اثر نیترات پتاسیم بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در مرحله جوانه‌زنی بذور زوال یافته ماریتیغال (*Silybum marianum*)

علی عبادی*، قاسم پرمون و سدابه جهانبخش گده کهریز

گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی

(تاریخ دریافت: ۹۳/۰۷/۳۰، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹٤/۰۳/۲۰)

چکیده:

زوال بذر موجب افزایش فعالیت مولکول‌های اکسیژن واکنشگر می‌گردند و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نقش کلیدی در مقابله با تنش‌های اکسیداتیو ناشی از افزایش رادیکال‌های آزاد دارند. نقش پیش‌تیمار بذر در افزایش فعالیت این آنزیم‌ها و اثر آن بر ویژگی‌های جوانه‌زنی بذور زوال یافته ماریتیغال در آزمایشی در دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۲ مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل پیش‌تیمار بذر در ۵ سطح (۰، ۱۵، ۳۰، ٤٥ و ٦٠ میلی‌گرم در لیتر نیترات پتاسیم) و زوال در رطوبت نسبی ۹۵ درصد و دمای ٤٥ درجه در ٤ سطح (عدم زوال، ٤٨، ۹٦ و ١٤٤ ساعت زوال) انتخاب شد. نتایج نشان داد با افزایش سطح زوال (١٤٤ ساعت)، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز (٦٢ درصد)، کاتالاز (٣٤ درصد)، پراکسیداز (٤٣ درصد)، آسکوربات پراکسیداز (٥٧ درصد)، گلوتاتیون پراکسیداز (٦١ درصد) و گلوتاتیون رداکتاز (٥٨ درصد) کاهش پیدا کرد و در نهایت منجر به کاهش درصد جوانه‌زنی (۲۵ درصد) و سرعت جوانه‌زنی (۱۵ درصد) نسبت به تیمار شاهد (عدم زوال) شد. پیش‌تیمار بذر با نیترات پتاسیم تأثیر زوال را کاهش و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را افزایش داده و در نهایت به افزایش جوانه‌زنی منجر شد. غلظت ۳۰ تا ٤٠ میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم بیش‌ترین تأثیر را در کاهش زوال نشان داد. نتایج رگرسیونی نشان داد که فعالیت تمام آنزیم‌ها با درصد و سرعت جوانه‌زنی از رابطه خطی پیروی می‌کند. همچنین مطابق با نتایج تحلیل مسیر، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به ترتیب دارای تأثیر مستقیم و غیرمستقیم بر درصد و سرعت جوانه‌زنی در طی تغییرات رادیکال‌های آزاد بودند، به‌طوری که فعالیت پراکسیداز دارای بیش‌ترین تأثیر بر درصد (۰/٥٦٨) و سرعت جوانه‌زنی (۰/۷۳۹) بود.

کلمات کلیدی: پیش‌تیمار، ماریتیغال، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، نیترات پتاسیم.

مقدمه:

زوال در شرایط نامناسب انبارداری مانند رطوبت و درجه حرارت بالا اتفاق می‌افتد. زوال موجب تخریب ساختارهای *DNA* و *RNA* ریبوزومی، افزایش فعالیت آنزیمی، تنفس و نفوذپذیری غشاهای سلولی می‌شود (McDonald, 1999). افزایش رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون هیدروژن در طی زوال موجب ایجاد تنش‌های اکسیداتیو در گیاه می‌شود (Kibinza *et al.*, 2006).

تنش‌های اکسیداتیو موجب ایجاد اکسیژن فعال مانند رادیکال سوپراکسید ($O_2^{\cdot}$)، هیدروژن پراکسید (H_2O_2) و رادیکال‌های هیدروکسیل ($OH^{\cdot}$) در سلول‌های گیاهی می‌شود (Wise and Naylor, 1987). گیاهان در مقابل چنین شرایطی پاسخ‌های انطباقی مختلفی مانند تنظیم محافظتی تنش‌های اکسیداتیو در سلول نشان می‌دهند (Horling *et al.*, 2003).

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: ebadi@uma.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.16.6.1]

برخی از سازوکارهای محافظتی از رادیکال‌های آزاد و سوپراکسید، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان دفاعی می‌باشند. از آنزیم های آنتی‌اکسیدان می توان به سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون رداکتاز و مونو دهیدرواسکوربات رداکتاز (monodehydroascorbate reductase) که به‌عنوان سیستم‌هایی برای به حداقل رساندن غلظت سوپراکسید و پراکسید هیدروژن طراحی شده‌اند، اشاره کرد. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز سبب تجزیه و یا تبدیل این رادیکال‌های آزاد و سوپراکسیدها به اکسیژن و هیدروژن پراکسید می‌گردد (Alscher *et al.*, 2002). هیدروژن پراکسید به‌وسیله دیگر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز، پراکسیداز، گلوتاتیون پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز تخریب و به آب و اکسیژن تبدیل می‌شود که این تخریب هم به‌صورت آنزیمی و هم غیره آنزیمی صورت می‌گیرند (Peltzer *et al.*, 2002).

بهبود بذور به روش پرایمینگ به‌منظور تقویت بذر موجب افزایش جوانه‌زنی و ظهور بهتر آن‌ها می‌شود. این بهبود جوانه‌زنی شامل هیدراسیون و جذب قبل از جوانه‌زنی است. برای این منظور تیمار با مواد شیمیایی متنوعی مانند نیترات پتاسیم، هورمون‌های گیاهی و ویتامین‌ها در جهت کاهش زوال تسریع شده یا طبیعی صورت می‌گیرد(Chhetri *et al.*, 1993; Powell *et al.*, 2000). مطالعات نشان داده است که این تیمارها باعث افزایش قدرت بذر و بهبود انبارداری بذور از طریق کاهش رادیکال‌های آزاد می‌گردد و پرایمینگ بذور با نیترات پتاسیم نیز سبب بهبود جوانه‌زنی هندوانه در دماهای پایین شد (Demir and Venter, 1999). Hsu و همکاران (۲۰۰۳) در مطالعه تأثیر زوال تسریع شده بر پراکسیداسیون چربی‌های کدوی تلخ و تأثیر پرایمینگ و خیساندن بذر با آب گرم نشان دادند که زوال باعث کاهش جوانه‌زنی و افزایش متوسط زمان جوانه‌زنی بذور کدوی تلخ گردید و پرایمینگ و خیساندن بذور با آب گرم باعث کاهش تأثیرات زوال و موجب افزایش درصد جوانه‌زنی شد. زوال میزان مالوندالدهید و پراکسیداز کل را افزایش و میزان پروتئین محلول را کاهش داد، درحالی‌که پرایمینگ میزان این تغییرات را کمتر کرده بود. همچنین آن‌ها افزودند در طی زوال فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز کاهش یافت که در طی پرایمینگ و خیساندن بذور با آب گرم افزایش پیدا کرد. Goel و همکاران (۲۰۰۳) نیز اعلام کردند زوال سبب افزایش میزان نشت مواد، مالون دی الدهید، پراکسید کل و کاهش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون رداکتاز، بذور پنبه می‌شود و هیدروپرایمینگ و پرایمینگ با آسکوربیک اسید موجب کاهش تأثیرات زوال گشته و در نهایت جوانه‌زنی افزایش پیدا می‌کند. ماریتیغال (*Silybum marianum*) گیاه دارویی و مدیترانه‌ای است که از ترکیبات دانه آن می‌توان به سلیمارین، فلانویدها، اسید چرب و ترکیبات پلی‌فنولی اشاره کرد (Ramasamy and Agarwal, 2008). از این گیاه برای درمان ناراحتی‌های کبدی، چربی خون، دیابت و سرطان استفاده می‌شود (Shaker *et al.*, 2010). بذور این گیاه حاوی روغن زیادی بوده و می‌تواند تا ۹ سال در خاک باقی بماند (Sindel, 1991).

در این مطالعه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به‌عنوان عوامل موثر بر جوانه‌زنی و همچنین مقاومت گیاه نسبت به شرایط محیطی دارای نقش کلیدی در جوانه‌زنی و مقاومت گیاهان است. با توجه به انبارداری طولانی مدت بذور برخی گیاهان به ویژه گیاهان دارویی و مرتعی که به عنوان ذخایر ژنتیکی نیز و با توجه به قابلیت زندمانی بالای بذور ماریتیغال، این پژوهش به‌منظور بررسی تأثیر زوال بر جوانه‌زنی بذور ماریتیغال و همچنین مطالعه نقش پیش‌تیمار در کاهش تأثیرات زوال و تغییرات فعالیت آنزیم‌های ضداکسنده انجام گرفت.

مواد و روش‌ها:

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۲ انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل پیش‌تیمار بذور در ۵ سطح (۰، ۱۵، ۳۰، ٤٥ و ٦٠ میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم) و زوال در ٤ سطح (عدم زوال، ٤٨، ٩٦ و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.16.6.1]

۱٤٤ ساعت زوال تسریع شده) بودند. صفات اندازه‌گیری شده شامل درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون ردکتاز و گلوتاتیون پراکسیداز بود. بذور استفاده در این آزمایش از شرکت پاکان بذر اصفهان تولیدشده در سال ۱۳۹۱ تهیه شد. برای ایجاد سطوح زوال، بذور در داخل توری‌هایی قرار داده شد و سپس در آون رطوبت دار با رطوبت نسبی ۹۵٪ و دمای ٤٥ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤٨، ۹٦ و ۱٤٤ ساعت قرار داده شد (Gholami Tilebeni and Golpayegani, 2011). بعد از سپری شدن زمان‌های مورد نظر بذور پیش‌تیمار شدند. برای این کار بذور ماریتیغال در درون ٤ لایه کاغذ واتمن قرار داده شده و سپس محلول‌های نیترات پتاسیم با غلظت‌های ۰، ۱۵، ۳۰، ٤٥ و ٦۰ میلی‌گرم بر لیتر به آن‌ها افزوده شده و آن‌ها را در ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در محل تاریک قرار داده شدند. سپس بذرها در محیط آزمایشگاه برای رسیدن به رطوبت اولیه (۱٦-۱٤ درصد) نگهداری شد. قبل از انجام آزمون جوانه‌زنی بذور با هیپوکلریت سدیم ۱٪ به مدت ۵ دقیقه ضدعفونی شدند. این کار برای کاهش احتمال آلودگی در آخرین مرحله صورت گرفت. برای انجام آزمون جوانه‌زنی، ۵۰ عدد بذر در درون پتری دیش‌هایی به قطر نه سانتی‌متر قرار داده شدند نمونه‌ها در ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. شمارش جوانه‌زنی بر اساس خروج جوانه دو میلی‌متری تا ۱٤ روز صورت گرفت (Sedghi *et al.*, 2010).

سرعت جوانه‌زنی با استفاده از فرمول Ellis و Roberts (۱۹۸۱) طبق معادله زیر اندازه‌گیری شد. در این رابطه n تعداد بذور جوانه‌زده در D امین روز پس از شروع آزمایش و N آخرین روز شمارش را نشان می‌دهند.

$$GR = \frac{\sum_{i=1}^{N} n_i}{\sum_{i=1}^{N} (D_i * n_i)}$$

فعالیت آنزیمی در آغاز جوانه‌زنی (۱۲ ساعت بعد از جذب آب توسط بذر قبل از خروج ریشه‌چه) اندازه‌گیری شد. استخراج عصاره آنزیمی برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز به روش Sudhakar و همکاران (۲۰۰۱) و فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز به روش Karo و Mishra (۱۹۷٦) اندازه‌گیری شد. برای این کار ۰/۲ گرم نمونه گیاهی در یک میلی‌لیتر تریس ۰/۰۵ مولار با پی اچ ۷/۵ در داخل هاون کوبیده شد و سپس ماده هموژنیزه ایجاد شده در داخل دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۲۰ دقیقه و با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. برای استخراج عصاره آنزیمی جهت تعیین فعالیت آسکوربات پراکسیداز به محلول تریس، آسکوربات ۵ میلی‌مولار افزوده شد. بعد از سانتریفیوژ و پس از خارج شدن نمونه‌ها دارای دو فاز مجزا از هم بود که فاز بالایی ایجاد شده در داخل اپندورف برای فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز استفاده شد. برای اندازه‌گیری فعالیت کاتالاز ٦۰ میکرولیتر از عصاره پروتئینی را در ۲/۵ میلی‌لیتر بافر تریس ۵۰ میلی‌مولار با پی اچ ۷ و ۰/۳ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۵ میلی‌مولار در حمام یخ اضافه نموده و میزان جذب در طول موج ۲٤۰ نانومتر قرائت شد. برای پراکسیداز نیز ۵۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی را در ۲/۵ میلی‌لیتر بافر استخراج که شامل بافر تریس ۱۰۰ میلی‌مولار و آب اکسیژنه ۵ میلی‌مولار و پیروگالل ۱۰ میلی-مولار بود در حمام یخ افزوده و میزان جذب در طول موج ٤۲۵ نانومتر قرائت شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۰۵ مولار با پی اچ ۷ و ۰/۲ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۳٪ حجمی حجمی و ۰/۲ میلی‌لیتر آسکوربات ۵ میکرو لیتر در حمام یخ با یکدیگر مخلوط و ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی به آن‌ها افزوده و منحنی تغییرات جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Nakano and Asada, 1981).

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به روش Stewart و Bewley (۱۹۸۰) اندازه‌گیری شد. در این روش ۰/۱ گرم بافت گیاهی در ۵ میلی‌لیتر از بافر فسفات پتاسیم ۰/۰۵ مولار حاوی آب اکسیژنه ۱۰ میلی‌مولار و ۰/۱ میلی‌مولار EDTA مخلوط و به خوبی هموژنیزه شد. عصاره حاصل با ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. سپس، ۱/۸ میلی‌لیتر از بافر استخراج با ۱۰۰ میکرو لیتر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.16.6.1]

از مخلوط NBT (۶-۱۰ ×۷۵ مولار) و متیونین (۰/۰۱۲ مولار)، ۱۰۰ میکرو لیتر از محلول ریبوفلاونین (10^{-6} مولار)، ۵۰۰ میکرولیتر از محلول Na_2CO_3 (۰/۰۵ مولار) مخلوط و سپس ۵۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به آن افزوده شد و تغییرات جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر صورت گرفت. فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز به روش Chance و Maehly (۱۹۵۵) اندازه‌گیری شد. در این روش ۰/۲۵ گرم از بافت گیاهی با ۲/۵ میلی‌لیتر بافر استخراج تریس ۰/۰۵ مولار مخلوط و سپس، ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. سپس، ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵ میلی‌مولار با پی اچ ۷/۸ و ۱۰ میکرولیتر هیدروژن پراکسیداز ۳/٤۱ مولار و ۳ میکرولیتر محلول گایاکول ۲۰۰ میلی‌مولار باهم مخلوط و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به آن‌ها افزوده شد. قرائت نیز در طول موج ٤۷۰ نانومتر صورت گرفت. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گلوتاتیون رداکتاز ۰/۲۵ گرم نمونه گیاهی در ۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار و پی اچ ۷ حاوی سدیم کلرید ۱ نرمال ۱٪ PVP و آسکوربات ۱ میلی‌مولار له کرده، سپس به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۵۰۰۰ دور در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. در ادامه ۰/۱ میلی‌مولار از عصاره آنزیمی در ۳ میلی‌لیتر مخلوط واکنش که شامل تریس ۵۰ میلی‌مولار با پی اچ ۷/٦، $MgCl_2$ ۵ میلی‌مولار، GSSG ۰/۵ میلی‌مولار، NADPH ۰/۲ میلی‌مولار مخلوط کرده و قرائت در طول موج ۳٤۰ نانومتر صورت گرفت (Foyer and Halliwell, 1976). میزان پروتئین نمونه‌ها نیز به روش Bradford (۱۹۷٦) اندازه‌گیری شد. ۰/۲ گرم بافت گیاهی را با ۰/٦ میلی‌لیتر بافر استخراج له‌کرده و به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۱۵۰۰ دور و دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتیریفیوژ شد. سپس محلول رویی شناور در لوله‌های جدید ریخته شده و به مدت ۲۰ دقیقه در٤۰۰۰ دور سانتریفیوژ شده و در نهایت محلول رویی برداشته شد. برای اندازه‌گیری میزان پروتئین ۱۰ میکرولیتر از عصاره بدست آمده را در ۵ میلی‌لیتر محلول برادفورد و ۲۹۰ میکرولیتر بافر استخراج افزوده و میزان جذب در ۵۹۵ نانومتر قرائت گردید.

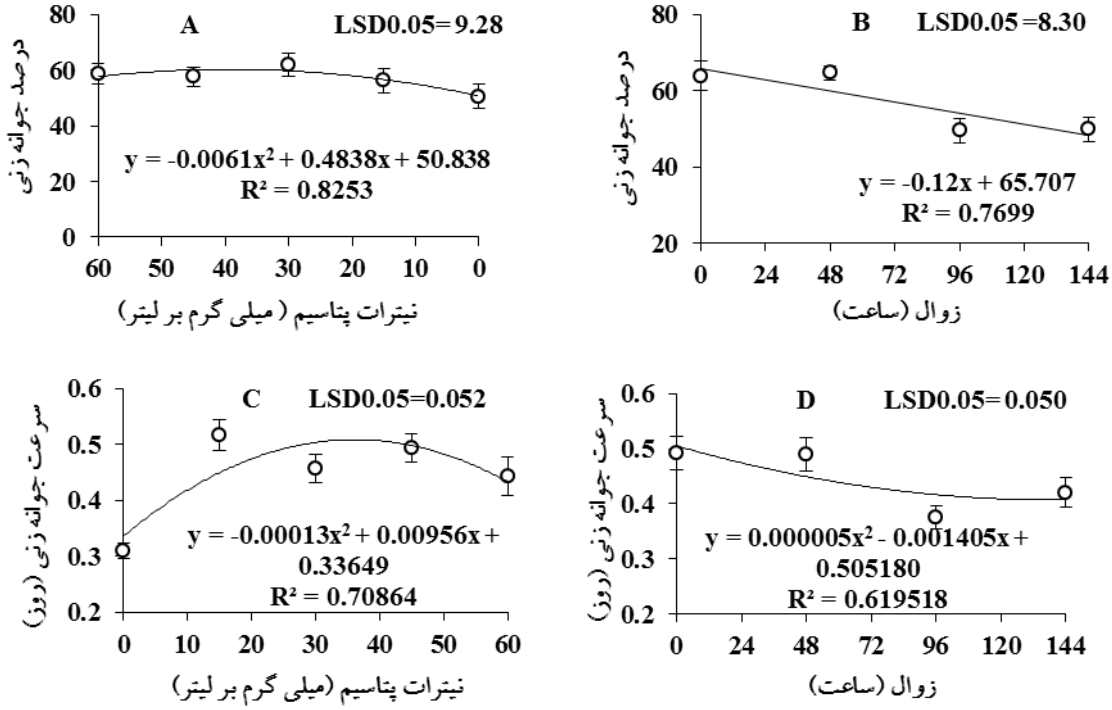
تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت. برای تست نرمال بودن از نرم افزار Minitab و برای نرمال کردن داده‌ها از تبدیل جزری استفاده شد. همبستگی بین صفات نیز با نرم افزار SPSS به روش پیرسون محاسبه شد برای تجزیه رگرسیونی فعالیت هر یک از آنزیم‌ها به درصد و سرعت جوانه‌زنی نرم افزار Minitab مورد استفاده قرار گرفت. در این روش داده‌ها به نرم افزار داده می‌شود و خود نرم افزار به‌صورت خودکار مدل مورد نظر انتخاب و تجزیه را انجام می‌دهد. برای رسم اشکال از نرم‌افزار Excel استفاده شد. تحلیل مسیر نیز با استفاده از نرم‌افزار SPSS صورت گرفت. در ابتدا با استفاده از رگرسیون و روش اینتر مدل را طراحی و سپس مدل بدست آمده به نرم افزار AMOS منتقل شده و نرم افزار تأثیرات مستقیم و غیرمستقیم و کل را پردازش می‌کند (Dewey and Lu, 1959).

نتایج و بحث:

درصد و سرعت جوانه‌زنی: نتایج این پژوهش نشان داد که درصد جوانه‌زنی تحت تأثیر اثرات اصلی تیمار با نیترات پتاسیم (در سطح ۵ درصد) و زوال (در سطح ۱ درصد) قرار گرفت (جدول ۱). با توجه به شکل ۱ مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت نیترات پتاسیم درصد جوانه‌زنی افزایش پیدا کرد و با رسیدن غلظت به ٤۰ میلی‌گرم بر لیتر جوانه‌زنی به بیش‌ترین مقدار خود (٦۰/۵ درصد) رسیده و بعد از آن روند نزولی نشان داد (شکل 1a). تغییرات درصد جوانه‌زنی در طی زوال به صورت خطی بود. با توجه به شب خط و عرض از مبدأ معادله، جوانه‌زنی در شرایط بدون زوال ٦۵/۷ درصد بود و به ازای افزایش هر ساعت زوال جوانه‌زنی ۰/۱۲ درصد کاهش پیدا کرد (شکل ۱، b). سرعت جوانه‌زنی نیز در سطح ۱ درصد تحت تأثیر زوال و نیترات پتاسیم قرار گرفت (جدول ۱). سرعت جوانه‌زنی با مصرف نیترات پتاسیم از رگرسیون درجه ۲ تبعیت کرد. بیش‌ترین سرعت جوانه‌زنی (۰/۵۱ روز) از کاربرد ۳٦/۷ میلی‌گرم در لیتر نیترات پتاسیم مشاهده شد

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.16.6.1]



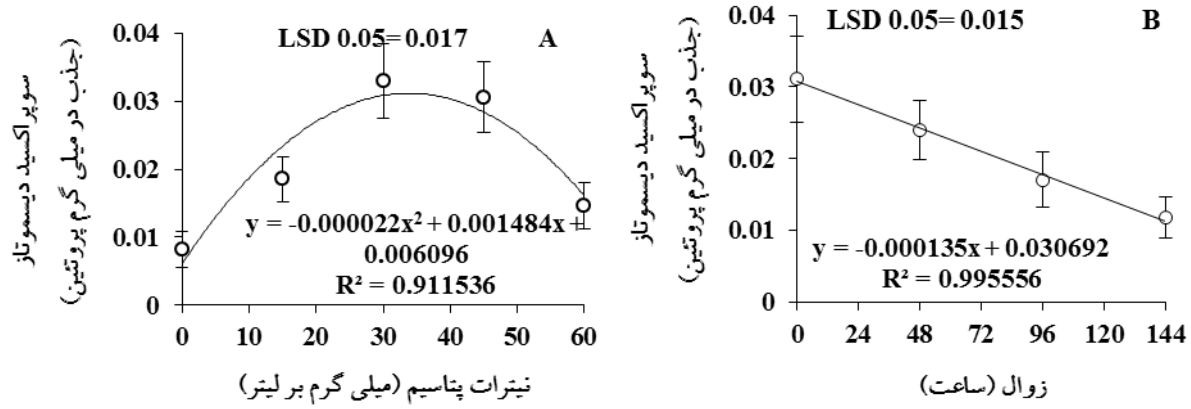
شکل ۱- اثر نیترات پتاسیم بر درصد (a) و سرعت جوانه‌زنی (c) و اثر زوال بر درصد (b) و سرعت جوانه‌زنی (d) ماریتیغال.

(شکل ۱، c). تغییرات سرعت جوانه‌زنی در اثر زوال به صورت معادله درجه دوم بود و با توجه به درون‌یابی معادلات رگرسیونی مشاهده می‌شود، افزایش مدت زمان زوال تا ۱۴۰ ساعت موجب کاهش سرعت جوانه‌زنی شد، ولی بعد از این مقدار سرعت جوانه‌زنی ثابت می‌باشد. بالاترین سرعت جوانه زنی (۰/۵۰ روز) از بذور زوال نیافته و کمترین سرعت جوانه زنی (۰/۴۰ روز) نیز از بذور زوال شده به مدت ۱۴۰ ساعت به دست آمد (شکل ۱، d).

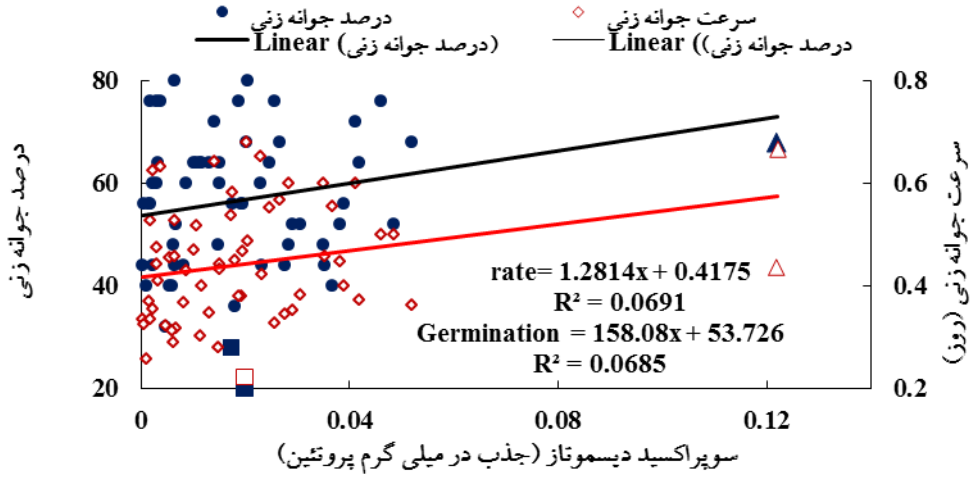
زوال سبب تغییرات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متعدد می‌شود (McDonald, 1999). نتایج این پژوهش نشان داد که زوال درصد و سرعت جوانه‌زنی را کاهش داد. این نتایج با یافته‌های Hsu و همکاران (۲۰۰۳) و همچنین Lin و Sung (۲۰۰۱) مطابقت داشت. کاهش جوانه‌زنی و سرعت آن را می توان به افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدان طی زوال نسبت داد. در بین تیمارهای بهبود دهنده، نیترات پتاسیم ۳۵ تا ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر بیش‌ترین تأثیر را نشان دادند. پرایمینگ سبب کاهش تأثیر زوال و بهبود درصد و سرعت جوانه‌زنی گردید. پرایمینگ با کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و مقدار پروتئین محلول و کاهش میزان مالون دی الدهید و پراکسیداز کل، موجب بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی می‌شود (Hsu *et al.*, 2003). این نتایج با یافته‌های Kibinza و همکاران (۲۰۱۱) نیز مطابقت دارد.

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در طی تیمار با نیترات پتاسیم تغییر معنی‌داری نشان داد (α= ۰/۰۵). فعالیت سوپراکسید دیسموتاز با مصرف نیترات پتاسیم ابتدا روند افزایشی داشت، به‌طوری که بیش‌ترین فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (۰/۰۳۱ تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین) در تیمار با غلظت‌های ۳۳/۵ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد، بعد از این غلظت فعالیت آنزیم مجدداً کاهش یافت (شکل ۲، a). زوال نیز سبب کاهش معنی‌داری در فعالیت این آنزیم شد، به‌طوری که تغییرات این آنزیم در طی زوال به صورت خطی بود و افزایش هر ۱ ساعت در زوال موجب کاهش $۱۳/۵\times۱۰^{-۵}$ تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین در فعالیت این آنزیم شد (شکل ۲، b).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-18]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.16.6.1]



شکل ۲- اثر نیترات پتاسیم (a) و زوال (b) بر تغییرات فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بذور ماریتیغال



شکل ۳- تغییرات درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی در اثر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (در این شکل مربع‌ها به عنوان باقی مانده‌های بزرگ و مثلث‌ها داده‌های غیر نرمال می‌باشد)

تغییرات فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با درصد و سرعت جوانه‌زنی از نوع خطی بود. نتایج نشان داد افزایش در فعالیت سوپراکسید دیسموتاز با افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی همراه است. با توجه به معادلات مربوط به این تجزیه رگرسیونی به ازای هر ۰/۰۱ تغییر در فعالیت آنزیم درصد جوانه‌زنی ماریتیغال ۱/۵۸ درصد و سرعت جوانه‌زنی نیز ۰/۱۲۸ روز تغییر پیدا می‌کند (شکل ۳).

نتایج نشان داد فعالیت سوپراکسید دیسموتاز با درصد و سرعت جوانه‌زنی همبستگی مثبت معنی‌داری دارد (جدول ۲)، براساس نتایج تحلیل مسیر، تأثیر سوپراکسید دیسموتاز بر درصد جوانه‌زنی بیشتر به‌صورت غیرمستقیم است به‌طوری که هر واحد تغییر در فعالیت این آنزیم موجب کاهش ۰/۰۵۱ واحدی در درصد جوانه‌زنی به طور مستقیم و افزایش ۰/۳۱۳ واحدی به‌صورت غیرمستقیم می‌شود (جدول ۳)، این در حالی است که بیشتر تأثیر این آنزیم بر سرعت جوانه‌زنی (۰/۲۴۲) به‌صورت مستقیم است (جدول ٤). با توجه به نتایج همبستگی این آنزیم با آنزیم‌های دیگر می‌توان استنتاج نمود که اگرچه این آنزیم با فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز دارای همبستگی بالایی است، ولی تأثیر غیرمستقیم این آنزیم از طریق سایر آنزیم‌ها و عوامل دیگر اعمال می‌شود (جدول ۳). کاهش رونوشت برداری در ژن‌های مربوط به فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در طی زوال عامل اصلی کاهش فعالیت آن‌ها می‌باشد. در طی زوال فعالیت *RNA* اکسیداز با افزایش میزان هیدروژن پراکسیداز کاهش پیدا می

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-18]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.16.6.1]

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر پیش‌تیمار با نیترات پتاسیم بر روی برخی صفات بذور فرسوده ماریتیغال.

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	سوپراکسید دیسموتاز	کاتالاز	پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز	گلوتاتیون پراکسیداز	گلوتاتیون رداکتاز
نیترات پتاسیم	٤	۳/۰۳۷*	۰/۰٤۷**	۰/۰۲٦۲*	۰/۰۸۳۹*	۰/۱۳۹**	۰/۰۹٦*	۰/۰۲۲۱**	۰/۰۲۲۹*
زوال	۳	۵/۰۰٤**	۰/۰۲٦**	۰/۰۳۹۲*	۰/۱۰٤**	۰/۲۲٦**	۰/۱۲٤*	۰/۰۱۸۷*	۰/۰۱۹۸*
اثرات متقابل	۱۲	۰/۹۹۵	۰/۰۰۳۰	۰/۰۰۱٤	۰/۰۰۱۰	۰/۰۰٤۱	۰/۰۰٦۰	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۷
خطا	٤۰	۰/٦۱۰	۰/۰۰۲٤	۰/۰۰۹۸	۰/۰۲۳۲	۰/۰۳۳٦	۰/۰۳٦	۰/۰۰٤	۰/۰۰٤٦
ضریب تغییرات(درصد)	–	۱۰/٤۲	۷/۵۲	۱۸/٦۸	۹/۳۷	۱۰/۸۵	۱۷/۳۲	۱۵/٤۱	۱۱/۰۵

*، ** به ترتیب معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد

جدول ۲- نتایج همبستگی صفات اندازه‌گیری شده.

	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	سوپراکسید دیسموتاز	کاتالاز	پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز	گلوتاتیون پراکسیداز	گلوتاتیون رداکتاز
درصد جوانه‌زنی	۱							
سرعت جوانه‌زنی	۰/٤۱٦**	۱						
سوپراکسید دیسموتاز	۰/۲٦۲*	۰/۲٦۳*	۱					
کاتالاز	۰/۳٦۲**	۰/۳۵۲**	۰/۲٦٦*	۱				
پراکسیداز	۰/٤۳۱**	۰/٤۰٤**	۰/٤۰٦**	۰/۹۰۸**	۱			
آسکوربات پراکسیداز	۰/٤۲۰**	۰/۲۹۱*	۰/۵۲٦**	۰/۸۱۸**	۰/۸۸۱**	۱		
گلوتاتیون پراکسیداز	۰/۳۷۱**	۰/۲٦۵*	۰/٦۲۵**	۰/۷۱۰**	۰/٦۹٦**	۰/۷٤٤**	۱	
گلوتاتیون رداکتاز	۰/۳۹٦**	۰/۳۳۲**	۰/٤۸۷**	۰/۷۹۱**	۰/۷۵۸**	۰/۸۵۹**	۰/۷۲۰**	۱

*، ** به ترتیب معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.16.6.1]

جدول ۳- نتایج تحلیل مسیر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بر درصد جوانه‌زنی ماریتیغال.

آنزیم‌ها	تأثیرمستقیم	تأثیر غیرمستقیم	کل تأثیر
سوپراکسید دیسموتاز	-۰/۰۵۱	۰/۳۱۳	۰/۲٦۲
کاتالاز	-۰/٤۰۰	۰/٤۰۹	۰/۰۱۰
پراکسیداز	۰/۵٦۸	۰/۰۰۰	۰/۵٦۸
آسکوربات پراکسیداز	-۰/۰۳۷	۰/۲۸۳	۰/۲٤٦
گلوتاتیون پراکسیداز	۰/۱۵۷	۰/۱۸۳	۰/۳٤۰
گلوتاتیون رداکتاز	۰/۲۲٦	۰/۰۳۹	۰/۲٦۵

جدول ٤- نتایج تحلیل مسیر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بر سرعت جوانه‌زنی ماریتیغال.

آنزیم‌های	تأثیر مستقیم	تأثیر غیرمستقیم	کل تأثیر
سوپراکسید دیسموتاز	۰/۲٤۲	۰/۰۲۱	۰/۲٦۳
کاتالاز	۰/۰۰۵	۰/۵۳۳	۰/۵۳۸
پراکسیداز	۰/۷۳۹	۰/۰۰۰	۰/۷۳۹
آسکوربات پراکسیداز	-۰/٦۵۷	۰/٦۳۲	-۰/۰۲٦
گلوتاتیون پراکسیداز	-۰/۱٤٤	۰/۳۰۹	۰/۱٦۵
گلوتاتیون رداکتاز	۰/۳۱۸	-۰/۰۳٦	۰/۲۸۲

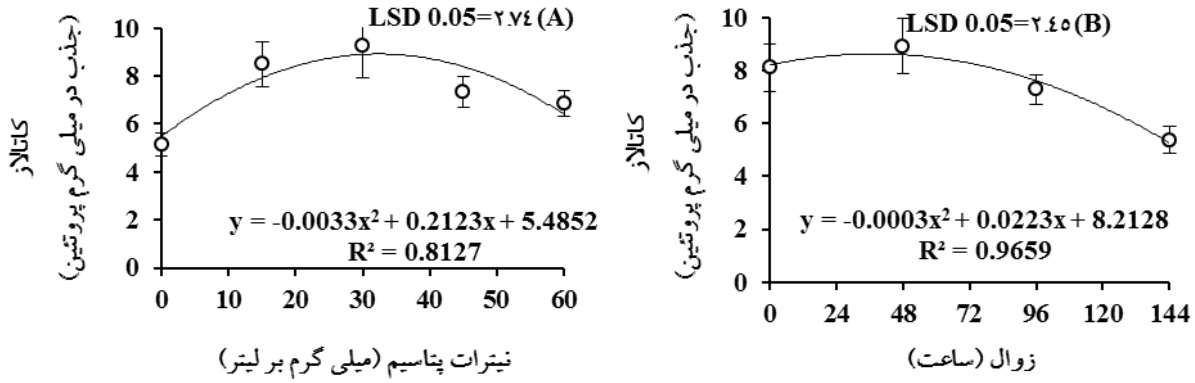
کند. در نتیجه افزایش هیدروژن پراکسیداز و رادیکال‌های آزاد در سیتوپلاسم سلول‌ها در طی زوال، میزان تولید هیدروژن در میتوکندری افزایش و منجر به غیرفعال شدن فعالیت‌های فتوسنتتیک و ایجاد غیر تعادل بین رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدان‌های دفاعی شده و همچنین کاهش پیوستگی پروتئین‌ها در طی آن باعث افزایش حساسیت پروتئین‌ها به آنزیم‌های پروتئولیز کننده و منجر به کاهش قوه‌نامیه بذور می شود (Kibinza *et al.*, 2006; Berlett and Stadtman, 1997)؛ بنابراین تغییرات فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و درصد و سرعت جوانه‌زنی به همین علت است. در پژوهش‌های دیگران نیز به کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و درصد و سرعت جوانه‌زنی در طی زوال گزارش شده است (Goel *et al.*, 2003; Hu *et al.*, 2006).

پرایمینگ با کاهش عوارض زوال موجب ترمیم بیان ژن‌های مربوط به فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سبب افزایش فعالیت آن‌ها می‌شود. همچنین پرایمینگ موجب ترمیم و کاهش خسارت غشاء سلولی شده و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن را کاهش داده و از این طریق می‌تواند موجب افزایش جوانه‌زنی شود. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به‌عنوان اولین گام در مقابله با تنش‌های اکسیداتیو عمل کرده و سبب واکنش رادیکال‌های آزاد و تبدیل آن به هیدروژن پراکسید می‌شود؛ و از این طریق سبب کاهش تأثیر مخرب رادیکال‌های آزاد می‌شود. در ادامه فعالیت دیگر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز سبب حذف هیدروژن پراکسید از سلول می‌شود. فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز با آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون پراکسیداز دارای بیش‌ترین همبستگی می‌باشد. همبستگی فعالیت این آنزیم با دیگر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌تواند به نقش دیگر آنزیم‌ها در زدودن هیدروژن پراکسیداز تولیدی توسط سوپراکسید دیسموتاز مرتبط باشد که هرچه میزان فعالیت این آنزیم بیشتر شود موجب افزایش فعالیت دیگر آنزیم‌های نیز را خواهد شد.

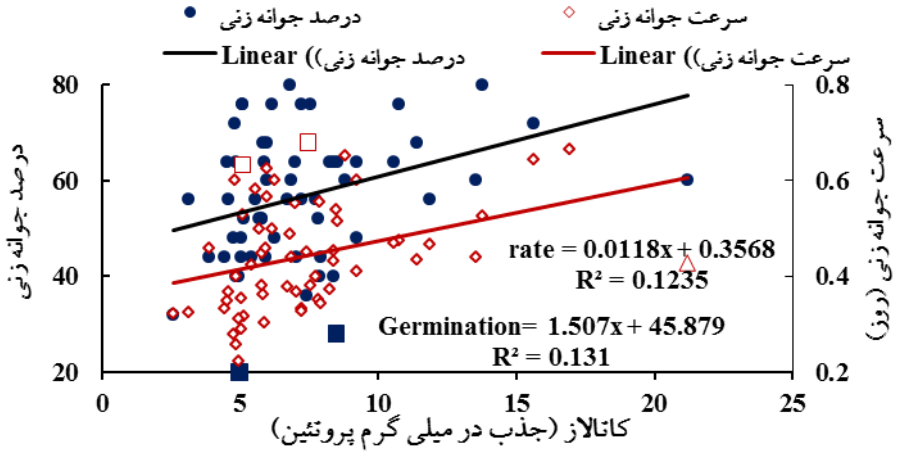
فعالیت آنزیم کاتالاز: فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح ۵ درصد تحت تأثیر نیترات پتاسیم قرار گرفت (جدول ۱). با

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.16.6.1]



شکل ٤- اثر نیترات پتاسیم (a) و زوال (b) بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بذور ماریتیغال.



شکل ٥- تغییرات درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی در طی فعالیت آنزیم کاتالاز (در این شکل مربع‌ها به عنوان باقی مانده‌های بزرگ و مثلث-ها داده‌های غیر نرمال می‌باشد).

توجه به نتایج، مشاهده می‌شود، تغییرات کاتالاز در اثر مصرف نیترات پتاسیم به صورت معادله درجه دوم می‌باشد. مصرف نیترات پتاسیم تا غلظت ۳۲ میلی‌گرم بر لیتر موجب افزایش فعالیت کاتالاز شد و بعد از این غلظت فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش پیدا کرد. غلظت ۳۲ میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم موجب رسیدن فعالیت آنزیم از ٥/٤٨ به ۸/۸۹ تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین شد (شکل a،٤). زوال نیز در سطح ۱ درصد تغییرات معنی‌داری در فعالیت کاتالاز ایجاد نمود (جدول ۱)؛ به‌طوری که در طی زوال فعالیت کاتالاز به صورت تابع درجه دوم تغییر پیدا نمود. سطوح پایین زوال موجب افزایش فعالیت کاتالاز شد به طوری که بالاترین فعالیت این آنزیم (۸/٦۳ تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین) از ۳۷ ساعت زوال مشاهده شد. ولی با افزایش مدت زوال فعالیت کاتالاز کاهش یافت (شکل ٤، b).

با توجه به تغییرات فعالیت کاتالاز و درصد و سرعت جوانه‌زنی موجود در شکل ٥، تغییرات فعالیت آنزیم با درصد و سرعت جوانه‌زنی از نوع خطی بود و افزایش در فعالیت این آنزیم با افزایش در مقدار درصد و سرعت جوانه‌زنی همراه می‌باشد. مطابق معادله درصد جوانه‌زنی با فعالیت آنزیم، به ازای افزایش هر یک تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین در فعالیت کاتالاز، درصد جوانه‌زنی ۱/٥ درصد و سرعت جوانه زنی ۰/۰۱۱ روز نیز می‌تواند افزایش پیدا کند (شکل ٥).

نتایج همبستگی نشان داد، فعالیت کاتالاز با درصد جوانه زنی و سرعت جوانه‌زنی دارای همبستگی مثبت معنی‌دار (α=٪۱) بود. این آنزیم نیز با فعالیت پراکسیداز بالاترین همبستگی را نشان داد (جدول ۲). نتایج تحلیل مسیر نشان

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-18]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.16.6.1]

دادکه کاتالاز بر درصد جوانه‌زنی دارای اثرات مستقیم و غیرمستقیم می‌باشد. اثرات مستقیم این آنزیم بر درصد جوانه‌زنی منفی بود به‌طوری که افزایش یک واحد در فعالیت آنزیم سبب کاهش ۰/٤۰۰ واحد در درصد جوانه‌زنی شد. اثرات غیرمستقیم کاتالاز مثبت بوده و افزایش یک واحد در فعالیت آن سبب افزایش ۰/٤۰۹ واحد در جوانه‌زنی شد که این موجب مثبت بودن تأثیرات نهایی کاتالاز بر جوانه‌زنی است (جدول ۳). همچنین بیش‌ترین تأثیر کاتالاز بر سرعت جوانه زنی به‌صورت اثر غیرمستقیم (۰/۵۳۳) بود (جدول ٤). با توجه به همبستگی بالای آنزیم کاتالاز با پراکسیداز و همچنین همبستگی آن با دیگر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌توان نتیجه گرفت که این آنزیم از طریق دیگر آنزیم‌ها تأثیر خود را بر جوانه‌زنی اعمال می‌کند. کاتالاز به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان باعث تبدیل هیدروژن پراکسید به آب و اکسیژن در سلول می شود. کاتالاز همانند دیگر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در طی زوال بذر به علت اختلال در بیان ژن‌های آن کاهش پیدا می‌کند که این دلیل تغییرات متناسب این آنزیم با درصد و سرعت جوانه زنی است (Kibinza *et al.*, 2011). کاتالاز باعث جلوگیری از فعالیت اکسیداز *ROS* ها شده و افزایش فعالیت آنزیمی آنها موجب افزایش تنزیلات پروتئولیتیکی به علت فلز کادمیوم می‌شود (Shimizu and Kobayashi, 1984; Romero-Puertas *et al.*, 2002). بررسی تغییرات میزان فعالیت کاتالاز در زمان پرایمینگ نشان داده که این آنزیم در طی پرایمینگ در سیتوزول سلولی تجمع پیدا می‌کند که این مرحله همزمان با ایکولیزیشن هیدروژن پراکسیداز است. پرایمینگ موجب افزایش پروتئین بذر و سنتز نوکلئیک اسید شده و اجازه انجام فرآیندهای متابولیکی مختلف موثر در رونوشت برداری از *DNA* یا سنتز اتیلن را می‌دهد(Fu *et al.*, *1988;* Bray, 1995) که در نهایت موجب بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش درصد جوانه‌زنی نیز می‌شود.

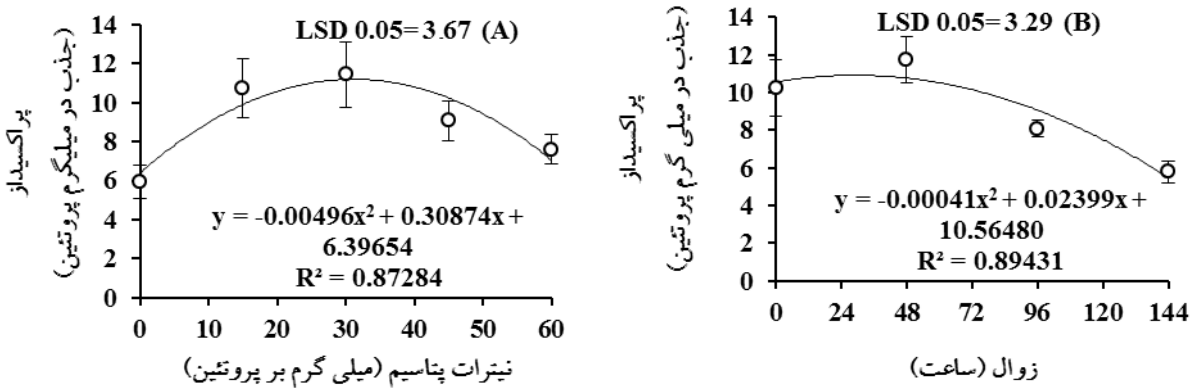
فعالیت آنزیم پراکسیداز: نتایج نشان داد نیترات پتاسیم در سطح ۱ درصد بر فعالیت پراکسیداز اثر معنی‌داری دارد (جدول ۱) تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز در اثر نیترات پتاسیم از معادله درجه دوم تبعیت می‌کند و نیترات پتاسیم سبب افزایش فعالیت این آنزیم شد. بیش‌ترین فعالیت آنزیم (۱۱/٤۵ تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین) با استفاده از ۳۱ میلی‌گرم در لیتر نیترات پتاسیم به دست آمد (شکل ٦، a). زوال سبب کاهش معنی‌داری فعالیت پراکسیداز شد (۱٪ =α) و تغییرات آن با فعالیت آنزیم نیز به‌صورت تابع درجه ۲ بود. همان طوری که در شکل ٦ مشاهده می‌شود. زوال تا ۳۰ ساعت سبب افزایش فعالیت پراکسیداز شد ولی بعد از این مدت کاهش قابل توجه ای در فعالیت پراکسیداز مشاهده شد (شکل ٦ b).

بین فعالیت پراکسیداز و درصد و سرعت جوانه‌زنی یک رابطی خطی وجود دارد. نتایج معادله رگرسیونی نشان داد، افزایش یک تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین می‌تواند افزایش ۱/۲۵ درصد در جوانه‌زنی و ۰/۰۰۹ روز در سرعت جوانه‌زنی را در پی داشته باشد (شکل ۷). فعالیت پراکسیداز با درصد و سرعت جوانه‌زنی دارای همبستگی مثبت معنی‌داری (در سطح ۱ درصد) بود؛ این آنزیم در مقایسه با دیگر آنزیم‌ها دارای بالاترین ضریب همبستگی با درصد و سرعت جوانه‌زنی است (جدول ۲). نتایج تحلیل مسیر نشان داد، آنزیم پراکسیداز دارای بیش‌ترین تأثیر بر درصد جوانه‌زنی (۰/۵٦۸) و سرعت جوانه‌زنی (۰/۷۳۹) در مقایسه با دیگر آنزیم‌ها است که بیشتر این تأثیرات به‌صورت اثرات مستقیم است و پراکسیداز دارای تأثیرات غیرمستقیم نمی‌باشد (جدول ۳ و ٤).

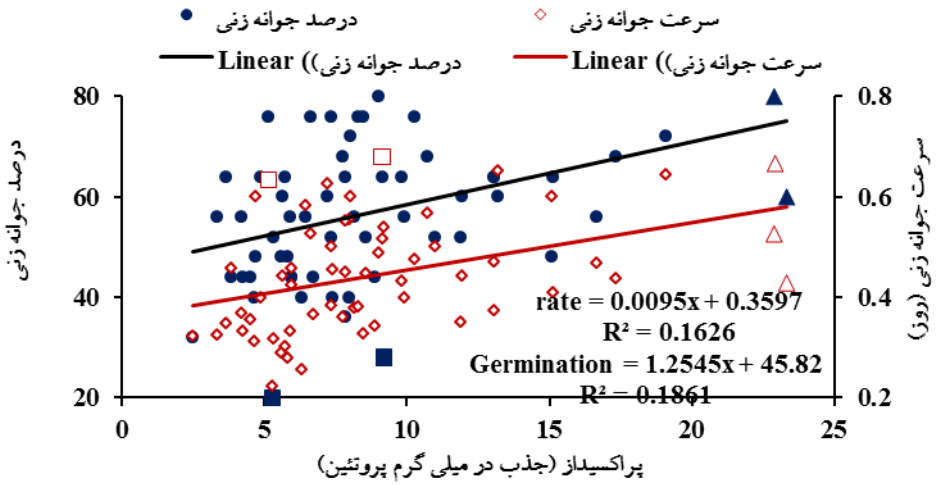
با توجه به این که فعالیت پراکسیداز با کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز دارای بیش‌ترین همبستگی است، شاید تأثیرات غیرمستقیم این آنزیم‌ها از طریق آنزیم پراکسیداز سبب افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی شده و همچنین موجب افزایش تأثیرات آنزیم پراکسیداز نیز شدند. آنزیم پراکسیداز به‌عنوان یکی دیگر از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سبب تجزیه هیدروژن پراکسید به آب و اکسیژن می‌شود. با وجودی که پراکسیداز دارای بیش‌ترین همبستگی و بالاترین تأثیرات بر درصد جوانه‌زنی است، بنابراین می‌توان تجزیه هیدروژن پراکسید تولید شده در اثر فعالیت رادیکال‌های آزاد را به این آنزیم نسبت داد. پراکسیداز در اثر تنش‌های اکسیداتیو کاهش پیدا

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.16.6.1]



شکل ٦- اثر نیترات پتاسیم (a) و زوال (b) بر فعالیت آنزیم پراکسیداز بذور فرسوده ماریتیغال



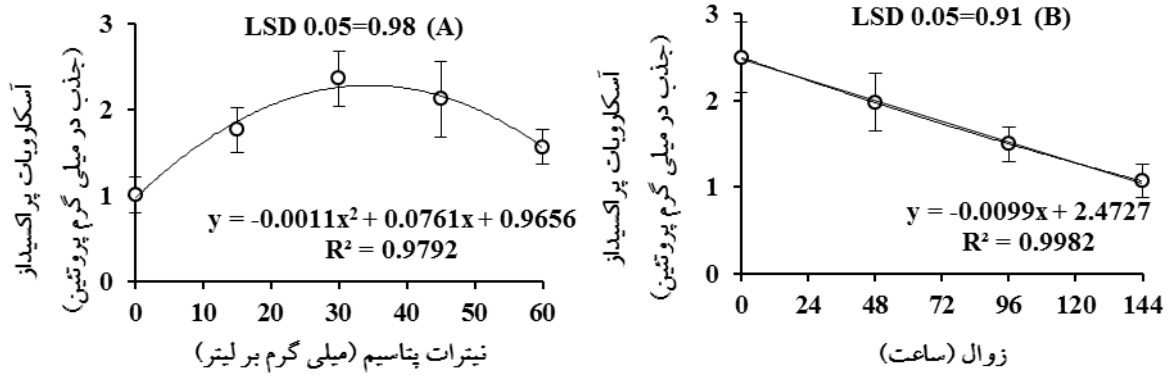
شکل ۷- تغییرات درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی در طی فعالیت آنزیم پراکسیداز (در این شکل مربع‌ها به عنوان باقی مانده‌های بزرگ و مثلث‌ها داده‌ها غیر نرمال می‌باشد).

می‌کند، کاهش فعالیت آن را نیز می‌توان به کاهش رونوشت برداری و آسیب در ساختار *DNA* در طی زوال مرتبط دانست (Fu *et al.*, 1988; Bray, 1995). McDonald (۱۹۹۹) اعلام کرد که در طی زوال فعالیت ایزوآنزیم‌های پراکسیداز کاهش پیدا می‌کند که این موجب تغییرات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی متعددی می‌شود. تجمع ایزوآنزیم‌های پراکسیداز در واکوئل و دیواره سلولی سبب چوبی شدن این قسمت‌ها می‌شود و از این طریق موجب محافظت سلول در طی تنش می‌شود (Gaspar *et al.*, 2001).

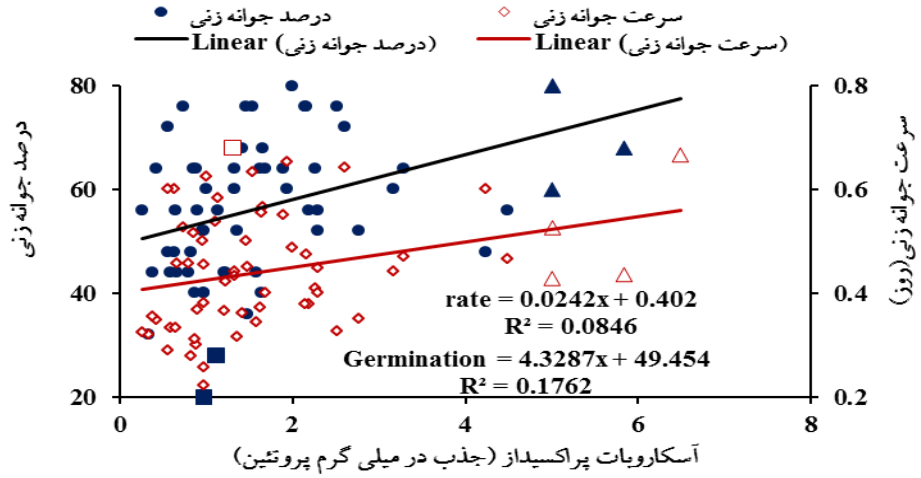
فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح ۵ درصد تحت تأثیر نیترات پتاسیم قرار گرفت (جدول ۱). مصرف نیترات پتاسیم و فعالیت آسکوربات پراکسیداز به‌صورت تابع درجه ۲ بود؛ و مصرف نیترات پتاسیم سبب افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز شد. بیش‌ترین فعالیت آسکوربات پراکسیداز (۲/۲۸ تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین) در غلظت ۳٤ میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم به دست آمد (شکل ۸ a). زوال نیز در سطح ۵ درصد سبب تغییرات معنی‌داری در فعالیت آسکوربات پراکسیداز شد (جدول ۱)، به‌طوری که در طی زوال فعالیت آسکوربات پراکسیداز به صورت خطی کاهش یافت. با توجه به درون‌یابی معادلات رگرسیونی به ازاء افزایش هر یک ساعت در مدت زمان زوال فعالیت آنزیم ۰/۰۰۹ تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین کاهش پیدا می‌کند (شکل ۸ b).

فعالیت آسکوربات پراکسیداز و درصد و سرعت جوانه‌زنی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-18]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.16.6.1]



شکل ۸- اثر نیترات پتاسیم (a) و زوال (b) بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در بذور ماریتیغال

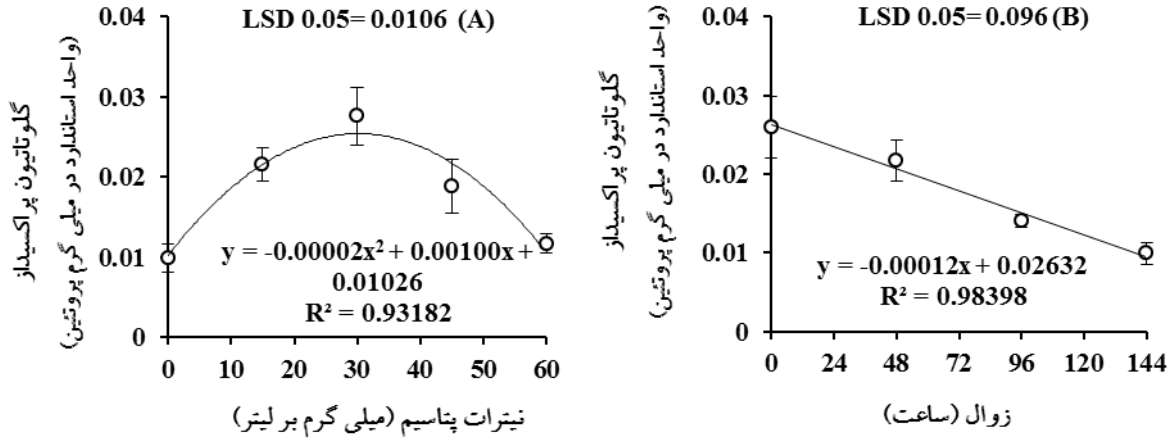


شکل ۹- تغییرات درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی در طی فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (در این شکل مربع‌ها به عنوان باقی مانده‌های بزرگ و مثلث‌ها داده‌ها غیر نرمال می‌باشد).

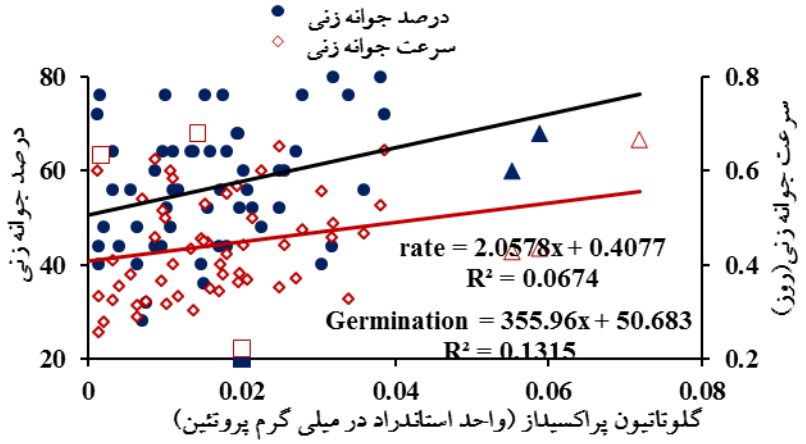
دارای تغییرات مشابه‌ای بود. فعالیت این آنزیم بر درصد جوانه‌زنی و همچنین سرعت جوانه‌زنی از معادله درجه یک پیروی و افزایش در مقدار این آنزیم سبب افزایش در درصد و سرعت جوانه‌زنی می‌شود. با توجه به معادله این آنزیم به ازای تغییر یک واحد در فعالیت آن درصد جوانه زنی ٤/٣٢ درصد و سرعت جوانه‌زنی ٠/٠٢٤ روز تغییر پیدا می‌کند (شکل ۹).

نتایج همبستگی نشان داد که آسکوربات پراکسیداز با درصد و سرعت جوانه‌زنی همبستگی مثبت (در سطح ۱ درصد) دارد (جدول ۲). نتایج تحلیل مسیر نشان داد، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بذر دارای ٠/٢٤٦ تأثیر بر درصد جوانه‌زنی بود که ٠/٠٣٧- مقدار از آن به‌صورت مستقیم بوده که افزایش در مقدار فعالیت این آنزیم سبب کاهش درصد جوانه‌زنی می‌شود. در بین تأثیرات این آنزیم ٠/٢٨٣ مقدار آن‌ها به‌صورت غیرمستقیم است که با توجه به همبستگی این آنزیم با فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز می‌توان تأثیرات غیرمستقیم این آنزیم را مرتبط با فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز دانست (جدول ۳). فعالیت آنزیم بر سرعت جوانه‌زنی دارای ٠/٦٥٧- تأثیر به‌صورت مستقیم و ٠/٦٣٢ به‌صورت غیرمستقیم بود که در نهایت باعث خنثی کردن تأثیرات هم دیگر شد (جدول ٤). آسکوربات پراکسیداز به‌عنوان دیگر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سبب تجزیه هیدروژن پراکسید به آب با استفاده از آسکوربات به‌عنوان بستر عمل می‌کند. در عمل این آنزیم الکترون اضافی موجود در هیدروژن پراکسید به دی هیدروآسکوربات منتقل شده و موجب تولید آب نیز می‌شود.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-18]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.16.6.1]



شکل ۱۰- اثر نیترات پتاسیم (a) و زوال (b) بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز بذور ماریتیغال



شکل ۱۱- تغییرات درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی در طی فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (در این شکل مربع‌ها به عنوان باقی مانده‌های بزرگ و مثلث ها داده‌ها غیر نرمال می‌باشد)

این آنزیم نقش کلیدی در چرخه گلوتاتیون – آسکوربات دارد (Raven, 2000; Noctor and Foyer, 1998).

فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز: فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در سطح ۱ درصد تحت تأثیر نیترات پتاسیم و در سطح ۵ درصد تحت تأثیر زوال قرار گرفت (جدول ۱). با توجه به نتایج در طی زوال فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز کاهش یافته و استفاده از نیترات پتاسیم موجب افزایش فعالیت آن می‌شود. تغییرات فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در طی زوال به صورت خطی است و افزایش هر یک ساعت در مدت زمان زوال موجب کاهش ۱۲×۱۰^{-۵} تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین از فعالیت آنزیم شد. این درحالی‌که در تغییرات مصرف پتاسیم و فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز به‌صورت معادله درجه ۲ بود. با توجه به درون‌یابی معادلات رگرسیونی بالاترین فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (۰/۰۲۵ واحد استاندارد در میلی‌گرم پروتئین) در استفاده از ۲۸ میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم به دست آمد (شکل ۱۰). نتایج مربوط به رابطه رگرسیونی فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیدار با سرعت و درصد جوانه‌زنی نشان داد که بین فعالیت این آنزیم و درصد و سرعت جوانه‌زنی یک رابطی خطی وجود دارد و افزایش یا کاهش در فعالیت این آنزیم موجب افزایش و کاهش هم درصد و هم سرعت جوانه‌زنی می‌شود (شکل ۱۱). نتایج همبستگی نشان داد که فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز با درصد و سرعت جوانه‌زنی دارای همبستگی مثبت معنی‌دار است (جدول ۲). با توجه به نتایج تحلیل مسیر فعالیت آنزیم

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-18]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.16.6.1]

گلوتاتیون پراکسیداز دارای ۰/۳٤۰ تأثیر بر درصد جوانه‌زنی بود که ۰/۱۵۷ مقدار آن به‌صورت مستقیم و ۰/۱۸۳ مقدار آن به‌صورت غیرمستقیم بود (جدول ۳). همچنین فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز با سرعت جوانه‌زنی نیز داری ۰/۱٤٤- تأثیر مستقیم و ۰/۳۰۹ تأثیر غیرمستقیم می‌باشد (جدول ٤). با توجه به همبستگی این آنزیم با فعالیت آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون ردااکتاز می‌توان تأثیرات غیره مستقیم آن را به آنزیم‌های پیش گفته نسبت داد (جدول ٤).

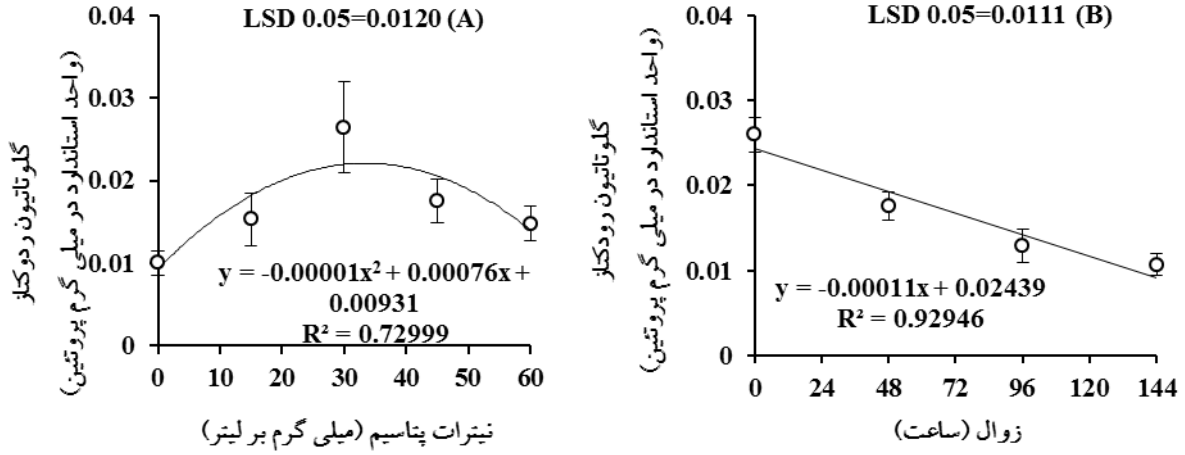
آنزیم گلوتاتیون ردااکتاز به‌عنوان کو فاکتور در فعالیت این آنزیم نقش ایفا می‌کند و همبستگی این آنزیم با گلوتاتیون پراکسیداز به همین خاطر می‌باشد. گلوتاتیون پراکسیداز به‌عنوان کاتالیزور سبب تبدیل گلوتاتیون به گلوتاتیون دی سولفید شده و از این طریق الکترون اضافه‌ی موجود در هیدروژن پراکسید را دریافت و موجب تبدیل آن به آب می‌شود و سبب انتقال الکترون اضافه از هیدروژن پراکسید به آن و تبدیل هیدروژن پراکسید به آب می‌گردد (Hossain *et al.*, 2011). گلوتاتیون بر فعالیت آنزیم دی آسکوربات ردااکتاز که موجب تبدیل دی هیدروآسکوربات به آسکوربات می‌شود تأثیرگذار است که می‌توان همبستگی و تأثیر پذیری آن بر یک دیگر را مربوط به این مورد دانست (Hossain *et al.*, 2011; Krishna and Mugesh, 2010). زوال می‌تواند با ایجاد اختلال در پروتئین‌ها و آنزیم‌ها سبب کاهش کارکرد این چرخه و همچنین کاهش فعالیت آنزیم‌های مرتبط با آن شوند (Kibinza *et al.*, 2006; Berlett and Stadtman, 1997).

فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردااکتاز: تیمار نیترات پتاسیم در سطح ۵ درصد بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردااکتاز تأثیر معنی داری داشت (جدول ۱). با افزایش غلظت نیترات پتاسیم فعالیت آنزیم نیز افزایش یافت. بیش‌ترین فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردااکتاز از کاربرد ۳۸ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد که موجب افزایش فعالیت آنزیم از ۰/۰۰۹۳ به ۰/۰۲٤ واحد استاندارد در میلی‌گرم پروتئین شده بود (شکل ۱۲، الف). زوال نیز بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردااکتاز در سطح ۵ درصد دارای اختلاف معنی‌داری بود (جدول ۱). تغییرات زوال و فعالیت گلوتاتیون ردااکتاز به صورت خطی بوده و افزایش مدت زمان زوال موجب کاهش فعالیت این آنزیم شد. با توجه به شیب خط معادله به ازای افزایش هر یک ساعت در مدت زمان زوال فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردااکتاز 11×10^{-5} واحد استاندارد در میلی‌گرم پروتئین کاهش پیدا می‌کند (شکل ۱۲، ب). نتایج رگرسیون بین فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردااکتاز با درصد و سرعت جوانه‌زنی نشان داد که بین فعالیت آنزیم و این صفات یک رابطی خطی وجود دارد، افزایش و یا کاهش در فعالیت آنزیم به ترتیب موجب افزایش و کاهش مقدار آن‌ها می‌شود (شکل ۱۳).

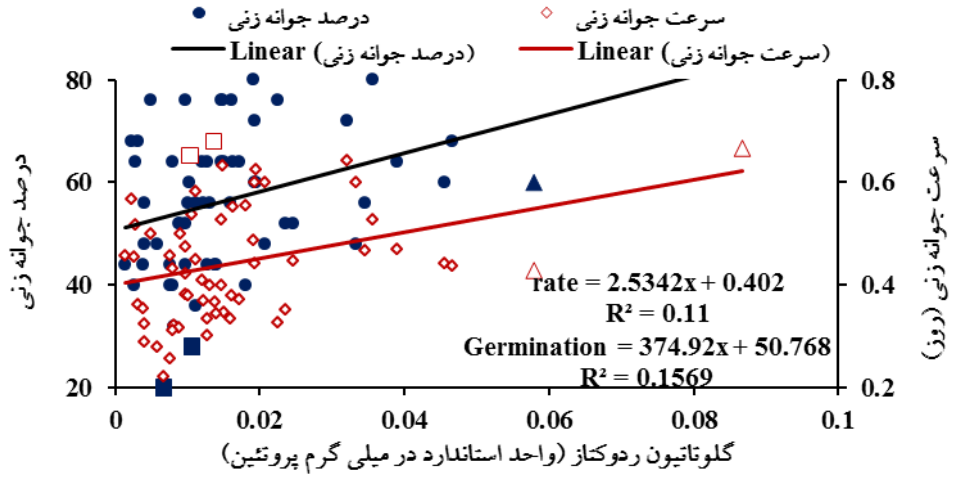
فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردااکتاز با درصد و سرعت جوانه‌زنی همبستگی مثبت معنی‌داری داشت، به‌طوری که ضریب همبستگی با درصد جوانه‌زنی ۰/۳۹۳ و با سرعت جوانه‌زنی ۰/۳۳۲ بود (جدول ۲). همچنین با توجه به نتایج تحلیل مسیر، فعالیت این آنزیم دارای ۰/۲٦۵ تأثیر بر درصد جوانه‌زنی و ۰/۲۸۲ بر سرعت جوانه‌زنی می‌باشد و تغییر یک واحد در میزان فعالیت این آنزیم سبب تغییر ۰/۲٦۵ واحدی در درصد جوانه‌زنی و ۰/۲۸۲ واحد در سرعت جوانه‌زنی می‌شود. در بین تأثیرات فعالیت آنزیم بر درصد جوانه‌زنی ۰/۲۲٦ این تأثیرات مستقیم و ۰/۰۳۹ مقدار آن‌ها غیرمستقیم بود، این در حالی است که در سرعت جوانه‌زنی ۰/۳۱۸ تأثیرات مستقیم و ۰/۰۳٦- غیرمستقیم دارد (جدول ٤). با توجه به همبستگی بالای این آنزیم با فعالیت آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز می‌توان تأثیرات غیرمستقیم این آنزیم را به آن‌ها مربوط دانست. گلوتاتیون ردااکتاز از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شناخته می‌شود ولی این آنزیم به طور مستقیم دارای خواص آنتی اکسیدانی نمی‌باشد. این آنزیم موجب تسریع واکنش معکس واکنش گلوتاتیون پراکسیداز می‌باشد در واقع این آنزیم سبب تبدیل گلوتاتیون دی‌سولفید به گلوتاتیون می‌شود که این عمل آن با مصرف *NADPH* همراه است (Hossain *et al.*, 2011). در واقع این آنزیم موجب تداوم چرخه گلوتاتیون شده و از این طریق به‌صورت غیرمستقیم در تجزیه هیدروژن پراکسید نقش ایفا می‌کند. این آنزیم همانند

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.16.6.1]



شکل ۱۲- اثر نیترات پتاسیم (a) و زوال (b) بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز بذور ماریتیغال.



شکل ۱۳- تغییرات درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی در طی زوال و تیمار با نیترات پتاسیم (در این شکل مربع‌ها به عنوان باقی مانده‌های بزرگ و مثلث‌ها داده‌ها غیر نرمال می‌باشد).

دیگر آنزیم‌ها در طی تنش‌های اکسیداتیو و با تخریب *DNA* فعالیت آن کم می‌شود، همچنین کاهش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز که تولید کننده سوبسترای لازم برای فعالیت این آنزیم است شاید موجب کاهش فعالیت آن نیز شود.

نتیجه‌گیری کلی:

مطابق با نتایج این پژوهش افزایش رادیکال‌های آزاد طی زوال، موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و درصد و سرعت جوانه‌زنی شد. همچنین استفاده از نیترات پتاسیم برای پیش‌تیمار بذور با کاهش عوارض زوال موجب بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و در نتیجه بهبود جوانه‌زنی شد. در بین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان پراکسیداز بیش‌ترین تأثیر و همبستگی را بر درصد و سرعت جوانه‌زنی نشان داد. با توجه به تجزیه رادیکال‌های آزاد توسط آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به هیدروژن پراکسید می‌توان استنباط کرد که پراکسیداز بیش‌ترین سهم را در مقایسه با دیگر آنزیم‌ها در تجزیه هیدروژن پراکسید به آب و اکسیژن دارا می‌باشد. همچنین سرعت جوانه‌زنی در مقایسه با درصد جوانه‌زنی به فعالیت آنزیمی بیشتری برای تغییرات نیازمند بود که این می‌توان به حساسیت بیشتر آن به تنش‌های اکسیداتیو نسبت داده شود.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-18]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.16.6.1]

منابع:

Alscher, R. G., Erturk, N. and Heath, L. S. (2002) Role of superoxide dismutase in controlling oxidative stress in plants. Journal of Experimental Botany 53: 1331–1341.

Berlett, B. S. and Stadtman, E. R. (1997) Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress, Journal of Biological Chemistry 272: 20313-20316.

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

Bray, C. M., (1995) Biochemical processes during the osmo priming of seeds, in: Seed Development and Germination, (Eds. Kigel, Y. and Galili, G.), Pp. 767-789. Marcel Dekker, New York,

Chhetri, D. R, Rai, A. S. and Bhattacharjee, A. (1993) Chemical manipulation of seed longevity of four crop species in an unfavourable storage environment. Seed Science and Technology 21: 31-44

Demir, I.V. and Venter, H.A. (1999) The effect of priming treatments on the performance ofwatermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum and Nakai) seeds under temperature and osmotic stress. Seed Science and Technology 27: 871–875.

Dewey, D.R., and Lu, K.I. (1959) A correlation and path coefficient analysis of components of crested wheat grass seed production. Agronomy Journal 51: 515-518.

Ellis, R. H. and Roberts, E. H. (1981) The quantification of aging and survival in orthodox seeds. Seed Science and Technollogy 9: 377-409.

Foyer, C.H. and Halliwell, B. (1976) The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism. Plantarom 133: 21-25.

Fu, J.R., Lu, S.H., Chen, R.Z., Zhang, B.Z., Liu, Z.S. and Cai, D.Y. (1988) Osmo conditioning of peanut (*Arachis hypogaea* L.) seed with PEG to improve vigor and some biochemical activities, Seed Science and Technology 16:197-212.

Gaspar, T., Penel, C., Castillo, F.J. and Greppin, H. (2001) A two-step control of basic and acidic peroxidases and its significance for growth and development. Plant Physiology 64: 418- 423.

Gholami Tilebeni, H. and Golpayegani, A. (2011) Effect of seed ageing on physiological and biochemical changes in rice seed (*Oryza sativa* L.) International Journal Agricultuare Science 1: 138-143

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

Horling, F., Lamkemeyer, P., Konnig, J., Finkemeir, I., Kandlbinder, A., Baier, M. and Dietz, K. (2003) Divergent light, ascorbate and oxidative stress-dependent regulation of expression of the peroxiredoxin gene family in arabidopsis. Plant Physiology 131: 317-325.

Hossain, M. A., Silva, J. A. T. and Fujita, M. (2011) Glyoxalase system and reactive oxygen species detoxification system in plant abiotic stress response and tolerance: an intimate relationship, in Abiotic Stress in Plants-Mechanisms and Adaptations, A. K. Shanker and B. Venkateswarlu, Eds., pp. 235– 266, INTECH-Open Access Publisher, Rijeka, Croatia,.

Hsu, C. C., Chen, C. L., Chen, J. J., and Sung, J. M. (2003) Accelerated aging-enhanced lipid peroxidation in bitter gourd seeds and effects of priming and hot water soaking treatments. Scientia Horticulture. 98: 201-212.

Hu, J., Xie, X.J., Wang, Z.F. and Song, W.J. (2006) Sand priming improves alfalfa germination under high salt concentration stress. Seed Science and Technology 34: 199-204

Karo, M., and Mishra, D. (1976). Catalase, peroxidase and polyphenol oxidase activity during rice leaf senescence. Plant Physiology 57: 315-319.

Kibinza, S., Bazin, J., Bailly, C. H. Farrant, J. M., Corbineau, F. and Maarouf-Bouteau, H. E. (2011) Catalase is a key enzyme in seed recovery from ageing during priming, Plant Science 181: 309-315.

Kibinza, S., Vinel, D., Come, D., Bailly, C. and Corbineau, F. (2006) Sunflower seed deterioration as related to moisture content during ageing, energy metabolism and active oxygen species scavenging, Physiology Plant 128: 496-506.

Krishna, P., Mugesh, B. G. (2010) Functional Mimics of Glutathione Peroxidase: Bio inspired Synthetic Antioxidants. Accounts of Chemical Research 43: 1408–1419.

Lin, J. M. and Sung, J. M., (2001) Pre-sowing treatments for improving emergence of bitter gourd seedlings under optimal and sub-optimal temperatures. Seed Science and Technology 29: 39-50.

Maehly, B., and Chance, A. (1954) Assay of catalase and peroxidase. Methods of Biochemical Analysis 1: 357-424

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

Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach hloroplast. Plant Cell Physiology 22: 867-880.

Noctor, G. and Foyer, C. H. (1998) Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under Control. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 49: 249–279.

Peltzer, D., Dreyer, E. and Polle, A. (2002) Differential temperature dependencies of antioxidative enzymes in two contrasting species: *Fagus sylvatica* and *Coleus* blumei. Plant Physiology and Biochemistry 40:141-150.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.16.6.1]

Silymarin, the antioxidant component and Silybum marianum extracts prevent liver damage. Food and Chemical Toxicology 48: 803-806.

Shimizu, N. and Kobayashi, K., (1984) The reaction of superoxide radical with catalase. Mechanism of the inhibition of catalase by superoxide radical. Journal Biology and Chemyistry 259: 4414 - 4418.

Sindel, B. M. (1991) A review of the ecology and control of thistles in Australia. Weed Reserch 31: 189-201.

Stewart, R. R. C. and Bewley, J. D. (1980) Lipid peroxidation associated aging of soybean axes. Plant Physiology 65: 245-248.

Sudhakar, C., Lakshmi, A. and Giridarakumar, S., (2001) Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Mours alba* L.) under NaCl salinity, Plant Science 167: 613-619.

Wise, R. R. and Naylor, A. W. (1987) Chilling-enhanced peroxidation: the peroxidative destruction of lipids during chilling injury to photosynthesis and ultrastructure, Plant Physiology 83:227-272.

Powell, A. A., Yule, L. J., Jing, H.C., Groot, S. P. C., Bino, R. J., Pritchard, H.W. (2000) The influence of aerated hydration seed treatment on seed longevity as assessed by the viability equations. Journal of Experimental Botany 51: 2031–2043

Ramasamy, K. and Agarwal, R. (2008) Multitargeted therapy of cancer by silymarin. Cancer Letters 269: 352-362.

Raven, E. L. (2000) Peroxidase-catalyzed oxidation of ascorbate. Structural, spectroscopic and mechanistic correlations in ascorbate peroxidase. Subcell. Biochemistry. 35: 317–349.

Romero-Puertas, M.C., Palma, J. M., Gomez, M., Del Rio, L.A., and Sandalio, L.M. (2002) Cadmium causes the oxidative modification of proteins in pea plants. Plant Cell Environment 25: 677- 686.

Sedghi, M., Nemati, A., Amanpour-Balaneji, B. and Gholipouri, A. G. (2010) Influence of different priming materials on germination and seedling establishment of Milk Thistle (*Silybum marianum*) under Salinity Stress .World Applied Science Journal 11: 604-609.

Shaker, E., Mahmoud, H. and Mnaa, S. (2010)

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.16.6.1]

Effect of potassium nitrate on antioxidant enzymes activity of aged milk thistle (*Silybum marianum*) seeds

Ali Ebadie*, Ghasem Parmoon and Soodabe Jahanbakhsh[1]

[1] Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili
(Received: 22 October 2014, Accepted: 10 June 2015)

Abstract:

Seed aging increases activity of reactive oxygen molecules and antioxidant enzymes have a key role against increased oxidative stress which is caused by free radicals. Effect of seed priming on increasing of these enzymes activity and its impacts on seed germination characteristics of deteriorated milk thistle seeds was studied in a factorail experiment based on Complete Randomized Design (CRD) with three replications in University of Mohaghegh Ardabili in 2013. Priming treatment was done in five levels (0, 15, 30, 45 and 60 mg per liter potassium nitrate) and seed aging by 95% relative humidity and 45 ° at four levels (non-aging, 48, 96 and 144 hours aging). The results showed that enhancing seed aging reduced the activity of antioxidant enzymes, superoxide dismutase (62%), catalase (34%), peroxidase (43%), ascorbate peroxidase (57%), glutathione peroxidase (61%) and glutathione reductase (58%), which eventually led to a decrease in germination percentage (25%) and germination rate (15%). Seed priming reduced aging effects and increased the activity of antioxidant enzymes, which eventually led to an increase in germination. The concentration of 30- 40 mgL^{-1} potassium nitrate showed the greatest impact. Regression results showed that the enzyme activity follows a linear relationship with the percentage and rate of seed germination. According to path analysis results, the antioxidant enzymes had direct and indirect effects on the germination rate and germination percent respectively, during changes in free radicals activity, so that the peroxidase activity had the greatest impact on the germination percent and rate (0.56 0.73 respectively).

Keyword: priming, potassium nitrate, superoxide dismutase, catalase, milk thistle**.**

*corresponding author, Email: ebadi@uma.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.16.6.1]