DOI: 10.22034/ijsst.2017.108248

"نشریه علوم و فناوری بذر ایران"
جلد پنجم، شماره ۲، پائیز و زمستان ۹۵
شماره صفحه: ۱۹۸- ۱۸۱

اثر سیتوکینین بر خصوصیات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان بذرهای زوال یافته بادام زمینی تحت تنش خشکی

علی سپهری[1*] و حسین رضا روحی[2]

۱- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا همدان

۲- دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا همدان

چکیده

به‌منظور بررسی اثر سیتوکینین در بهبود وضعیت بذرهای زوال یافته بادام زمینی تحت تنش خشکی آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف سیتوکینین شامل صفر (پیش‌جوانه‌دار شده با آب)، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ قسمت در میلیون (ppm) در سطوح خشکی صفر، ۰/۴-، ۰/۶- و ۰/۸- مگاپاسکال مورد ارزیابی قرار گرفت. شاخص‌های درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، متوسط زمان جوانه‌زنی، بنیه بذر، طول گیاهچه، هیدرات‌های کربن محلول، پروتئین‌های محلول، هدایت الکترولیتی غشاء، مالون دی‌آلدهید، فعالیت آنزیم های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز بررسی شد. نتایج نشان داد پیش‌تیمار بذرها با غلظت‌های مختلف سیتوکینین، کاهش معنی‌دار پارامترهای جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای بذرهای زوال یافته بادام زمینی را تحت تنش خشکی بهبود بخشید. به‌طوری‌که در پتانسیل ۰/۸- مگاپاسکال، پیش‌تیمار بذرها با ۱۰۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین سبب افزایش جوانه‌زنی، شاخص بنیه بذر، هیدرات‌های کربن و پروتئین‌های محلول به‌ترتیب به‌میزان ۰/۶۵، ۱/۷۳، ۱/۰۹، ۱/۰۵ و برای ۱۵۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین ۱/۳۷، ۴/۱۵ ، ۲/۵ و ۲/۸۵ برابر و برای فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز به‌ترتیب حدود ۱۵/۹۲، ۱۷/۳۵،۳۳/۱۳ و ۲۵/۴۷، ۱۷/۹۶، ۴۵/۱۹ درصد نسبت به شاهد گردید. بنابراین پیش‌تیمار سیتوکینین به‌ویژه در غلظت۱۵۰ قسمت در میلیون (ppm) با کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی در بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای بذرهای زوال یافته بادام زمینی مؤثر است.

کلمات کلیدی: تنش اکسیداتیو، جوانه‌زنی، زوال بذر، سیتوکینین.

مقدمه

بادام زمینی (*Arachis hypogaea* L.) گیاهی است یکساله، متعلق به تیره نیامداران که عمدتاً در مناطق گرمسیر و نیمه‌گرمسیر کشت شده و از لحاظ روغن و پروتئین کیفیت بالایی دارد و به مقدار زیاد مورد مصرف انسان قرار می‌گیرد (Hou *et al.*, 2014). بذر این گیاه دارای ۴۰ تا ۵۰ درصد روغن بوده که از اسیدهای چرب اشباع مانند اسید پالمتیک، اسید استئاریک و اسیدهای چرب غیراشباع مانند اسید اولئیک و اسید لینولئیک تشکیل شده است (Nautiyal, 2009). اکسیداسیون سریع اسیدهای چرب غیراشباع به‌ویژه اسید لینولئیک ماندگاری بذرها را به‌شدت کاهش داده و منجر به زوال سریع بذر و کاهش بنیه بذر در طول دوره خشک کردن و انبارداری می‌گردد (Nautiyal, 2009; Hou *et al.*, 2014). بنابراین یکی از مشکلات کشت آن، کاهش

*نویسنده مسئول: علی سپهری، نشانی: همدان، دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت و اصلاح نباتات
E-mail: sepehri110@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۳/۰۱
تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۰۸/۱۱

درصد جوانه‌زنی و ظاهرشدن گیاهچه بذرهای بادام زمینی در مزرعه به‌دلیل عدم رعایت این اصول می باشد. به‌طوری که در برخی مناطق کشاورزان دو تا سه بار اقدام به کشت بذر نموده که منجر به افزایش هزینه تولید محصول می‌شود (Nourhosseini niaki *et al.*, 2013). با گذشت حدود یک قرن از کشت بادام زمینی در ایران تا کنون اقدام مؤثری جهت بهبود فرآیندهای خشک کردن، نگهداری و حفظ قوه نامیه بذر آن صورت نگرفته است. از سوی دیگر خشکی به عنوان یکی از عوامل مهم محدودکننده تولید گیاهان زراعی فشار مضاعفی را درخصوص جوانه‌زنی، سبزشدن و بنیه بذرهای زوال یافته ایجاد می‌کند (Jisha *et al.*, 2013). به‌طوری که در بذرهای زوال یافته، جوانه‌زنی، ظاهرشدن و رشد گیاهچه با مشکل جدی مواجه می‌شود (Kapoor *et al.*, 2010). در بهبود این وضعیت مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی می‌توانند با تأثیر بر فرآیندهای جوانه‌زنی و رشد و نموی گیاه مؤثر واقع شوند (Miransari and Smith, 2014). از جمله این تنظیم کننده‌های رشد می‌توان به سیتوکینین‌ها اشاره نمودکه کنترل طیف وسیعی از فرآیندهای گیاهی نظیر نموجنین، جوانه‌زنی، فعالیت سلول‌های مریستمی ریشه و اندام‌های هوایی را برعهده دارند (Heyl *et al.*, 2012; Miransari and Smith, 2014). سیتوکینین‌ها در تمام مراحل جوانه‌زنی بذرها فعال بوده و قادرند خسارات وارده به بذرها که در نتیجه تنش‌های اکسیداتیو، خشکی و شوری ایجاد می‌شود را به حداقل برسانند (Peleg and Blumwald, 2011; Miransari and Smith, 2014). مطالعات اخیر نشان داده تیمار بذرهای زوال یافته برنج (*Oryza sativa*) با هورمون‌های رشد نظیر سیتوکینین در بهبود پارامترهای جوانه‌زنی مؤثر است (Jisha *et al.*, 2013). خان و همکاران (Khan *et al.*, 2011) نیز گزارش کردند، پیش‌تیمار هورمونی بذرهای گندم (*Triticum aestivum*) درصد سبزشدن، طول ریشه، طول ساقه و شاخص ظهور گیاهچه‌ها را افزایش داده است. همچنین بذرهای زوال یافته آگروپایرون (*Agropyron elongatum*) که با سیتوکینین پیش‌جوانه‌دار شده بودند در مقایسه با بذرهای پیش‌جوانه‌دار نشده، بنیه و کارآیی بالاتری در شرایط تنش و عدم‌تنش خشکی داشتند (Eisvand *et al.*, 2010). ژانگ و همکاران (Zhang *et al.*, 2014) نیز بهبود صفاتی نظیر درصد و شاخص جوانه‌زنی را در بذرهای زوال یافته گوجه فرنگی در نتیجه پیش‌جوانه‌دارکردن گزارش کردند. سیادت و همکاران (Siadat *et al.*, 2015) پیش‌تیمار سیتوکینین را بر درصد جوانه‌زنی، متوسط زمان جوانه‌زنی، طول ریشه، طول ساقه و شاخص بنیه بذرهای زوال یافته گیاه خار مریم (*Silybum marianum*) مؤثر دانستند. در این راستا هدف از این آزمایش، یافتن راهکاری برای تقویت جوانه‌زنی و بنیه بذرهای زوال یافته بادام زمینی و کاهش اثر سوء ناشی از تنش خشکی با استفاده از پیش‌تیمار هورمون سیتوکینین بوده است.

مواد و روش ها

این تحقیق در آزمایشگاه فیزیولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا با استفاده از رقم کارولینای شمالی۲ (North Carolina 2) بادام زمینی انجام شد. بذر گواهی شده از بخش تحقیقات اصلاح بذر و نهال مرکز تحقیقات کشاورزی گیلان در سال ۱۳۹۳ تهیه شد. قوه نامیه بذرهای مورد آزمایش قبل از اعمال پیری تسریع‌شده براساس آزمون جوانه‌زنی استاندارد، به روش بین کاغذ (Between paper) به-

مدت ۱۲روز در دمای ۲۵درجه سانتی‌گراد مورد ارزیابی قرار گرفت (ISTA, 2007) و مشخص شد که قوه‌نامیه بذرها ۹۵ درصد بود. برای انجام پیری تسریع شده، ۵۰ عدد بذر روی توری‌های فلزی در ظروف مخصوص و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد با رطوبت نسبی حدود ۱۰۰درصد به‌مدت ۹۶ ساعت نگه‌داری شدند(Delouche and Baskin, 1973). سپس بذرهای پیرشده در محلولی با غلظت‌های صفر (پیش‌جوانه‌دار شده با آب)، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ قسمت در میلیون (ppm) از هورمون سیتوکینین به‌مدت ۱۸ ساعت قرار گرفتند. به‌دنبال آن بذرها پس از شستشو باآب مقطر به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق خشک شدند. سپس نیمی از بذرها جهت آزمون هدایت الکتریکی و نیمی دیگر برای آزمون جوانه‌زنی استاندارد استفاده شدند. اندازه‌گیری هدایت الکتریکی محلول بذرها با استفاده از دستگاه هدایت سنج الکتریکی (CyberScan PC 510) انجام شد. برای این منظور از ۵۰ بذر در چهار تکرار برای هر تیمار استفاده گردید. ابتدا وزن خشک بذرها توسط ترازوی با دقت یک‌صدم گرم (Sartorius BA310S) اندازه‌گیری شد. سپس بذرها به ارلن‌های حاوی۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر منتقل و توسط پلاستیک تیره پوشانده و در ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت ظروف حاوی آب و توده بذر از ژرمیناتور خارج و محلول به آرامی به‌مدت ۱۵ تا۲۰ ثانیه همزده شد، دمای محلول زمان اندازه‌گیری هدایت الکتریکی ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود. هدایت الکتریکی آب مقطر (شاهد) نیز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تعیین و از مقدار هدایت الکتریکی حاصل از هر تیمار کسر شد (Hampton and TeKrony, 1995). میزان هدایت الکتریکی برحسب وزن بذر مربوط برای هر نمونه با استفاده از رابطه (۱) تعیین گردید:

(رابطه ۱):

وزن‌بذر (g) / هدایت‌الکتریکی آب‌مقطر($\mu S.cm^{-1}$) – هدایت‌الکتریکی محلول بذر ($\mu S.cm^{-1}$) = هدایت-الکتریکی ($\mu S.cm^{-1}g^{-1}$)

به‌منظور اِعمال تنش خشکی از محلول پلی اتیلن گلایکول ۶۰۰۰ در غلظت‌های صفر (آب مقطر)، ۰/۴-، ۰/۶- و ۰/۸- مگاپاسکال (MPa) استفاده شد (Michel and Kaufmann, 1973). خروج ریشه‌چه به اندازه دو میلی‌متر به‌عنوان معیار جوانه‌زنی بذرها در نظر گرفته شد(ISTA, 2007). در پایان آزمایش طول گیاهچه اندازه‌گیری شد و نمونه‌گیری به منظور تعیین پارامترهای فیزیولوژیکی مورد نظر صورت گرفت. درصد جوانه‌زنی نهایی از رابطه (۲) محاسبه شد (Yan, 2015):

(رابطه۲):

$$FGP = \left(\frac{Ni}{N}\right) \times 100$$

Ni: تعداد کل بذرهای جوانه‌زده در روز آخر شمارش N: تعداد کل بذرها

متوسط زمان جوانه‌زنی(MGT) از رابطه (۳) محاسبه شد(Ellis and Roberts, 1981) :

(رابطه ۳):

$$MGT = \sum Dn/n$$

در رابطه فوق، n تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز Dاُم و D تعداد روزهای شمارش از آغاز جوانه‌زنی می باشد. سرعت جوانه‌زنی با استفاده رابطه (۴) محاسبه شد:

(رابطه ۴): $GR = 1/MGT$

شاخص بنیه‌طولی گیاهچه (VI) نیز از رابطه (۵) محاسبه شد(Rahnama-Ghahfarokhi and Tavakkol-Afshari, 2007):

(رابطه ۵): $VI = \sum(FGP \times SL)/100$

FGP: درصد جوانه‌زنی نهایی SL: طول گیاهچه

اندازه‌گیری هیدرات‌های کربن محلول به‌روش آنترون (Irigoyen *et al.*, 1992) انجام شد. پروتئین-های محلول به روش برادفورد (Bradford, 1976) تعیین و اندازه‌گیری محتوای مالون دی‌آلدهید (شاخص پراکسیداسیون چربی) به‌روش کاوال‌کانتی (Cavalcanti *et al.*, 2004) صورت گرفت. فعالیت آنزیم کاتالاز (با ضریب خاموشی ۳۹/۴ میلی مول بر سانتی‌متر) به روش اسپکتروفتومتری و بر اساس میزان مصرف پراکسیدهیدروژن در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و به‌صورت واحد آنزیم (یک میکرومول پراکسیدهیدروژن تجزیه شده در دقیقه) بر میلی‌گرم پروتئین بیان گردید (Cakmak and Horst, 1991). فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز نیز به روش اسپکتروفتومتری و بر اساس میزان توانایی آنزیم در ممانعت از احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم درطول موج ۵۶۰ نانومتر به‌صورت واحد آنزیم (یک واحد سوپراکسیددیسموتاز در ممانعت از احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم در دقیقه) بر میلی‌گرم پروتئین گزارش شد(Giannopolitis and Ries, 1977). فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (با ضریب خاموشی ۲/۸ میلی مول بر سا نتی‌متر) به روش اسپکتروفتومتری و بر اساس میزان اکسیداسیون آسکوربات درطول موج ۲۹۰ نانومتر اندازه‌گیری و به‌صورت واحد آنزیم (یک میکرومول آسکوربات اکسید شده در دقیقه) بر میلی‌گرم پروتئین گزارش گردید (Nakano and Asada, 1981). آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی انجام و از تبدیل آرک-سینوس (arcsin) جهت نرمال کردن داده‌های درصد جوانه‌زنی استفاده شد. تجزیه واریانس داده‌ها و تعیین ضرایب همبستگی با استفاده از نرم افزار SAS, 9.1 صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون LSD درسطح احتمال پنج و یک درصد انجام شد. همبستگی بین صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک با روش پیرسون توسط نرم افزار SAS, 9.1 محاسبه شد.

نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی

اثر اصلی تنش خشکی و پیش‌تیمار به‌همراه اثرمتقابل آن‌ها بر درصد جوانه‌زنی در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). بیشترین درصد جوانه‌زنی در شرایط بدون تنش و با پیش تیمار سیتوکینین (۷۴/۳۳ درصد) در غلظت ۱۵۰ قسمت در میلیون (ppm) و پیش‌جوانه‌دار با آب حاصل گردید (جدول ۲). کمترین درصد جوانه‌زنی در شرایط تنش خشکی و عدم پیش‌جوانه‌داری (۱۹/۳۳ درصد) مشاهده شد. تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی در بذرهای پیش‌جوانه‌دارشده و پیش‌جوانه‌دار نشده گردید و با افزایش شدت تنش درصد جوانه‌زنی کاهش بیشتری یافت اما روند اُفت درصد جوانه‌زنی بذرهای پیش‌جوانه‌دار شده نسبت به بذرهای پیش‌جوانه‌دار نشده کمتر بود (جدول ۲). در بین تیمارهای پیش‌جوانه‌دار، سیتوکینین با غلظت ۱۵۰ قسمت در میلیون (ppm) بیشترین اثر را از خود نشان داد و درصد جوانه‌زنی را در پتانسیل ۰/۴- مگاپاسکال ۱۲ درصد، پتانسیل ۰/۶- مگاپاسکال ۲۰

درصد و در پتانسیل ۰/۸- مگاپاسکال به‌میزان ۱۳/۳ درصد نسبت به بذرهای بدون پیش‌جوانه‌دار (شاهد) افزایش داد (جدول ۲). جیوتی و مالیک (Jyoti and Malik, 2013) گزارش کردند، یکی از علائم زوال در بذرهای پیرشده کاهش درصد جوانه‌زنی است به‌خصوص هنگامی‌که بذرها در معرض تنش‌هایی مانند خشکی و شوری قرار گیرند.

از آنجا که سیتوکینین نقش مهمی در فرآیند تقسیم سلول برعهده دارد به‌نظر می‌رسد افزایش درصد جوانه‌زنی بذرهای پیرشده در غلظت بالای این هورمون به‌علت افزایش فعالیت ژن‌های بیان کننده تقسیم سلول باشد. زیرا جایگزینی سلول‌های آسیب دیده توسط سلول‌های جدید می‌تواند سبب ترمیم آسیب‌های ناشی از تنش اکسیداتیو بوجود آمده از زوال و خشکی گردد. در این راستا، بهروزیار و یارنیا (Behrouzyar and Yarnia, 2014) نیز افزایش درصد جوانه‌زنی بذرهای زوال یافته کلزا را در نتیجه پیش‌جوانه‌دارکردن بذر تحت تنش کم آبی گزارش کردند. همچنین سیادت و همکاران (Siadat *et al.*, 2015) اظهار داشتند که پیش‌تیمار سیتوکینین قادر است صدمات ناشی از پیری بر میزان جوانه‌زنی بذرهای گیاه خارمریم و برخی از خصوصیات گیاهچه‌های حاصل از پیش‌جوانه‌دارکردن با آب را بهبود دهد و علت آن را فعال شدن ژن‌های مسئول در ترمیم بافت‌های تخریب شده دانستند.

متوسط زمان جوانه‌زنی

نتایج نشان داد که اثرات اصلی و اثرمتقابل خشکی و پیش‌جوانه‌دار در سطح یک درصد معنی دار شد (جدول ۱). در شرایط بدون تنش، بیشترین متوسط زمان جوانه‌زنی متعلق به بذرهای پیش‌جوانه‌دار نشده بود(۷/۱۶) وکمترین آن به ترتیب متعلق به بذرهای پیش‌جوانه‌دار شده با غلظت‌های ۱۰۰ (به‌میزان ۳/۳۵) و ۱۵۰ قسمت در میلیون (ppm) (به‌میزان ۲/۸) سیتوکینین بود، درحالی‌که بین مقادیر بدست آمده از تیمار پیش‌جوانه‌دار نمودن و غلظت ۵۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین اختلافی مشاهده نشد (جدول ۲). با تشدید تنش خشکی از ۰/۴- به ۰/۸- مگاپاسکال متوسط زمان جوانه‌زنی افزایش یافت، چنین روندی در بذرهای پیش‌جوانه‌دار شده و پیش‌جوانه‌دار نشده مشهود بود. به‌طوری که بیشترین مقدار در بذرهای پیش‌جوانه‌دار نشده در پتانسیل ۰/۸- مگاپاسکال مشاهده شد و کمترین مقادیر به‌ترتیب در غلظت‌های ۱۵۰، ۱۰۰ و ۵۰ قسمت در میلیون (ppm) از هورمون سیتوکینین و پیش‌جوانه‌دار شده با آب مشاهده شد (جدول ۲).

سیادت و همکاران (Siadat *et al.*, 2015) گزارش کردند که غلظت ۵۰۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین به‌مدت ۲۴ ساعت سبب بهبود پارامترهای جوانه‌زنی به‌ویژه سرعت جوانه‌زنی و کاهش متوسط زمان جوانه‌زنی بذرهای پیرشده خارمریم گردید. یکی از دلایل افزایش متوسط زمان جوانه‌زنی همزمان با افزایش شدت تنش می‌تواند تأخیر در جذب آب توسط بذر باشد زیرا فعال شدن آنزیم‌های مؤثر بر فرآیند جوانه‌زنی مستلزم جذب آب کافی برای رسیدن به مرحله دوم جوانه‌زنی است. بذرهای پیش‌جوانه‌دار شده به‌دلیل گذراندن دو مرحله از سه مرحله جوانه‌زنی، به‌آب کمتری جهت تکمیل فرآیند جوانه‌زنی نیاز داشته درنتیجه با سرعت بیشتر و زمان کمتری جوانه خواهند زد (Varier *et al.*, 2010).

سرعت جوانه‌زنی

اثر اصلی تنش خشکی و پیش‌جوانه‌دارکردن به‌همراه اثرمتقابل آن‌ها بر سرعت جوانه‌زنی در سطح

یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). در شرایط بدون تنش، بالاترین سرعت جوانه‌زنی به‌ترتیب در غلظت‌های ۱۵۰، ۱۰۰، ۵۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین و پیش‌جوانه‌دارشده با آب حاصل گردید- که توانستند سرعت جوانه‌زنی را ۳/۲، ۲/۲، ۱/۹ و ۱/۹ برابر نسبت به شاهد افزایش دهند (جدول ۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات جوانه‌زنی بذرهای پیرشده بادام زمینی

Table 1- The ANOVA of germination characteristics of aged groundnut seeds

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	GP	MGT	GR	PL	VI	EC	Car	Pr	MDA	CAT	SOD	APX
		میانگین مربعات Mean Squares											
پیش جوانه دار کردن Priming	4	420.43**	12.98**	0.008**	2.21**	5.64**	179.14**	314.16**	15.1**	267.48**	0.009**	42.16**	0.02**
تنش Stress	3	4872.86**	121.38**	0.102**	25.32**	78.54**	275.13**	4351.40**	170.74**	5156.48**	0.041**	369.53**	0.06**
پیش‌جوانه‌دار کردن * تنش Priming*Stress	12	44.88**	0.90**	0.003**	0.41**	2.14**	2.10**	160.15**	1.58**	40.89**	0.0008**	8.25**	0.001**
خطا Error	40	2.06	0.004	0.00001	0.005	0.007	0.461	0.40	0.03	0.94	0.00008	0.003	0.00007
ضریب تغییرات (درصد) CV(%)	-	3.76	0.84	2.47	2.67	4.23	2.64	4.22	4.49	1.69	4.43	0.28	2.84

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر پیش‌جوانه‌دار کردن هورمونی بر خصوصیات مورفولوژیک بذرهای پیرشده بادام زمینی تحت شرایط تنش خشکی

Mean comparison of hormonal priming effect on morphological characteristics of aged groundnut seed under drought stress conditions –Table 2

تیمارها Treatments	تنش خشکی Drought Stress (MPa)	درصد جوانه زنی Germination Percentage	متوسط زمان جوانه زنی Mean Germination Time (day)	سرعت جوانه زنی Germination Rate (1/day)	طول گیاهچه Seedling Length (cm)	شاخص بنیه Vigor Index
سیتوکینین ۵۰ قسمت در میلیون Cytokinin 50 ppm	0	61.66 c	3.68 k	0.272 c	8.98 b	5.54 c
	-0.4	30.33 h	9.00 g	0.111 fg	3.83 d	1.16 fg
	-0.6	25.66 i	9.95 e	0.100 hij	3.28 ef	0.84 hij
	-0.8	22.00 jk	10.45 d	0.095 j	2.93 gh	0.64 jk
سیتوکینین ۱۰۰ قسمت در میلیون Cytokinin 100 ppm	0	67.66 b	3.35 l	0.298 b	8.98 b	6.08 b
	-0.4	35.00 f	8.50 h	0.117 f	3.78 d	1.32 f
	-0.6	31.33 h	9.10 g	0.109 fg	3.28 ef	1.02 gh
	-0.8	25.66 i	9.95 e	0.100 hij	2.78 hi	0.71 ijk
سیتوکینین ۱۵۰ قسمت در میلیون Cytokinin 150 ppm	0	74.33 a	2.80 m	0.357 a	9.04 b	6.72 a
	-0.4	41.33 e	7.81 i	0.127 e	3.88 d	1.61 e
	-0.6	34.66 fg	8.60 h	0.116 fg	3.33 ef	1.15 fg
	-0.8	32.66 fgh	9.30 f	0.107 ghi	2.98 gh	0.98 gh
پیش‌جوادار با آب Hydro-priming	0	72.33 a	3.61 k	0.276 c	9.33 a	6.75 a
	-0.4	34.00 fg	9.30 f	0.108 gh	3.51 e	1.19 fg
	-0.6	29.33 h	10.10 e	0.099 ij	3.13 fg	0.92 hi
	-0.8	24.66 ij	10.63 c	0.094 j	2.60 ij	0.64 jk
شاهد nonprime	0	47.00 d	7.16 j	0.139 d	4.98 c	2.34 d
	-0.4	29.33 h	9.95 e	0.100 hij	2.98 gh	0.87 hi
	-0.6	24.66 ij	10.85 b	0.092 jk	2.46 j	0.60 k
	-0.8	19.33 k	11.70 a	0.085 k	1.96 k	0.38 l

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد ندارند

In each column means followed by the same letter are not significantly different at the $P < 0.01$ level

تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار سرعت جوانه‌زنی شد (جدول ۲). در پتانسیل ۰/۴- مگاپاسکال، بین سطوح ۵۰ و ۱۰۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین از یک‌سو و بین پیش جوانه‌دار

کردن با آب و سطح ۵۰ قسمت در میلیون (ppm) از سوی دیگر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲).

در پتانسیل ۰/۶- مگاپاسکال، بین پیش‌جوانه‌دار کردن با آب و سطح ۵۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین و همچنین بین سطوح ۱۰۰ و ۱۵۰ قسمت در میلیون(ppm) سیتوکینین تفاوت آماری مشاهده نشد (جدول ۲). در پتانسیل ۰/۸- مگاپاسکال، بین پیش‌جوانه‌دارکردن با آب و سطوح ۵۰ و ۱۰۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. بالاترین سرعت جوانه‌زنی در پیش-تیمار سیتوکینین با غلظت ۱۵۰ قسمت در میلیون (ppm) حاصل شد، این درحالی‌است که بین سطوح ۱۰۰ و ۱۵۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۲). پایین-ترین میزان سرعت جوانه‌زنی به بذرهای پیش‌جوانه‌دار نشده در پتانسیل ۰/۸- مگاپاسکال تعلق داشت (۰/۰۸۵) هرچند که از لحاظ آماری با بذرهای پیش‌جوانه‌دار نشده در پتانسیل ۰/۶- مگاپاسکال (۰/۰۹۲) اختلافی نداشت (جدول ۲). سرعت جوانه-زنی بذر از پارامترهایی است که شدیداً تحت تأثیر شرایط نامساعد محیطی قرار می‌گیرد لذا می‌توان به-عنوان شاخصی مؤثر در جهت ارزیابی و شناسایی اثرات مفید یا مضر محیطی از آن استفاده نمود (Jisha *et al.*, 2013). آزادی و همکاران (Azadi *et al.*, 2013) گزارش کردند پیش‌جوانه‌دارکردن هورمونی سبب بهبود پارامترهای جوانه‌زنی بذرهای پیرشده سورگوم مانند درصد و سرعت جوانه‌زنی در مقایسه با بذرهای پیش‌جوانه‌دار نشده شد. رحمان و همکاران (Rehman *et al.*, 2015) اظهار داشتندکه کاهش در مقادیر صفات درصد و سرعت جوانه‌زنی بذرهای پیرشده ذرت می‌تواند ناشی از کاهش در فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز باشد. به‌نظر می‌رسدکه بهبود سرعت جوانه زنی بذرهای پیش‌جوانه‌دار شده به دلیل افزایش در سرعت انتقال قندهای محلول به جنین در حال رشد باشد که این امر ناشی ازافزایش در فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز است. در این راستا آندوه و کوباتا (Andoh and Kobata, 2002) افزایش در سرعت جوانه‌زنی بذرهای پیش‌جوانه‌دار شده گندم و برنج را ناشی از افزایش۲/۷ و ۲/۸ برابری در فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز نسبت به بذرهای پرایم نشده اعلام کردند. محققین همچنین افزایش در فعالیت آنزیم‌های دهیدروژناز و پراکسیداز و کاهش در فعالیت آنزیم لیپاز درنتیجه پیش‌جوانه‌دارکردن را از عوامل مؤثر بر بهبود سرعت جوانه‌زنی بذرهای زوال یافته دانسته‌اند (Varier *et al.*, 2010).

طول گیاهچه

بررسی داده‌های طول گیاهچه نشان داد اثر متقابل پیش‌تیمار و خشکی به‌همراه اثرات اصلی بر طول گیاهچه بادام زمینی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است (جدول ۱). در شرایط بدون تنش، طویل‌ترین گیاهچه مربوط به پیش‌جوانه‌دارکردن با آب بود که با غلظت‌های مختلف سیتوکینین و بدون پیش‌تیمار اختلاف معنی‌داری داشت (جدول ۲). بین غلظت‌های مختلف سیتوکینین از لحاظ طول گیاهچه در شرایط عدم تنش اختلافی دیده نشد (جدول ۲). در شرایط خشکی و در تمام تیمارها با افزایش شدت تنش، طول گیاهچه به‌شکل معنی‌داری کاهش یافت اما روند کاهشی در بذرهای پیش‌جوانه‌دار شده کمتر بود (جدول ۲). پیش تیمار سیتوکینین درمقایسه با پیش‌جوانه‌دار نمودن با آب اثر مشهودتری را روی

بذرهای پیرشده تحت شرایط تنش داشت اما بین غلظت‌های مختلف این هورمون در تمام سطوح خشکی به لحاظ آماری اختلافی مشاهده نشد (جدول ۲).

عیسوند و همکاران (Eisvand *et al.*, 2010) گزارش کردند که طول گیاهچه حاصل از بذرهای زوال یافته آگروپایرون تحت شرایط خشکی اُفت شدیدی نمود اما پیش‌جوانه‌دارکردن هورمونی توسط سیتوکینین و اسید آبسیزیک توانست اثر تنش را تخفیف داده و سبب بهبود طول گیاهچه در مقایسه با بذرهای زوال یافته و پیش‌جوانه‌دار نشده گردد. بهبود رشد گیاهچه درنتیجه پیش‌تیمار با سیتوکینین به‌ویژه در تنش خشکی می‌تواند در اثر افزایش تقسیم سلول-های مریستمی و حجیم‌تر شدن این سلول‌ها باشد. در این راستا محققین، بزرگ شدن اندازه سلول‌های گیاه در نتیجه کاربرد مقادیر خارجی سیتوکینین تحت تنش خشکی را ناشی از تبدیل ذخایر چربی به گلوکز و فروکتوز می‌دانند، این مسئله سبب منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی سلول و در نهایت جذب آب بیشتر و تورم سلول می‌گردد (Varier *et al.*, 2010; Miransari and Smith, 2014).

رحمان و همکاران (Rehman *et al.*, 2015) نیز بهبود رشد گیاهچه ذرت و افزایش در وزن تر و خشک آن را در نتیجه پیش‌تیمار هورمونی بذرگزارش کرده‌اند.

شاخص بنیه طولی گیاهچه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس این شاخص نشان از معنی دار شدن اثرات اصلی و اثر متقابل تنش و پیش‌جوانه‌دارکردن در سطح یک درصد داشت (جدول ۱). شاخص بنیه بذر در شرایط بدون تنش بیشتر از تنش بود و در این میان بیشترین مقدار به بذرهای پیش‌جوانه‌دار شده با آب اختصاص داشت هرچند که با تیمار سیتوکینین در غلظت ۱۵۰ قسمت در میلیون (ppm) اختلاف معنی‌داری نداشت اما با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین و همچنین بذرهای پیش‌جوانه‌دار نشده تفاوت معنی‌داری داشت (جدول ۲). در سطح ۰/۴- مگاپاسکال خشکی، بین پیش‌جوانه‌دارکردن با آب و غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد هرچند که با بذرهای پیش‌جوانه‌دار نشده تفاوت معنی‌داری داشتند(جدول ۲). در این سطح از تنش خشکی، بالاترین غلظت سیتوکینین بیشترین شاخص بنیه بذر نسبت به سایر تیمارها را از خود نشان داد (جدول ۲). در سطح ۰/۶- مگاپاسکال، بین غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ قسمت در میلیون (ppm) از یک‌سو و بین تیمار پیش‌جوانه‌دارکردن با آب و غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ قسمت در میلیون (ppm) از سیتوکینین و همچنین شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد(جدول ۲). در پتانسیل ۰/۸- مگاپاسکال خشکی، بیشترین شاخص بنیه در غلظت ۱۵۰ قسمت در میلیون(ppm) از سیتوکینین بدست آمد، در حالی‌که بین پیش‌جوانه‌دارکردن با آب و غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین اختلاف معنی-داری دیده نشد (جدول ۲). شاخص بنیه بذر از پارامترهای مهم مورفولوژیک در ارزیابی جوانه‌زنی بذرهای تحت شرایط تنش محسوب می‌گردد. از آنجا که با افزایش شدت تنش، درصد جوانه‌زنی و طول گیاهچه کاهش یافت، این روند در شاخص بنیه بذر تأثیر گذاشت. باتوجه به این‌که هورمون سیتوکینین سبب فعالیت پروتئین‌های مؤثر در

آبشارهای سیگنالی سلول می‌شود، افزایش درصد جوانه‌زنی و بهبود طول گیاهچه در این شرایط را می‌توان به افزایش انتقال مواد غذایی به جنین در حال رشد و افزایش سرعت تقسیم سلول در نتیجه بهبود جذب آب دانست (Muller and Sheen, 2007). علاوه بر این افزایش جذب آب توسط بذرهای پیش جوانه‌دار شده در شرایط تنش می‌تواند باعث افزایش مقادیر درونی هورمون‌هایی نظیر جیبرلین گردد و فعالیت آنزیم‌ها و به تبع آن بهبود رشد ریشه و ساقه را سبب شود. عیسوند و همکاران (Eisvand *et al.*, 2010) نیز بهبود بنیه‌ی بذرهای زوال یافته آگروپایرون را در شرایط تنش خشکی با پیش‌تیمار سیتوکینین گزارش کردند. سیادت و همکاران (Siadat *et al.*, 2015) در تحقیق خود اظهار داشتند که پیش‌جوانه‌دارکردن هورمونی توسط سیتوکینین به‌میزان ۵۰۰ قسمت در میلیون (ppm) و مدت زمان ۲۴ ساعت روی بذرهای پیرشده خارمریم سبب بهبود شاخص بنیه بذرگردید.

هدایت الکتریکی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس، معنی دار بودن اثرات اصلی و اثر متقابل را در سطح یک درصد برای هدایت الکتریکی نشان داد (جدول ۱). در شرایط عدم تنش، بیشترین میزان هدایت الکتریکی را بذرهای پیش‌جوانه‌دار نشده از خود نشان دادند. در بین تیمارهای پیش‌جوانه‌دار، بیشترین میزان هدایت الکتریکی مربوط به پیش‌جوانه‌دار کردن با آب بود اما بین مقادیر بدست آمده از پیش‌جوانه‌دار کردن با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ قسمت در میلیون (ppm) از سیتوکینین اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. کمترین مقدار در شرایط عدم تنش نیز متعلق به بذرهای پیش‌جوانه‌دار شده توسط بالاترین غلظت سیتوکینین بود (جدول ۳). با افزایش شدت تنش هدایت الکتریکی در بذرهای پیش‌جوانه‌دار شده و پیش‌جوانه‌دار نشده افزایش یافت اما پیش‌جوانه‌دار کردن با سیتوکینین به‌ویژه در غلظت۱۵۰ قسمت در میلیون (ppm) اثر منفی تنش را تا اندازه بیشتری نسبت به پیش‌جوانه‌دار نمودن با آب و همچنین بذرهای پیش‌جوانه‌دار نشده خنثی نمود (جدول ۳)، به‌طوری که بیشترین مقدار هدایت الکتریکی متعلق به بذرهای پیش‌جوانه‌دار نشده در پتانسیل ۰/۸- مگاپاسکال بود، هرچند که با بذرهای پیش‌جوانه‌دار نشده در پتانسیل ۰/۶- مگاپاسکال اختلاف معنی داری نداشت (جدول ۳). کمترین مقادیر هدایت الکتریکی نیز به ترتیب در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ قسمت در میلیون (ppm) از سیتوکینین ثبت گردید (جدول ۳). به‌طورکلی قرارگرفتن بذرهای زوال یافته تحت شرایط تنش، صدمات وارده به غشای سلول را به‌دلیل بروز تنش اکسیداتیو دوچندان می‌کند. این مسئله منجر به افزایش نشت مواد و یون‌ها از غشای سلول و به تبع آن افزایش هدایت الکتریکی محلول بذر می‌گردد. از سوی دیگر پیش‌جوانه‌دار کردن بذر از طریق سنتز DNA و mRNAs جدید و همچنین بیان ژن‌های ریکاوری، سبب ترمیم آسیب‌های وارده به غشا و کاهش هدایت الکتریکی بذر می‌گردد (Varier *et al.*, 2010). دراین راستا یان (Yan, 2015) اظهار داشت پیش‌جوانه‌دار نمودن بذر سبب کاهش هدایت الکتریکی بذرهای زوال یافته‌ی کلم (*Brassica rapa*) در مقایسه با بذرهای پیش‌جوانه‌دار نشده، شده است. او همچنین گزارش داد که افزایش نشت یون‌ها تحت شرایط تنش بستر لازم را جهت آسیب پاتوژن‌ها به بذرهای زوال یافته و گیاهچه‌های حاصل از آن

فراهم می‌کند. جیوتی و مالیک (Jyoti and Malik, 2013)علت افزایش در هدایت الکتریکی بذرهای زوال یافته را ایجاد شکاف در پلاسمالما و فاصله گرفتن آن از دیواره سلولی، پاره شدن شبکه آندوپلاسمی در غیاب پُلی ریبوزوم‌ها و دیکتوزوم‌ها اعلام کردند. جیشا و همکاران (Jisha *et al.*, 2013) گزارش دادند که پیش‌جوانه‌دارکردن بذر سبب افزایش فعالیت آنزیم دهیدروژناز می‌گردد که نقشی کلیدی در خنثی نمودن اثرات منفی پراکسیداسیون غشا دارد.

هیدرات های کربن محلول

با توجه به معنی‌دار شدن اثرات اصلی و اثر متقابل تنش و پیش‌جوانه‌دار کردن (جدول ۱)، نتایج نشان دادکه در شرایط بدون تنش بیشترین مقدار هیدرات‌های کربن محلول در بذرهای پیش‌جوانه‌دار شده بدست آمد. در این میان پیش‌جوانه‌دار نمودن با آب و پیش‌تیمار هورمونی با۱۵۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشته و مقادیر بیشتری را نسبت به شاهد و غلظت-های ۵۰ و۱۰۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین از خود نشان دادند(جدول ۳). تحت شرایط بدون تنش، کمترین مقدار قندهای محلول به بذرهای پیش‌تیمار نشده تعلق داشت. با افزایش شدت تنش خشکی میزان قندهای محلول در بذرهای پیش‌جوانه‌دار شده و پیش‌جوانه‌دار نشده شدیداً کاهش یافت اما شدت این اُفت در بذرهای پیش‌جوانه‌دار شده نسبت به شاهد کمتر بود (جدول ۳). بالاترین میزان قندهای محلول در تمامی سطوح خشکی مربوط به تیمار ۱۵۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین بود و بین سطوح ۰/۶- و ۰/۸- مگاپاسکال در این غلظت تفاوتی به لحاظ آماری دیده نشد (جدول ۳). به نظر می‌رسد در جریان فرآیند زوال بذر انسجام غشای سلولی کاهش می‌یابد و نفوذپذیری آن بشدت تحت تأثیر قرارمی‌گیرد، درنتیجه نشت الکترولیت‌ها از غشا نظیر هیدرات‌های کربن محلول صورت گیرد.

جیوتی و مالیک (Jyoti and Malik, 2013) گزارش کردند که با افزایش مدت زمان زوال، الیگوساکاریدهای مسئول در استحکام غشا مانند رافینوز به‌شدت آسیب دیده و همین مسئله سبب از بین رفتن انسجام غشا می‌گردد. رافینوز از جمله هیدرات‌های کربن محافظت کننده از لیپیدها و پروتئین‌های غشایی است. همچنین کاهش در فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در بذرهای زوال یافته سبب کاهش تجزیه ذخایر نشاسته‌ای بذر به قندهای ساده و محلول می‌گردد که جهت تغذیه جنین در حال رشد مورد نیاز است (Bailly, 2004). افزایش در فعالیت آنزیم-های آمیلاز و دهیدروژناز در بذرهای پیش‌جوانه‌دار شده به اثبات رسیده است (Andoh and Kobata, 2002). فعالیت این آنزیم‌ها منجر به افزایش محتوای قندهای محلول بذر و انتقال آن به جنین می‌گردد (Andoh and Kobata, 2002; Bailly, 2004).

پروتئین‌های محلول

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس، اثرات اصلی و اثر متقابل خشکی و پیش‌جوانه‌داری بر پروتئین‌های محلول در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). در شرایط عدم تنش، بین مقادیر بدست آمده در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ قسمت در میلیون (ppm) از سیتوکینین از یک‌سو و پیش‌جوانه‌دارکردن با آب و غلظت۱۵۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین از سوی دیگر اختلاف معنی‌داری مشاهده

نشد، اما میزان پروتئین‌های محلول در پیش‌جوانه‌دار نمودن با آب و پیش‌تیمار با۱۵۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین بیشتر از سایر تیمارها و شاهد بود (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر پیش تیمار هورمونی بر خصوصیات فیزیولوژیک بذرهای پیرشده بادام زمینی تحت تنش شرایط خشکی

Mean comparison of hormonal priming effect on physiological characteristics of aged groundnut seed –Table 3 under drought stress conditions

تیمارهای پیش جوانه‌دار Priming Treatments	تنش خشکی Drought Stress (MPa)	هدایت الکتریکی Electrical conductivity ($\mu S.cm^{-1}g^{-1}$)	هیدرات‌های کربن محلول Carbohydrates ($mg.[gdw]^{-1}$)	پروتئین های محلول Soluble proteins ($mg.[gfw]^{-1}$)	محتوای مالون دی‌آلدهید Malondialdehyde content ($nmol.[gfw]^{-1}$)	فعالیت کاتالاز Catalase ($Units[mgpr]^{-1}$)	فعالیت سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase ($Units[mgpr]^{-1}$)	فعالیت آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase ($Units[mgpr]^{-1}$)
سیتوکینین ۵۰	0	17.87 l	31.47 c	9.20 b	29.91 g	0.299 b	28.84 b	0.405 b
قسمت در میلیون	-0.4	26.76 g	6.63 h	2.67 f	64.7 c	0.184 fg	17.68 j	0.281 efg
Cytokinin	-0.6	28.38 ef	5.04 i	1.77 g	70.54 b	0.181 fgh	17.05 m	0.273 fgh
50 ppm	-0.8	29.02 e	2.94 j	1.00 h	73.79 a	0.171 ghi	16.24 n	0.263 ghi
سیتوکینین ۱۰۰	0	17.60 l	42.73 b	9.60 b	26.98 h	0.299 b	28.78 b	0.437 a
قسمت در میلیون	-0.4	24.20 hi	8.75 fg	3.24 e	60.79 d	0.184 fg	19.14 g	0.297 de
Cytokinin	-0.6	25.39 gh	7.09 h	2.66 f	64.69 c	0.181 fgh	18.24 h	0.292 def
100 ppm	-0.8	26.91 fg	5.04 i	1.74 g	70.22 b	0.171 ghi	17.23 l	0.277 efg
سیتوکینین ۱۵۰	0	15.74 m	55.83 a	10.46 a	23.41 i	0.327 a	31.15 a	0.444 a
قسمت در میلیون	-0.4	21.86 j	11.34 e	3.83 d	56.27 e	0.227 d	20.98 d	0.345 c
Cytokinin	-0.6	23.11 ij	8.70 fg	3.33 e	61.44 d	0.217 de	19.78 f	0.333 c
150 ppm	-0.8	24.19 hi	7.35 gh	2.77 f	65.99 c	0.197 ef	17.93 i	0.302 d
پیش جوانه‌دار با	0	19.97 k	54.48 a	10.46 a	24.08 i	0.260 c	28.10 c	0.417 b
آب	-0.4	26.70 g	8.86 f	3.83 d	61.84 d	0.161 hi	18.20 h	0.267 ghi
Hydro-priming	-0.6	29.81 de	6.74 h	3.33 e	66.06 c	0.136 j	17.54 k	0.255 hij
	-0.8	31.03 cd	4.80 i	2.77 f	70.18 b	0.116 j	16.09 o	0.235 j
عدم پرایم	0	26.39 g	17.98 d	5.42 c	46.52 f	0.220 d	20.28 e	0.289 def
nonprime	-0.4	32.32 bc	7.13 h	1.13 h	64.39 c	0.183 fgh	17.59 jk	0.250 ij
	-0.6	33.35 ab	5.02 i	1.03 h	70.40 b	0.174 fghi	16.07 o	0.236 j
	-0.8	33.89 a	3.26 j	1.14 h	75.31 a	0.157 i	15.20 p	0.208 k

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد ندارند

In each column means followed by the same letter are not significantly different at the $P < 0.01$ level

با افزایش شدت تنش میزان پروتئین‌های محلول کاهش یافت و کمترین مقدار را بذرهای پیش‌جوانه‌دار نشده داشتند. طالع احمد و حدّاد (Tale Ahmad and Haddad, 2011) نیز گزارش کردند با افزایش مدت زمان خشکی میزان پروتئین‌های محلول در گندم کاهش یافته است، آنها علت کاهش را تجزیه پروتئین‌های محلول در جریان خشکی ذکر کرده‌اند. در میان تیمارهای پیش‌جوانه‌دار، بیشترین مقادیر در پیش‌تیمار بذرها توسط۱۵۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین مشاهده شد. بین پیش‌جوانه‌دارکردن توسط۱۰۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین و پیش‌جوانه‌دار نمودن با آب در سطوح خشکی اختلاف معنی‌داری دیده نشد (جدول ۳). پیش‌تیمار با ۵۰ قسمت در میلیون (ppm) از سیتوکینین اگرچه نسبت به سایر تیمارها مقادیر کمتری را نشان داد اما در پتانسیل‌های ۰/۶- و ۰/۸- مگاپاسکال بهتر از بذرهای پیش‌جوانه‌دار نشده در سطوح تنشی مشابه بود (جدول ۳). محققین اظهار می‌دارند که کاهش در مقدار پروتئین‌ها در فرآیند پیری به‌دلیل دناتوره شدن آن‌ها و یا آسیب‌های غیرقابل بازگشت به ساختار پروتئین‌ها به‌دلیل حمله رادیکال‌های آزاد می‌باشد و پیش‌جوانه‌دار کردن از طریق سنتز mRNA جدید و به تبع آن سنتز پروتئین-های جدید قادر است این آسیب را به حداقل

برساند(Kibinza *et al.*, 2011; Tabatabaei, 2013). جیوتی و مالیک (Jyoti and Malik, 2013) بیان کردند که آسیب به ساختار کروموزوم‌ها، RNA وDNA از جمله تغییرات مولکولی بوجود آمده در بذرهای زوال یافته به‌شمار می‌رود. آسیب به سیستم سنتز پروتئین می‌تواند هم در مرحله رونویسی و هم در ترجمه رخ دهد. محققین گزارش کردند که اجزای رونویسی نظیر tRNA، آنزیم‌های مرتبط با رونویسی و ریبوزوم‌ها در جریان زوال بذر دچار آسیب می‌شوند. چنین آسیبی می‌تواند توسط رادیکال‌های آزاد و یا در اثر فعالیت آنزیم‌هایی نظیر ریبونوکلئاز باشد (Varier *et al.*, 2010). پروتئین‌های محلول بیشتر از انواع غشایی و نامحلول تحت تأثیر تنش اکسیداتیو قرار می‌گیرند که از آن جمله می‌توان به سیستئین، هیستیدین، تریپتوفان و فنیل آلانین اشاره نمود (Kibinza *et al.*, 2011; Jyoti and Malik, 2013). شواهد نشان می‌دهد که سیتوکینین‌ها در تنظیم سنتز پروتئین نقش مؤثری داشته و این کار را از طریق افزایش در محتوای پُلی ریبوزومی سلول‌ها ایجاد می‌کنند. پُلی ریبوزوم‌ها دستگاه‌های سنتز پروتئین در سلول‌ها بوده و افزایش آنها درنتیجه کاربرد سیتوکینین، به‌دلیل حرکت مونوزوم‌ها به داخل پُلی زوم‌ها می‌باشد (Taiz and Zeiger, 2002; Miransari and Smith, 2014).

محتوای مالون دی آلدهید

اثر اصلی تنش خشکی و پیش‌جوانه‌دار نمودن و اثرمتقابل آن‌ها بر محتوای مالون دی‌آلدهید در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). با افزایش شدت تنش محتوای این ترکیب افزایش یافت و کمترین مقادیر مالون دی‌آلدهید به بذرهای پیش‌جوانه‌دار شده به‌ویژه توسط ۱۵۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین تعلق داشت و بیشترین مقادیر نیز متعلق به بذرهای پیش‌جوانه‌دار نشده بود (جدول ۳). در شرایط عدم تنش، مشابه شرایط تنش، بیشترین مقدار به بذرهای پیش‌جوانه‌دار نشده و کمترین آن به بذرهای پیش‌جوانه‌دار شده اختصاص داشت (جدول ۳). مالون دی‌آلدهید شاخصی از پراکسیداسیون غشای سلولی بوده و با نشت مواد از غشا همبستگی مثبت دارد، هرچه میزان این شاخص افزایش یابد پراکسیداسیون غشا و نشت الکترولیت‌ها از غشا بیشتر و در نتیجه خسارات احتمالی بیشتر است. به اظهار جیوتی و مالیک (Jyoti and Malik, 2013) در بذرهای زوال یافته کاهش معنی‌داری در پروتئین، کل قندها و محتوای چربی دیده می‌شود به‌طوری که اسیدهای چرب آزاد، پراکسید هیدروژن و گونه‌های فعال اکسیژن افزایش می‌یابند. درنتیجه این وقایع، اسیدهای چرب غیراشباع موجود در غشای سلولی به رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن حساس شده و ترکیبات ناشی از پراکسیداسیون چربی مانند لیپیدهای ترکیبی و مالون دی‌آلدهید تولید می‌شوند. رادیکال‌های هیدروکسیل و سوپراکسید تولید شده در جریان تنش اکسیداتیو به محض حضور در سلول می‌توانند واکنش‌های زنجیره‌ای اکسیداتیو را به صورت اتواکسیداسیونی و یا لیپوکسیژناسیونی شروع نمایند که منجر به تولید لیپیدهیدروپراکسیدها می‌شود. لیپیدهیدروپراکسیدها بسیار واکنش‌پذیر بوده و احتمال واکنش با ترکیبات ثانویه سمی حاصل از پراکسیداسیون مانند مالون دی‌آلدهید را دارند. مالون دی‌آلدهید محصول پراکسیداسیون اسید لینولئیک می‌باشد و توانایی آسیب رساندن به پروتئین‌های غشا را از طریق cross-linking دارد (Taiz and Zeiger, 2002; Varier *et al.*, 2010).

کاتالاز

با توجه به معنی‌دار شدن اثرات اصلی و اثر متقابل تنش و پیش‌جوانه‌دارکردن (جدول ۱)، مقایسه میانگین داده‌های آنزیم کاتالاز نشان داد که در شرایط بدون تنش فعالیت این آنزیم در پیش‌تیمار هورمونی بیشتر از پیش‌تیمار با آب و بدون پیش‌تیمار بود (جدول ۳). بین غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین در فعالیت کاتالاز اختلاف معنی‌داری دیده نشد اما میزان فعالیت آن‌ها کمتر از بالاترین غلظت سیتوکینین بود (جدول ۳). در شرایط تنش خشکی کمترین فعالیت کاتالاز در بذرهای پیش‌جوانه‌دار نشده مشاهده شد که اختلاف معنی-داری با مقادیر حاصل از کاربرد ۵۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین در هر سه سطح خشکی نداشت (جدول ۳). بین غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین در تمام سطوح خشکی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد اما با پیش‌جوانه‌دار کردن با آب اختلاف معنی‌دار بود به‌طوری‌که میزان فعالیت کاتالاز در آن‌ها بیشتر از پیش‌جوانه‌دار نمودن با آب و کمتر از پیش‌جوانه‌دار کردن با ۱۵۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین بود (جدول ۳). جیوتی و مالیک (Jyoti and Malik, 2013) کاهش در فعالیت آنزیم‌کاتالاز را درجریان فرآیند زوال بذر گزارش کرده‌اند. محققین بیان کرده‌اند که تشکیل زیر واحدهای کاتالاز در سیتوپلاسم و تکمیل سنتز آن در پراکسی‌زوم صورت می‌گیرد و در جریان فرآیند زوال، به‌دلیل خروج محتویات سیتوپلاسم از غشا و آسیب‌های وارده به اندامک‌های سلول، چرخه ساخت این آنزیم تکمیل نمی‌گردد. پیش‌جوانه‌دار کردن بذر قادر است از طریق سنتز و ترمیم ساختارهای پروتئینی موجود در بذر، بخشی از خسارات وارده را جبران نموده و از شدت تنش اکسیداتیو بکاهد، بخشی از این کار توسط بهبود در فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی انجام می‌شود (Kibinza *et al.*, 2011; Jisha *et al.*, 2013; Xia *et al.*, 2015). کیبینزا و همکاران (Kibinza *et al.*, 2011) افزایش در فعالیت آنزیم کاتالاز در بذرهای پیش‌جوانه‌دار شده را در جریان زوال بذرگندم گزارش کردند. آن‌ها کاتالاز را کلیدی‌ترین آنزیم در جهت کاهش اثرات منفی زوال ذکر نمودند و اظهار داشتند سوپراکسیددیسموتاز وظیفه تبدیل سوپراکسید آنیون را به اکسیژن و پراکسیدهیدروژن برعهده دارد. اگر فعالیت سوپراکسیددیسموتاز در بالاترین سطح خود باشد، سلول نیاز به آنزیم کاتالاز دارد تا پراکسیدهیدروژن تولید شده توسط فعالیت سوپراکسیددیسموتاز را به آب و اکسیژن تجزیه نماید، در صورت کاهش–کمّیت و یا کاهش در فعالیت کاتالاز، سلول دچار خسارت می‌شود. بنابراین اهمیت کاتالاز نسبت به سایر آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در این خصوص به‌خوبی نمایان است.

سوپراکسیددیسموتاز

براساس نتایج آزمایش، اثرات اصلی و برهم‌کنش پیش‌تیمار و خشکی در سطح احتمال ۱ درصد بر فعالیت این آنزیم معنی‌دار بود (جدول ۱). در شرایط عدم تنش، فعالیت سوپراکسیددیسموتاز در غلظت-های ۵۰ و ۱۰۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین تفاوت معنی‌داری نداشت اما میزان این فعالیت بیشتر از پیش‌تیمار با آب و کمتر از فعالیت غلظت ۱۵۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین بود. بررسی سطوح مختلف خشکی نشان داد که با افزایش شدت تنش از فعالیت سوپراکسیددیسموتاز در بذرهای

پیش‌جوانه‌دار شده و پیش‌جوانه‌دار نشده کاسته شد (جدول ۳). به‌استثنای غلظت ۵۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین، اثر پیش‌تیمار هورمون سیتوکینین بر فعالیت این آنزیم بیشتر از پیش‌جوانه‌دار نمودن با آب بود. با افزایش غلظت سیتوکینین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز نیز در تمامی سطوح خشکی بهبود یافت. از آنجا که در فرآیند زوال، صدمات زیادی به اندامک‌ها و غشای سیتوپلاسمی وارد می‌شود، کاهش در فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز نیز رخ می‌دهد. قابل ذکر است یکی از اندامک‌هایی که در جریان زوال دچار آسیب می‌شود میتوکندری‌ها بوده که علاوه بر وظیفه تنفس و تولید انرژی، از مهمترین مراکز تولید این آنزیم در سلول به‌شمار می‌روند. به طوری که ژیا و همکاران (Xia *et al.*, 2015) زدودن گونه‌های فعال اکسیژن توسط آنزیم سوپراکسیددیسموتاز موجود در میتوکندری را علت اصلی بهبود فعالیت آنزیمی در بذرهای یولاف زراعی (*Avena sativa*) می‌دانند. عیسوند و همکاران (Eisvand *et al.*, 2010) نیز دریافتند که پیش‌تیمار بذرهای آگروپایرون توسط هورمون‌های جیبرلین، سیتوکینین و اسید آبسیزیک به ترتیب در غلظت های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ قسمت در میلیون (ppm) تحت تنش خشکی (۰/۵- مگاپاسکال)، توانست فعالیت آنزیم هایی نظیر: کاتالاز، گلوتاتیون ردوکتاز و سوپراکسید دیسموتاز را افزایش دهد و تنش اکسیداتیو ناشی از زوال وخشکی را به حداقل رساند.

آسکوربات پراکسیداز

اثر اصلی تنش خشکی و پیش‌جوانه‌داری به‌همراه اثرمتقابل آن‌ها بر فعالیت آسکوربات پراکسیداز در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). به‌طوری‌که در شرایط بدون تنش، بیشترین فعالیت به‌ترتیب در غلظت‌های ۱۵۰، ۱۰۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین، پیش‌جوانه‌دار نمودن با آب و۵۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین حاصل گردیدکه توانستند فعالیت آسکوربات پراکسیداز را به‌ترتیب ۵۲/۲۴، ۵۱/۲۱، ۴۴/۲۹ و ۴۰/۱۳ درصد نسبت به شاهد افزایش دهند (جدول ۳). هر چند که بین غلظت‌های ۱۵۰و ۱۰۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین و از سوی دیگر بین پیش‌جوانه‌دار کردن با آب و غلظت۵۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین تفاوت معنی‌داری دیده نشد (جدول ۳). در پتانسیل ۰/۴- مگاپاسکال، بین غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین از یک‌سو و بین پیش‌جوانه‌دار نمودن با آب و غلظت ۵۰ قسمت در میلیون (ppm) از سوی دیگر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳). در پتانسیل ۰/۶- مگاپاسکال نیز وضعیتی مشابه پتانسیل ۰/۴- مگاپاسکال وجود داشت (جدول ۳). به طوری که بین پیش‌جوانه‌دار کردن با آب و سطح ۵۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین و بین سطوح ۱۰۰ و ۱۵۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین اختلاف معنی‌دار نبود (جدول ۲). در پتانسیل ۰/۸- مگاپاسکال، بین غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ قسمت در میلیون (ppm) از سیتوکینین تفاوتی مشهود نبود. هرچند که تیمارهای مذکور مقادیر بیشتری را نسبت به پیش‌تیمار با آب و شاهد از خود نشان دادند. در تمام سطوح خشکی، بالاترین غلظت بکار رفته هورمون سیتوکینین بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را به‌خود اختصاص داد و با سایر تیمارها به لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری داشت (جدول ۳). آسکوربات پراکسیداز بر خلاف کاتالاز که تنها در پراکسیزوم‌ها سنتز می‌شود،

حداقل‌از پنج ایزوفرم متفاوت تشکیل شده که در تیلاکوئید (tAPX)، غشای گلی‌اکسیزوم (gmAPX)، استرومای کلروپلاست (sAPX) و سیتوسول (cAPX) سنتز می‌شود، بنابراین در جریان زوال آسیب کمتری نسبت به کاتالاز می‌بیند و قادر است رادیکال‌های بیشتری را خنثی نماید. مطالعات نشان می‌دهد که پیش‌جوانه‌دارکردن بذرهای زوال یافته منجر به ترمیم DNA، RNA، پروتئین‌ها، غشاها و بهبود در فعالیت آنزیم‌های دهیدروژناز، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز می‌گردد (Varier *et al.*, 2010; Jisha *et al.*, 2013). آزادی و همکاران (Azadi *et al.*, 2013) نیز پیش‌تیمار هورمونی بذرهای زوال یافته سورگوم را عاملی مؤثر در بهبود فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز، در مقایسه با بذرهای پیش‌جوانه‌دار نشده گزارش کردند.

همبستگی صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک

بررسی ضرایب همبستگی در سطوح مختلف سیتوکینین تحت شرایط خشکی، همبستگی مثبت و معنی‌داری بین درصدجوانه‌زنی با هیدرات های کربن و پروتئین‌های محلول و همچنین آنزیم‌های آنتی اکسیدانی را نشان داد (جدول ۴). بیشترین همبستگی متعلق به هیدرات‌های کربن محلول بود ($r=۰/۹۶^{**}$). این درحالی بودکه بین درصدجوانه‌زنی با هدایت الکتریکی غشا و محتوای مالون دی‌آلدهید همبستگی منفی و معنی‌داری مشاهده شد ($r=-۰/۹۲^{**}$). آندوه و کوباتا (Andoh and Kobata, 2002) همبستگی مثبت بین درصد و سرعت جوانه زنی بذرهای پیش‌جوانه‌دار شده گندم و برنج را با محتوای قندهای محلول گزارش کردند. متوسط زمان جوانه‌زنی تحت تنش خشکی همبستگی مثبت و معنی‌داری با هدایت الکتریکی غشا ($r=۰/۸۹^{**}$) و محتوای مالون دی‌آلدهید ($r=۰/۹۸^{**}$) و همبستگی منفی و معنی‌داری با هیدرات‌های کربن محلول ($r=-۰/۹۷^{**}$)، پروتئین‌های محلول ($r=-۰/۹۵^{**}$) و همچنین آنزیم‌های کاتالاز ($r=-۰/۸۶^{**}$)، سوپراکسیددیسموتاز($r=-۰/۹۵^{**}$) و آسکوربات پراکسیداز ($r=-۰/۸۵^{**}$) داشت. دمیر و همکاران (Demir *et al.*, 2012) اظهار داشتند که بین متوسط زمان جوانه‌زنی و هدایت الکتریکی محلول بذرها و محتوای مالون دی‌آلدهید همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد. همبستگی بین سرعت جوانه-زنی و سایر صفات مشابه درصدجوانه‌زنی بود (جدول ۴). ضرایب همبستگی بین طول گیاهچه و صفات فیزیولوژیک نشان داد که بیشترین همبستگی مثبت و معنی‌دار متعلق به هیدرات‌های کربن محلول ($r=۰/۶۷^{**}$) و بالاترین همبستگی منفی و معنی‌دار به محتوای مالون دی‌آلدهید با ضریب همبستگی $r=-۰/۷۲^{**}$ تعلق داشت (جدول ۴). پاول (Powell, 2010) گزارش کرد پراکسیداسیون غشا و افزایش در محتوای مالون دی‌آلدهید، از جمله علائم زوال در بذرهای دانه‌های روغنی محسوب می‌شود که همبستگی مثبت با متوسط زمان جوانه‌زنی و همبستگی منفی با سرعت جوانه‌زنی و طول گیاهچه داشتند. با توجه به جدول ۴، همبستگی شاخص بنیه طولی گیاهچه با هیدرات‌های کربن محلول($r=۰/۹۲^{**}$)، پروتئین‌های محلول ($r=۰/۸۸^{**}$) و آنزیم‌های کاتالاز ($r=۰/۷۸^{**}$)، سوپراکسیددیسموتاز ($r=۰/۸۹^{**}$) و آسکوربات پراکسیداز ($r=۰/۷۷^{**}$) مثبت و معنی‌دار و با هدایت الکتریکی غشاء($r=-۰/۸۱^{**}$) و محتوای مالون دی‌آلدهید ($r=-۰/۹۱^{**}$) منفی و معنی‌دار بود. جیشا و همکاران (Jisha *et al.*, 2013) اظهار داشتند که بذرهای پیش‌جوانه‌دار شده با هورمون‌های رشد نظیر جیبرلین و سیتوکینین از بنیه بذر بالاتری نسبت به

بذرهای پیش‌جوانه‌دار نشده تحت شرایط تنش برخوردار بودند که این امر ارتباط مستقیمی با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و ارتباطی معکوس با نشت مواد از غشا و محتوای محتوای مالون دی-آلدهید تولیدشده در بذرها داشته است. نتایج مشابهی نیز توسط سیادت و همکاران (Siadat *et al.*, 2015) گزارش شده است.

جدول ۴- ضرایب همبستگی بین صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک بذرهای بادام زمینی در شرایط خشکی

Correlation coefficients between morphological and physiological traits of groundnut under –Table 4 drought stress

صفات فیزیولوژیک Physiological traits / صفات مورفولوژیک Morphological traits	هدایت الکتریکی Electrical conductivity	هیدرات‌های کربن محلول Carbohydrates	پروتئین های محلول Soluble proteins	محتوای مالون دی‌آلدهید Malondialdehyde content	فعالیت کاتالاز Catalase	فعالیت سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase	فعالیت آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase
درصد جوانه زنی Germination Percentage	-0.92 **	0.96 **	0.93 **	-0.92 **	0.88 **	0.93 **	0.88 **
متوسط زمان جوانه زنی Mean Germination Time	0.89 **	-0.97 **	-0.95 **	0.98 **	-0.86 **	-0.95 **	-0.85 **
سرعت جوانه زنی Germination Rate	-0.89 **	0.97 **	0.94 **	-0.97 **	0.87 **	0.96 **	0.86 **
طول گیاهچه Seedling Length	-0.48 **	0.67 **	0.65 **	-0.72 **	0.47 **	0.64 **	0.44 **
شاخص بنیه Vigor Index	-0.81 **	0.92 **	0.88 **	-0.91 **	0.78 **	0.89 **	0.77 **

*,**,ns به ترتیب ، معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد، یک درصد و بدون اختلاف معنی‌دار

ns,**,* Respectively non-significant and significant of 1 and 5 percent of probability

نتیجه گیری

در آزمایش حاضر اثرات منفی زوال بذر و شرایط خشکی با استفاده از پیش تیمار هورمون سیتوکینین سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز و به‌ویژه آسکوربات پراکسیداز شد که منجر به بهبود خصوصیات جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و بنیه بذر گردید. به‌طوری که کاربرد ۱۵۰ قسمت در میلیون (ppm) سیتوکینین بیشترین اثر مثبت را نسبت به سایر غلظت ها در خصوص بهبود پارامتر-های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی بذرهای زوال یافته بادام زمینی داشت. لذا پیش تیمار هورمون سیتوکینین با غلظت مذکور جهت کاهش اثرات منفی ناشی از زوال بذر به خصوص در شرایط نامساعد محیطی از جمله تنش خشکی برای بادام زمینی قابل توصیه است.

منابع مورد استفاده

References

Andoh, H. and T. Kobata, 2002. Effect of seed hardening on the seedling emergence and alpha amylase activity in the grains of wheat and rice sown in dry soil. Japan. J. Crop Sci. 71: 220–225.

Azadi, M.S., S.A. Tabatabaei, E. Younesi, M.R. Rostami, and M. Mombeini, 2013. Hormone priming improves germination characteristics and enzyme activity of sorghum seeds (*Sorghum bicolor* L.) under accelerated aging. Cercetari Agronomice in Moldova. 3(155): 49-56.

Bailly, C. 2004. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. Seed Sci. Res. 14: 93-107.

Behrouzyar, E.K. and M. Yarnia, 2014. Effect of ethanol, methanol, zinc, manganese and boron seed priming on ageing, seed germination and physiological characteristics in canola under water deficit stress. Res. Crops. 15(1):116-121.

Bradford, M.M. 1976. A dye binding assay for protein. Analytical Biochem.72: 248-254.

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

Cavalcanti, F.R., J.T.A. Oliveira, A.S. Martins-Miranda, R.A. Viégas, and J.A.G. Silveira, 2004. Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt-stressed cowpeas leaves. New Phytol. 163: 563–571.

Delouche, J.C., and C.C. Baskin, 1973. Accelerated ageing technique for predicting relative storability of seed lots. Seed Sci. Technol. 1: 427-452.

Demir, I., C. Cebeci., and T. Guloksuz, 2012. Electrical conductivity measurement to predict germination of commercially available radish seed lots. Seed Sci. Technol. 40: 229–237.

Eisvand, H.R., R. Tavakkol-Afshari, F. Sharifzadeh, H. Maddah Arefi, and S.M. Hesamzadeh Hejazi, 2010. Effects of hormonal priming and drought stress on activity and isozyme profiles of antioxidant enzymes in deteriorated seed of tall wheatgrass (*Agropyron elongatum* Host). Seed Sci. Technol. 38: 280-297.

Ellis, R.A., and E.H. Roberts, 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. Seed Sci. Technol. 9: 373–409.

Giannopolitis, C., and S. Ries, 1977. Superoxid desmutase. I: Occurence in higher plant, Plant Physiol. 59: 309–314.

Hampton, J.G., and D.M. TeKrony, 1995. Handbook of Vigour Test Methods. ISTA, Zurikh.

Heyl, A., M. Riefler, G. Romanov, and T. Schmulling, 2012. Properties, functions and evolution of cytokinin receptors. Europ. J. Cell Biol. 91: 246–256.

Hou, L., W. Liu, Z. Li, C. Huang, X.L. Fang, Q. Wang, and X. Liu, 2014. Identification and Expression Analysis of Genes Responsive to Drought Stress in Peanut. Russ. J. Plant Physiol. 61(6): 842–852.

Irigoyen, J.J., D.W. Emerich, and M. Sanchez-Diaz, 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Physiol. Plant. 84: 55-60.

ISTA. 2007. International Rules for Seed Testing. Seed Sci. Technol. 13: 299–520.

Jisha, K.C., K. Vijayakumari, and J.T. Puthur, 2013. Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. Acta Physiol. Plant. 35: 1381–1396.

Jyoti, and C.P. Malik, 2013. Seed deterioration: a review. Int. J. Life Sci. Biotech. Pharma Res. 2(3): 374–385.

Kapoor, R., A. Arya, M.A. Siddiqui, A. Amir, and H. Kumar, 2010. Seed Deterioration in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) under Accelerated Ageing. Asian J. Plant Sci. 9(3): 158-162.

Khan, M.B., M.A. Gurchani, M. Hussain, S. Freed, and K. Mahmood, 2011. Wheat seed enhancement by vitamin and hormonal priming. Pak. J. Bot. 43: 1495–1499.

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

Michel, B.E., and M.R. Kaufmann, 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. Plant Physiol. 51: 914-916.

Miransari, M., and D.L. Smith, 2014. Plant hormones and seed germination. Environ. Exp. Bot. 99: 110–121.

Muller, B., and J. Sheen, 2007. Advances in cytokinin signaling. Science. 318(68):68-69.

Nakano, Y., and K. Asada, 1981. Hydrogen peroxide scavenged by ascrobate-specific peroxidase in spinach chloroplast. Plant Cell Physiol. 22: 867–880.

Nautiyal, P.C. 2009. Seed and seedling vigour traits in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). Seed Sci. Technol. 37: 721-735.

Noorhosseini Niyaki, S.A., M.N. Safarzadeh Vishekaei, and S.M. Sadeghi, 2013. Potassium leachate and electrical conductivity tests efficiency in seed vigour evaluation of produced peanut in Astaneh Ashrafieh. (In Persian, with English Abstract.) J.Crop Prod. Res. 5 (1): 93-118.

Peleg, Z., and E. Blumwald, 2011. Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop plants. Curr. Opin. Plant Biol. 14: 290–295.

Powell, A. 2010. Morphological and physiological characteristics of seeds and their capacity to germinate and survive. Ann. Bot. 105: 975–976.

Rahnama-Ghahfarokhi, A., and R. Tavakkol-Afshari, 2007. Methods for dormancy breaking and germination of galbanum seeds (*Ferula gummosa*). Asian J. Plant Sci. 6: 611-616.

Rehman, H., H. Iqbal, S.M.A. Basra, I. Afzal, M. Farooq, A. Wakeel, and W. Ning, 2015. Seed priming improves early seedling vigor, growth and productivity of spring maize. J. Integ. Agric. 14(9): 1745–1754.

Siadat, S.A., S.A. Moosavi, and M. Sharifzadeh, 2015. Alleviate Seed Ageing Effects in *Silybum marianum* by Application of Hormone Seed Priming. Not. Sci. Biol. 7(3): 316-321.

Tabatabaei, S.A. 2013. The Effect of priming on germination and enzyme activity of sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds after accelerated aging. J. St. Physiol. Biochem. 9 (4): 132-138.

Taiz, L., and Zeiger, E. 2002. Plant Physiology, 3 edn. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts.

Tale Ahmad, S., and Haddad, R. 2011. Study of Silicon Effects on Antioxidant Enzyme Activities and Osmotic Adjustment of Wheat under Drought Stress. Czech J. Genet. Plant Breed. 47 (1): 17–27.

Varier, A., A.K., Vari, and M. Dadlani, 2010. The subcellular basis of seed priming. Curr. Sci. 99(4): 450-456.

Xia, F., X.Wang, M. Li, and P. Mao, 2015. Mitochondrial structural and antioxidant system responses to aging in oat (*Avena sativa* L.) seeds with different moisture contents. Plant Physiol. Biochem. 94: 122-129.

Yan, M. 2015. Hydropriming promotes germination of aged napa cabbage seeds. Seed Sci. Technol. 43(2): 303-307.

Zhang, M., Z. Wang, L. Yuan, C. Yin, J. Cheng, L. Wang, J. Huang, and H. Zhang, 2014. Osmopriming improves tomato seed vigor under aging and salinity stress. Afr. J. Biotechnol. 11(23): 6305-6311.