اسید سالیسیلیک و جیبرلین نسبت به جوانه زنی بذر شاهد، می تواند ناشی از آزادسازی آنزیم های تجزیه کننده کربوهیدرات و پروتئین در داخل بذر باشد (Jamil and Rha, 2007). کاربرد اسید سالیسیلیک به صورت پیش تیمار بذری در بذر عدس (محمدی و همکاران، ۱۳۸۸) و بذر کلزا (مظاهری تیرانی و منوچهری کلاتری، ۱۳۸۵) موجب افزایش درصد جوانه زنی شد. اثر پیش تیمار بذر با جیبرلین روی جوانه زنی و رشد گیاهچه های حاصل از بذر چاودار کوهی (Secale montanum) نشان داد که تیمار بذر با جیبرلین سبب افزایش درصد جوانه زنی می شود (Ansari and Sharif-Zadeh, 2012). در بررسی اثر پیش تیمار آبی بر جوانه زنی بذر زیره سبز (Cuminam cyminum) گزارش شد که پیش تیمار آبی سبب افزایش درصد جوانه زنی این بذر شده است (Neamatollahi et al., 2009) که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد. در ذرت شیرین، پیش تیمار بذر، فعالیت آنزیم های  $\alpha$  و  $\beta$  آمیلاز را که از آنزیم های مؤثر در جوانه زنی بذر هستند را افزایش می دهند

جدول ۱- تجزیه واریانس اثرات پیش تیمارهای مختلف بر جوانه زنی، رشد و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان گیاهچه های گاوزبان اروپایی

| منابع تغییر     | درجه آزادی | درصد جوانه زنی | سرعت جوانه زنی | وزن خشک گیاهچه        | شاخص قدرت   | فعالیت آنزیم کاتالاز | فعالیت آنزیم پراکسیداز | پرویلین            | پروتئین کل |
|-----------------|------------|----------------|----------------|-----------------------|-------------|----------------------|------------------------|--------------------|------------|
| پیش تیمار       | ۲۱         | ۶۸/۴۸**        | ۰/۰۱۶**        | ۳×۱۰ <sup>-۴</sup> ** | ۳۵۱۱۷۵۴/۲** | ۰/۰۰۲**              | ۳۸۲/۶۴**               | ۰/۰۴**             | ۰/۰۰۱**    |
| خطا             | ۴۴         | ۲/۵۴           | ۰/۰۰۶          | ۲×۱۰ <sup>-۶</sup>    | ۲۱۰۹۱/۸     | ۱×۱۰ <sup>-۷</sup>   | ۱/۹۸                   | ۳×۱۰ <sup>-۴</sup> | 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 معنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد

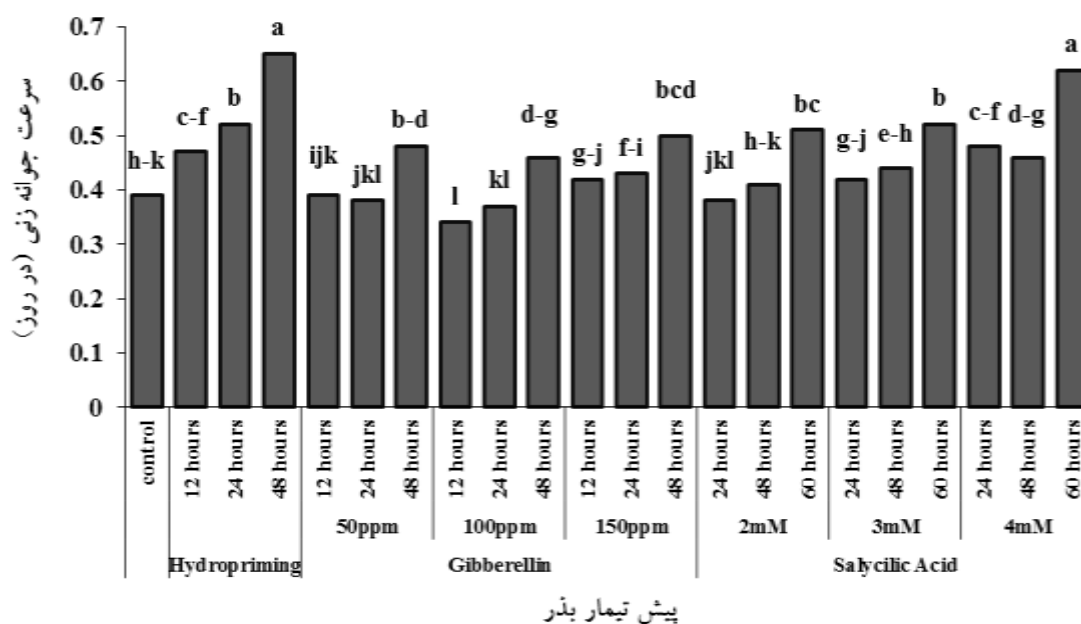


شکل ۱- تأثیر پیش تیمارهای آبی و هورمونی بر درصد جوانه زنی بذور گاوزبان اروپایی. در هر ستون میانگین های دارای حروف مشابه دارای اختلاف معنی دار بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ نمی باشند.

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

**سرعت جوانه زنی:** نتایج نشان داد که سرعت جوانه زنی تحت تأثیر پیش تیمار بذر قرار گرفت (جدول ۱). بیشترین میانگین سرعت جوانه زنی، مربوط به پیش تیمار آبی به مدت ۴۸ ساعت و غلظت ۴ میلی مولار اسیدسالیسیلیک به مدت ۶۰

ساعت بود که این تیمارها به طور معنی داری بیشتر از بذور شاهد و سایر پیش تیمارها بودند (شکل ۲). در همه ی پیش تیمارها، با افزایش مدت زمان پیش تیمار بذور، سرعت جوانه زنی افزایش یافت. به طوریکه حداکثر سرعت جوانه زنی بذور با غلظت های مختلف اسید سالیسیلیک مربوط به ۶۰ ساعت و غلظت های مختلف جیبرلین و پیش تیمار آبی مربوط به ۴۸ ساعت بود که به طور معنی داری بیشتر از سایر مدت های پیش تیمار بود (شکل ۲). افزایش سرعت جوانه زنی در بذرهای پیش تیمار شده به مدت ۴۸ ساعت و ۶۰ ساعت در مقایسه با بذور شاهد (شکل ۲) را می توان به دلیل ایجاد تغییرات

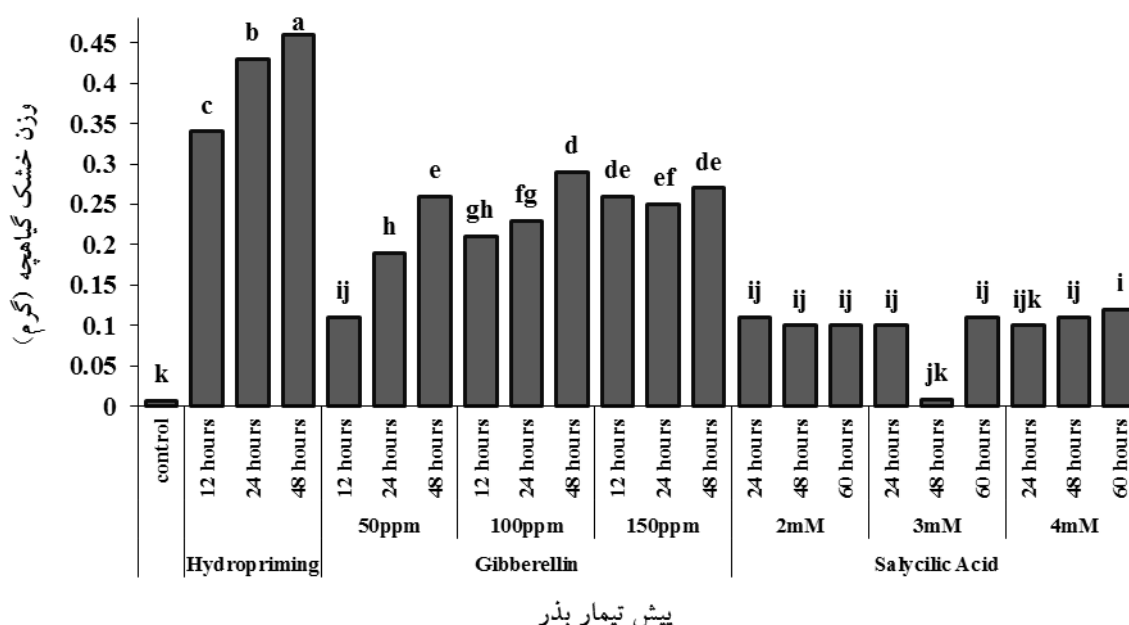


شکل ۲- تاثیر پیش تیمارهای آبی و هورمونی بر سرعت جوانه زنی بذور گاوزبان اروپایی. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه دارای اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ نمی‌باشند.

امر می‌تواند موجب بهبود سرعت رشد گیاهان و افزایش کیفیت و کمیت عملکرد شود (شیخزاده و همکاران، ۱۳۹۳). افضل و همکاران (۲۰۰۲) تسریع جوانه زنی در بذور ذرت پیش تیمار شده را ناشی از افزایش فعالیت آنزیم‌های آل‌فامیلاز، افزایش مقدار ATP، افزایش سنتز DNA و RNA می‌دانند. همچنین گزارش شده است که پیش تیمار آبی سبب کوتاه شدن مدت زمان جوانه زنی 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 جوانه زنی را افزایش داده و موجب کاهش ناهمگونی فیزیولوژیکی ذاتی در بذر می‌شود (Maestrini *et al.*, 2004). افزایش سرعت جوانه زنی بر اثر پیش تیمار 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 پیش تیمار بذر بر وزن خشک گیاهچه‌ها

بیوشیمیایی هیدرولیز کننده و افزایش فعالیت‌های آنزیم‌های تجزیه کننده در بذر دانست که سبب بهبود جوانه زنی بذر می‌شود (Omidi *et al.*, 2005). پیش تیمار آبی، غلظت‌های مختلف هورمون جیبرلین به مدت ۴۸ ساعت و غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک به مدت ۶۰ ساعت، سرعت جوانه زنی بذور گاوزبان اروپایی را به ترتیب در حدود ۱/۲ تا ۱/۶، ۱/۲ تا ۱/۳ و ۱/۳ تا ۱/۶ برابر نسبت به بذور شاهد افزایش داد. تسریع جوانه زنی در بذرهای پیش تیمار 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 آل‌فامیلاز، افزایش ATP، افزایش سنتز RNA و DNA، افزایش تعداد و در عین حال ارتقای عملکرد میتوکندری‌ها (Afzal *et al.*, 2002)، موجب کوتاه شدن زمان جوانه زنی نسبت به بذور شاهد می‌گردد که این امر سبب می‌شود تا بذور پیش تیمار شده از لحاظ مراحل جوانه زنی نسبت به بذور شاهد پیشرفته‌تر باشند (Rowse *et al.*, 2001). بنابراین افزایش سرعت جوانه زنی در اثر اعمال پیش تیمار بذر، نمایانگر افزایش قدرت این بذرها است که این

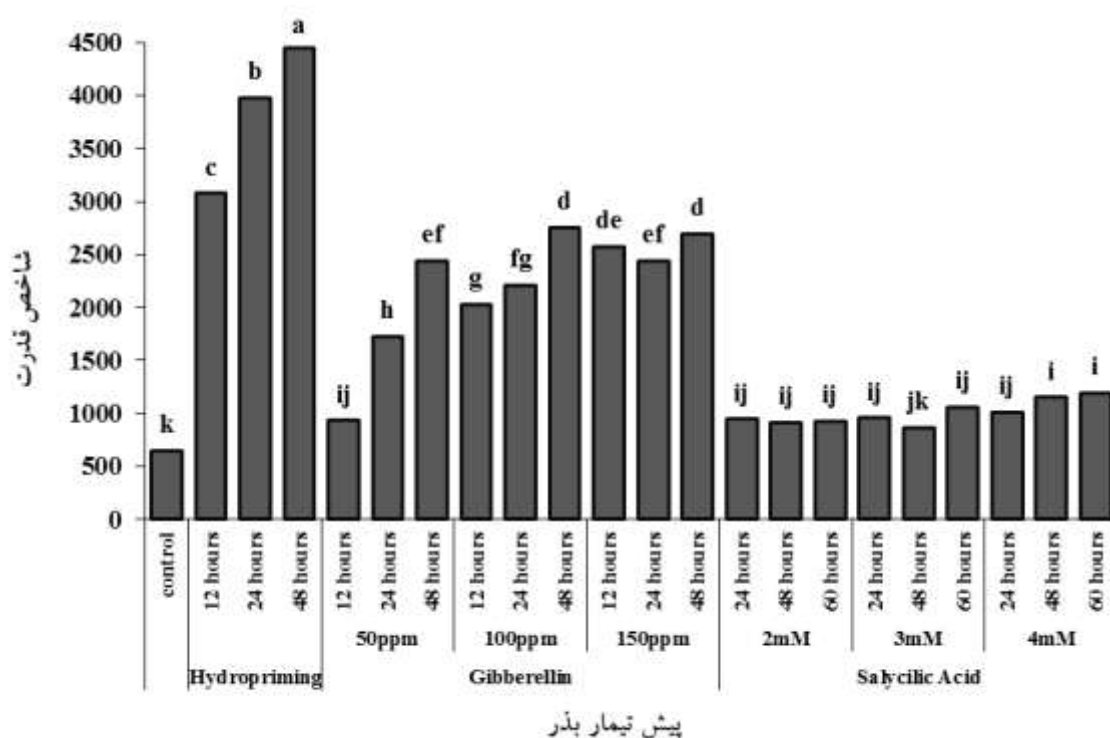


شکل ۳- تأثیر پیش تیمارهای آبی و هورمونی بر وزن خشک گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه دارای اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ نمی‌باشند.

موجب شد تا در یک زمان معین، ماده خشک بیشتری نسبت به بذور شاهد تولید کنند. این نتایج با یافته‌های رشید و همکاران (۲۰۰۶) 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 گیاهچه‌های حاصل از بذرهای هیدروپرایمینگ 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 پیش تیمار بذر قرار گرفت. میانگین شاخص قدرت گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش تیمار شده بیشتر از بذور شاهد به دست آمد. اما پیش تیمار بذر با غلظت ۳ میلی مولار اسید سالیسیلیک به مدت ۴۸ ساعت و بذور شاهد اختلاف معنی داری مشاهده نشد. بیشترین شاخص قدرت گیاهچه‌ها مربوط به پیش تیمار آبی به مدت ۴۸ ساعت بود که

معنی دار به دست آمد. مطابق شکل ۳، همه‌ی سطوح پیش تیمار بذر به جز پیش تیمار بذور با غلظت‌های ۳ و ۴ میلی مولار اسید سالیسیلیک به ترتیب به مدت ۴۸ و ۲۴ ساعت، موجب افزایش معنی دار وزن خشک گیاهچه‌ها گردید. بیشترین وزن خشک گیاهچه‌ها مربوط به بذور پیش تیمار شده با آب به مدت ۴۸ ساعت بود که به طور معنی داری بیشتر از بذور شاهد و سایر پیش تیمارها به دست آمد (شکل ۳). با افزایش مدت پیش تیمار بذور با آب مقطر و غلظت ۵۰ پی پی ام جیبرلین، وزن خشک گیاهچه‌ها به طور معنی داری افزایش یافت. در این تیمارها، بیشترین وزن خشک گیاهچه‌ها مربوط به مدت زمان ۴۸ ساعت می‌باشد. درحالی که بین غلظت‌ها و مدت زمان پیش تیمار کردن بذور گاوزبان اروپایی با اسید سالیسیلیک اختلاف معنی داری مشاهده نشد (شکل ۳). پیش تیمار آبی موجب افزایش حدود ۴۸ تا ۶۵ برابر وزن خشک گیاهچه‌ها نسبت به بذور شاهد گردید. برتری بذور پیش تیمار شده از نظر تولید گیاهچه‌های بزرگ‌تر را می‌توان به سرعت جوانه زنی بالاتر نسبت داد. با توجه به این که بذرهای پیش تیمار شده درصد جوانه زنی بالاتری نسبت به بذرهای شاهد داشتند، این امر



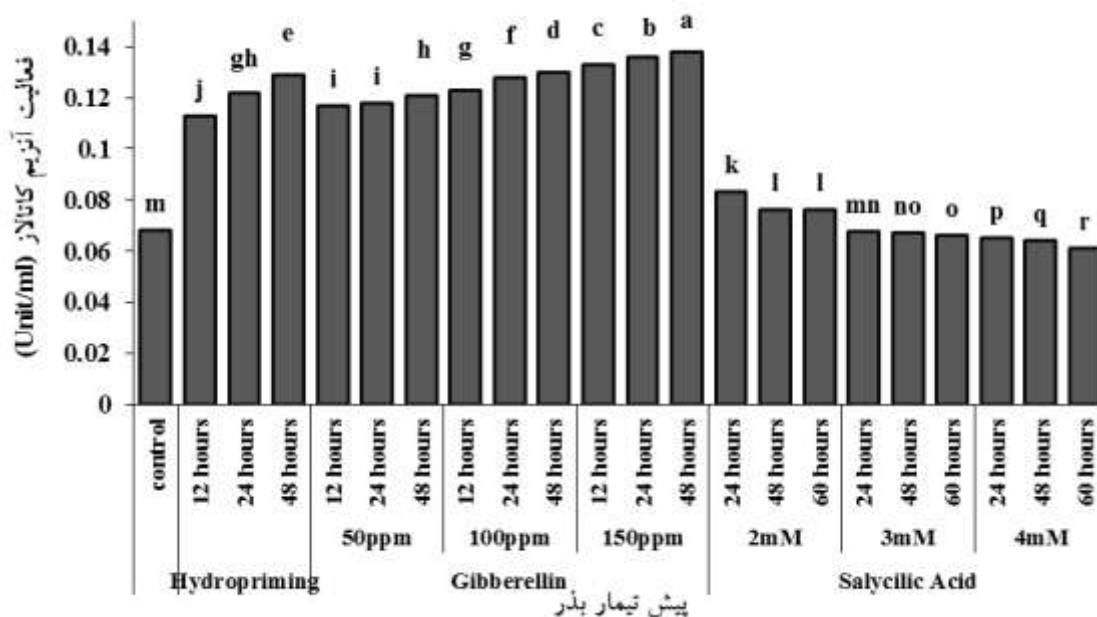
شکل ۴- تاثیر پیش تیمارهای آبی و هورمونی بر شاخص وزنی گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه دارای اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ نمی‌باشند.

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 پیش تیمار 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 تاثیر پیش تیمار 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 به طور معنی‌داری بیشتر از بذور شاهد بود (شکل ۵). بیشترین فعالیت این آنزیم در گیاهچه‌های

به طور معنی‌داری بیشتر از بذور شاهد و سایر پیش تیمارها به دست آمد. بین مدت زمان‌های تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در حالیکه با افزایش مدت پیش تیمار بذر با آب و غلظت‌های مختلف جیبرلین، شاخص قدرت گیاهچه افزایش یافت. به طوریکه بیشترین شاخص قدرت گیاهچه در این تیمارها مربوط به مدت زمان ۴۸ ساعت بود که به طور معنی داری بیشتر از سایر مدت زمان‌های پیش تیمار بذرها می‌باشد (شکل ۴).

اعمال پیش تیمار بر بذور گاوزبان اروپایی با آب و غلظت های مختلف جیبرلین، موجب افزایش ۱/۴ تا ۶/۹ 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



شکل ۵- تاثیر پیش تیمارهای 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.

باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهچه‌های عدس می‌شود. همچنین پیش تیمار 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 پیش تیمار شده با ۴ میلی مولار اسید سالیسیلیک به طور معنی داری کمتر از سایر بذور پیش تیمار شده و بذور شاهد حاصل شد (شکل ۵). پایین بودن فعالیت این آنزیم می‌تواند به این دلیل باشد که اسید سالیسیلیک به دلیل داشتن اکسیژن گروه هیدروکسیل آزاد روی حلقه بنزوئیک قادر به کلاته کردن آهن موجود در کاتالاز می‌باشد (Shi, and Zhu, 2008). بنابراین، اسید سالیسیلیک سبب بازدارندگی فعالیت آنزیم کاتالاز (که یک آنزیم پاکسازی کننده پراکسید هیدروژن است) می‌گردد و در نتیجه، با کاهش فعالیت این آنزیم موجب افزایش پراکسید هیدروژن در گیاه می‌شود. این نتایج با یافته‌های دولت آبادیان و همکاران (۱۳۸۶) در گندم و فرهودی و همکاران (۲۰۱۱) در خربزه (*Cucumis melo*) مطابقت دارد.

فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش

حاصل از بذور پیش تیمار شده با غلظت ۱۵۰ پی پی ام جیبرلین به مدت ۴۸ ساعت به دست آمد که به طور معنی داری بیشتر از گیاهچه‌های حاصل از بذور شاهد و سایر پیش تیمارها 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 به طور معنی داری گردید. از نظر مدت زمان پیش تیمار آبی و هورمون جیبرلین بیشترین فعالیت این آنزیم در گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش تیمار شده به مدت ۴۸ ساعت به دست آمد.

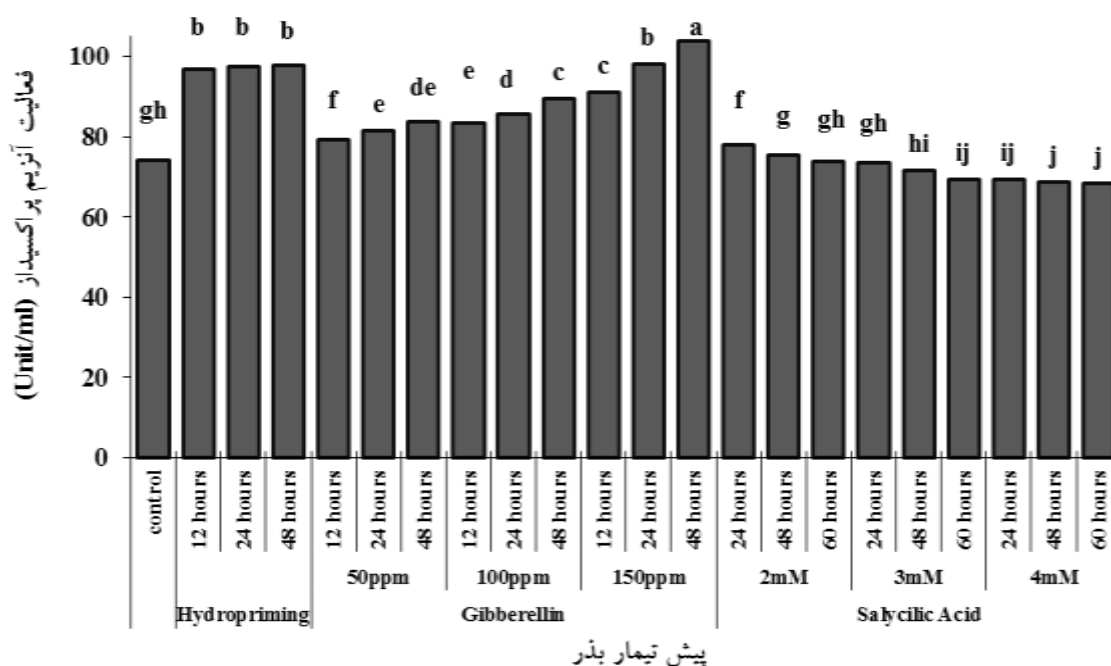
نشان داده شده که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان ناشی از کاربرد جیبرلین می‌تواند ناشی از افزایش القای رونویسی ژن و سنتز پروتئین آنزیم و یا به واسطه تغییرات پس از ترجمه‌ی پروتئین آنزیم‌های موجود باشد (*Vitoria et al.*, 2007). همچنین گزارش شده است که جیبرلین با تأثیر مثبت بر جذب مواد معدنی در تأمین کوفاکتورهای ضروری در آنزیم‌های آنتی اکسیدان 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 پیش تیمار بذر با هورمون جیبرلین

تیمار شده با آب، غلظت‌های مختلف جیبرلین و غلظت ۲ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به مدت ۲۴ ساعت به‌طور معنی داری بیشتر از بذور شاهد بود (شکل ۶). بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش تیمار شده با غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام جیبرلین به مدت ۴۸ ساعت به‌دست آمد که به‌طور معنی داری بیشتر از بذور شاهد و سایر پیش تیمارها بود (شکل ۶). در هر سه غلظت جیبرلین به کار برده شده، با افزایش مدت پیش تیمار بذر، فعالیت این آنزیم در گیاهچه‌ها به‌طور معنی داری افزایش یافت. به‌طوریکه بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در این پیش تیمارها مربوط به مدت ۴۸ ساعت بود. تیمار بذور گاوزبان اروپایی با هورمون جیبرلین موجب افزایش حدود ۱ تا ۱/۴ 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 جیبرلین 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 پیش تیمار شده با آب مقطر به‌طور معنی داری بیشتر از بذور شاهد به‌دست آمد. اما بین مدت‌های پیش تیمار آبی اختلاف معنی داری مشاهده نشد (شکل ۶). Varier و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که پیش تیمار آبی باعث افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در پنبه شده است.

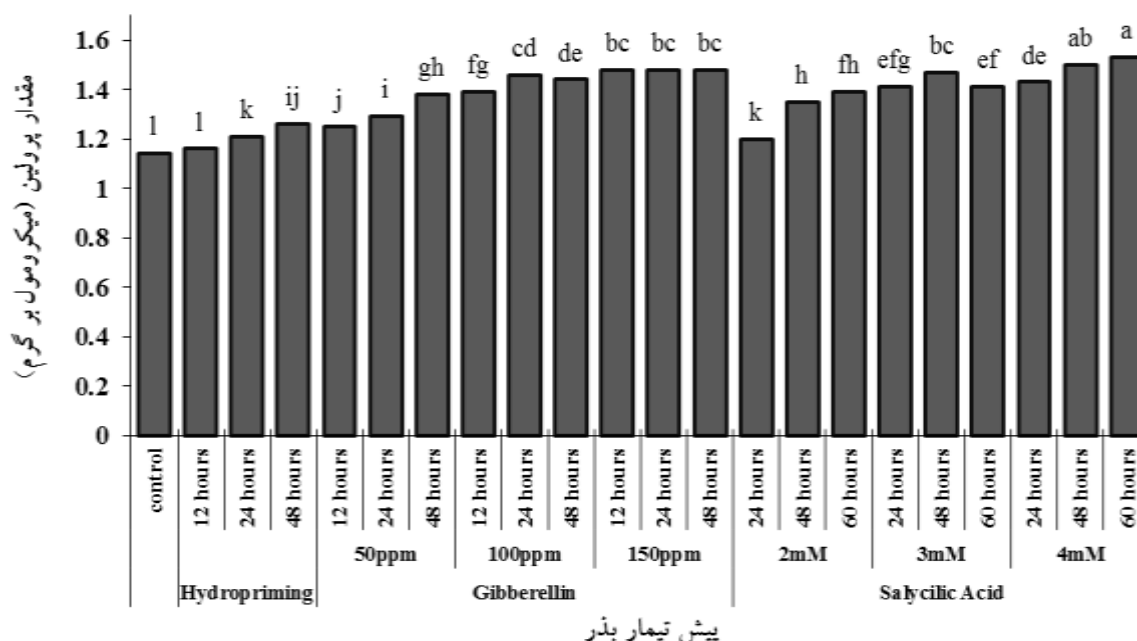
به تدریج با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک فعالیت آنزیم پراکسیداز کاهش یافت. کمترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در بذور پیش تیمار شده با غلظت ۴ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک مشاهده شد که اختلاف معنی داری از نظر آماری با بذور پیش تیمار شده با غلظت ۳ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به مدت ۶۰ ساعت نداشت (شکل ۶). کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز در نخودفرنگی تحت تیمار با اسید سالیسیلیک توسط Srivasta (۲۰۰۱) گزارش شده است که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. آنزیم‌های آنتی اکسیدان 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 جوانه زنی (شکل ۱)، سرعت جوانه زنی (شکل ۲) و وزن خشک گیاهچه (شکل ۳) می‌شود.

**مقدار پرولین:** طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱)، مقدار پرولین به‌طور معنی داری تحت تأثیر پیش تیمار بذر قرار گرفت. همانطور که در شکل ۷ مشاهده می‌شود، مقدار اسید آمینه پرولین گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش تیمار شده با اسید سالیسیلیک، هورمون جیبرلین و پیش تیمار آبی به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت به‌طور معنی داری 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 پیش تیمار شده با آب به مدت ۱۲ ساعت از نظر آماری اختلاف معنی داری نداشتند. بیشترین مقدار اسید آمینه پرولین در گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش تیمار شده با غلظت ۴ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به مدت ۶۰ ساعت به‌دست آمد که به‌طور معنی داری بیشتر از بذور شاهد و سایر پیش تیمارها بود اما اختلاف معنی داری با گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش تیمار شده با غلظت ۴ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به مدت ۴۸ ساعت نداشت (شکل ۷). پیش تیمار بذور گاوزبان اروپایی با استفاده از آب، هورمون‌های جیبرلین 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 پیش تیمار 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 فرایندهای سلولی در شرایط بدون تنش و تنش‌زا می‌شود (Abraham et al., 2003). افزایش تجمع پرولین در گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش تیمار شده به دلیل کاهش تنش اکسیداتیو حتی در شرایط بدون تنش سبب رشد بهتر این گیاهچه‌ها (شکل ۳) و شاخص قدرت (شکل ۴) نسبت گیاهچه‌های شاهد شده است. تغییرات فیزیولوژیک



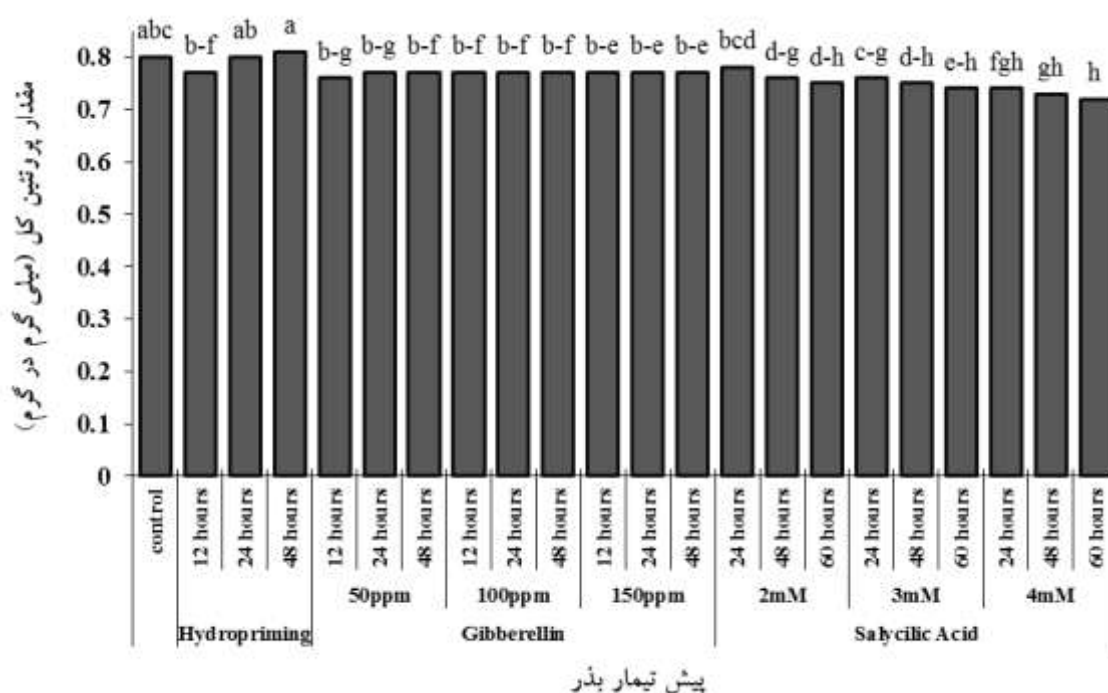
شکل ۶- تأثیر پیش تیمارهای آبی و هورمونی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه دارای اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ نمی‌باشند.



شکل ۷- تأثیر پیش تیمارهای 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.

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

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



شکل ۸- تأثیر پیش تیمارهای 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.

### نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این پژوهش به‌خوبی نشان داد با توجه به جوانه‌زنی ضعیف و غیر یکنواخت گاوزبان اروپایی، پیش تیمار بذور موجب بهبود جوانه‌زنی بذرها، رشد گیاهچه‌ها، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پرولین گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی گردید. در بین پیش تیمارهای مورد استفاده روی بذور این گیاه، پیش تیمار آبی بذر به مدت ۴۸ ساعت، پیش تیمار بذر با غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام جیبرلین به مدت ۴۸ ساعت و ۴ میلی مولار اسید سالیسیلیک به مدت ۶۰ بیشترین اثر مثبت را بر جوانه‌زنی، کیفیت و قدرت بذور و گیاهچه‌ها را نشان داد. اما چون پیش تیمار 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.

افزایش یافت. در بین پیش تیمارهای مختلف، بیشترین مقدار پروتئین کل در گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش تیمار شده با آب به مدت ۴۸ ساعت به‌دست آمد که اختلاف معنی‌داری با گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش تیمار شده با آب به مدت ۲۴ ساعت و گیاهچه‌های حاصل از بذور شاهد نداشت (شکل ۸). همچنین گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش تیمار شده با آب به مدت ۲۴ 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-Shourbagy, 2001) موجب افزایش مقدار پروتئین کل گیاهچه‌ها گردیده است. کاور و همکاران (۲۰۰۲) نیز نشان دادند که بذرها، نخود پیش تیمار شده با آب نسبت به بذور شاهد از پروتئین بیشتری برخوردار می‌باشند.

## 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.) گیاهیچه 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 پیش تیمار بذر با سالیسیلیک اسید در پیش تیمار بذر بر شاخص‌های جوانه‌زنی بامیه رقم بسنتی (*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 ۴: ۳۰-۲۳.
- دولت آبادیان، آ.، مدرس ثانوی، ع. و اعتمادی، ف. (۱۳۸۶) اثر پیش تیمار اسید سالیسیلیک بر جوانه‌زنی بذر گندم (*Triticum aestivum* L.) در شرایط تنش شوری. مجله زیست شناسی ۲۱: ۷۰۲-۶۹۳.
- ربیعی، ب. و بیات، م. (۱۳۸۸) بررسی شاخص‌های جوانه زنی بذر و رشد گیاهیچه ارقام کلزا (*Brassica napus* L.) با استفاده از آزمون‌های بنیه بذر. مجله علوم گیاهان زراعی ایران ۴۰: ۹۳-۱۰۴.
- 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 فراوری محصولات زراعی و باغی ۳: ۱۴-۱.
- شکاری، ف.، بالجانی، ر.، صبا، ج.، افصحی، ک. و شکاری، ف. (۱۳۸۹)، تأثیر پرایمینگ با سالیسیلیک اسید روی خصوصیات گیاهیچه گاوزبان (*Borago officinalis*)، مجله دانش نوین کشاورزی ۴: ۵۳-۴۷.
- شیخ‌زاده مصدق، پ.، نبوی، ت. و آزرمی، ب. (۱۳۹۳) تأثیر تنش شوری ناشی از کلرید سدیم بر مولفه‌های جوانه زنی و رشد گیاهیچه 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 گیاهی ۱۰: ۱۶-۱.
- قاسمی پیربلوطی، ع.، گلپور، ا.، ریاحی دهکردی، م. و نوید، ع. (۱۳۸۶) بررسی اثر تیمارهای مختلف در شکستن خواب و تحریک جوانه‌زنی بذر پنج گونه گیاه دارویی منطقه چهار محال و بختیاری. پژوهش و سازندگی ۷۴: ۱۹۲-۱۸۵.
- کافی، م.، بروزئی، 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 سالیسیلیک اسید و جیبرلین بر سرعت جوانه‌زنی بذر عدس مجله زیست شناسی دانشگاه آزاد گرمسار ۴: ۴۴-۳۳.
- مظاهری تیرانی، م. و منوچهری کلاتری، 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: ۴۱۸-۴۰۸.

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 زیست‌شناسی گیاهی ایران شماره ۲: ۱۰-۱.

یونسی، ا.، بهاری، 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 ۴: ۷۰-۶۱.

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 Iqbal, 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 quantities 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 senescence 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 Kerit, 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 Agrobotanici Cluj-Napoca* 38: 109-113.
- Ghiyasi, M., Pouryousef- Myandoab, M. and Tajbakhsh, M. (2008). Influence of osmopriming treatment on emergency 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) Gibberillic 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., Courneade, 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 arietinum*. *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.