

تأثیر پیری بذر بر صفات جوانه زنی و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت کاتالاز و پراکسیداز در ژنوتیپ های جو (*Hordeum vulgare*)

رضا توکل افشاری^{۱*}، فیروزه قاسم^۲، ناصر مجنون حسینی^۳، هوشنگ عزیزاده^۴، محمدرضا بی همتا^۵
۱، ۲، ۳، ۴، ۵، دانشیار، دانشجوی دوره دکتری، استادیار، دانشیار و استاد پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
(تاریخ دریافت: ۸۴/۱۰/۲۴ - تاریخ تصویب: ۸۵/۹/۱۵)

چکیده

به منظور مطالعه پیری بذر جو و اثر آن بر صفات جوانه زنی و فعالیت آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز، آزمایشی در آزمایشگاه بذر دانشکده علوم زراعی و دامی دانشگاه تهران در سال ۱۳۸۲ اجرا شد. تعداد ۲۰ ژنوتیپ دریافتی از مرکز ژرم پلاس دانشگاه واگنینگن هلند به همراه دو رقم شاهد محلی به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار و تحت دو تیمار پیری زودرس و بدون پیری مورد بررسی قرار گرفتند. صفات درصد، سرعت و شاخص جوانه زنی اندازه گیری شدند. سپس اثر پیری بر فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانت کاتالاز و پراکسیداز در چنین بذر دو ژنوتیپ جو که حداکثر و حداقل صفات جوانه زنی را نشان داده بودند در مراحل اولیه جوانه زنی مورد بررسی قرار گرفت. پیری زودرس سبب کاهش درصد، سرعت و شاخص جوانه زنی گردید. بررسی فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانت پراکسیداز و کاتالاز تحت تیمارهای مختلف آبیگری نشان داد که فعالیت این آنزیم با پیشرفت مراحل جوانه زنی افزایش می یابد. در حقیقت پیری زودرس سبب توقف فعالیت آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز نمی شود بلکه سبب کاهش فعالیت این آنزیمها می شود. فعالیت این آنزیمها در ژنوتیپ با بنیه ضعیف کمتر از ژنوتیپ با بنیه قوی بود. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که فعالیت آنزیم کاتالاز بیشتر تحت تاثیر پیری زودرس قرار گرفت و این آنزیم نقش کلیدی تری در جوانه زنی نسبت به آنزیم پراکسیداز دارد.

واژه های کلیدی: پیری بذر، پراکسیداز، جوانه زنی، کاتالاز، جو

مقدمه

فروسودگی یا پیری بذر به فرآیند از دست رفتن کیفیت بذر با گذشت زمان اطلاق می شود و توانایی بذر برای زنده ماندن را کاهش می دهد. پیری بذر یک خصوصیت ناخواسته در کشاورزی است و سبب کاهش محصول دانه و ضرر اقتصادی می شود. تاکنون پدیده های زیادی شناخته شده که در خلال پیری بذر رخ می دهند. اما هنوز مطالب بسیاری برای تحقیق باقی مانده است و اطلاعات کاملی در زمینه اهمیت نسبی هر یک از این پدیده ها در فرآیند پیری بذر،

چگونگی اثر متقابل پدیده ها بر هم و تأثیر شرایط پیش از نگهداری بدست نیامده است (۲).

در مورد فرآیند پیری باید دو مطلب مهم را در نظر گرفت. یکی وجود سیستمهای درون ساخت بذر است که می تواند با تاثیر رویدادهای زوالگر مقابله کند. در صورت وجود زمان و شرایط مناسب برای مکانیسم های ترمیمی، یک بذر پیر شده ممکن است توانایی ایجاد یک گیاه طبیعی و سالم را پیدا کند. در مورد این مفهوم باید توجه کرد که فرآیند پیری یک توالی خطی از رویدادها نیست بلکه

سیستمهای آنزیمی برای حفاظت در مقابل تنش اکسیداتیو باشد.

پونتارول و همکاران (۲۲) و کک مک و همکاران (۸) نشان دادند که فعالیت کاتالاز قبل از شروع جوانه زنی تغییر نکرد و در ذرت، گندم و سویا فعالیت پراکسیداز بالاتر از کاتالاز بود. در مطالعه‌ای که توسط برنال و همکاران (۷) بر روی ذرت انجام گرفت مشخص شد که فعالیت پراکسیداز و کاتالاز در محورهای جنینی بذرهای پیر شده پایین بود. این کاهش ممکن است منجر به تجمع H_2O_2 شود که احتمالاً جوانه زنی را بطور مستقیم یا از طریق تشکیل رادیکالهای هیدروکسیل صدمه می‌رساند. تجمع H_2O_2 برای رشد ریشه‌چه مضر است. نتایج نشان داد که فرسودگی بذر سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های از بین برنده پراکسیداسیون چربی می‌گردد (۱۳). سانگ و چپو (۲۶) در بررسی خود بر روی بذر سویا بیان کردند که پیری سبب بازداری فعالیت پراکسیداز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز می‌شود. در تحقیق ورما و همکاران (۲۷) بر روی بذر براسیکا مشخص شد که پیری سبب کاهش در فعالیت آنزیمها پراکسیداز می‌شود که همراه با کاهش قابلیت حیات است. لذا بطور آشکار پیری به القاء سیستمهای آنزیمی دفاعی (آنتی اکسیدانت‌ها) که برای حفاظت جنین جوانه زده از صدمه تنش اکسیداتیو ضروری است صدمه می‌زند. هدف از انجام این تحقیق بررسی صفات جوانه زنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت کاتالاز و پراکسیداز در بذر جو با بنیه‌های متفاوت از طریق آزمون پیری زودرس و مطالعه نقش صفات فوق در حفظ و تداوم بنیه بذر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی:

ژنوتیپ‌های جو (تیپ پائیزه- بهاره) دریافتی از مرکز بین‌المللی ژرم پلاسما گیاهی دانشگاه واگنینگن هلند همراه دو شاهد به نام والفجر (بهاره-پائیزه) و گرگان (بهاره) به منظور تکثیر در اواخر آذرماه ۱۳۸۲ در مزرعه آموزشی و پژوهشی دانشکده علوم زراعی و دامی دانشگاه تهران واقع

رویدادهای زوالگر در کنار هم یک شبکه از رویدادها را تشکیل می‌دهند (۱۷).

مکانیزم‌های مختلفی در فرآیند پیری شرکت دارند که سبب کاهش بنیه و کیفیت بذر می‌شوند. عدم توانایی بذر در تولید آنزیم‌های ضروری جهت سم زدایی و ترمیم یکی از پیامدهای آنزیم‌سازی ناقص و ناکارا در بذر پیر شده است. دو تا از آنزیمهای آنتی اکسیدانت مهم پراکسیداز و کاتالاز می‌باشند که از بین برنده رادیکال‌های آزاد هستند. کاتالاز یکی از آنزیمهایی است که در تمام سلولهای زنده وجود دارد و هیدروژن پراکسید (H_2O_2) را سریع به آب و گاز اکسیژن می‌شکند. در واقع کاتالاز از H_2O_2 به عنوان سوپسترا استفاده می‌کند. پراکسیداز نیز از آنتی اکسیدانت‌های مهم است که از هیدروژن پراکسید به عنوان پذیرنده الکترون برای کاتالیز تعدادی از واکنشهای اکسیداتیو استفاده می‌کند. واکنش گونه‌های اکسیژن CO_2 و هیدروژن پراکسید نقش مهمی در فرسودگی بذر در طول پیری بذر ایفا می‌کنند (۲۱ و ۲۴). هیدروژن پراکسید در بسیاری از واکنشهای متابولیکی تولید می‌شوند و بسیار سمی است. در مطالعه‌ای که توسط گوال و همکاران (۱۳) بر روی بذر پنبه تحت شرایط پیری زودرس انجام شد مشخص شد که توانایی جوانه زنی کاهش یافت. همچنین فرسودگی غشاء بوسیله هدایت الکتریکی بررسی شد و مواد نشتی از بذر افزایش معنی‌داری را نشان داد. کاهش در توانایی جوانه زنی همبستگی معنی‌داری با افزایش تجمع پراکسید و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز داشت. نتایج نشان داد که بذر فرسوده شده در طول پیری زودرس به طور نزدیک مرتبط با کاهش فعالیت آنزیمهای از بین برنده پراکسیداز بودند. رادیکالهای اکسیژن از متابولیسم اکسیداسیونی میتوکندری در طول جوانه زنی بذر مشتق شده‌اند (۲۲). در بذرهای پیر نشده این متابولیتها در سطوح با وضعیت ثابت به علت عمل سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز که از این دهندگان الکترون استفاده می‌کنند قرار دارند و فعالیت این آنزیمها در طول جوانه زنی افزایش می‌یابد (۲۲، ۸ و ۱۲). بنابراین فرسودگی بذر در طول پیری ممکن است وابسته به کارایی بذر در نگهداری سطح کافی از

پتريدشها اضافه شد و سپس پتريدشها در داخل ژرمیناتور در شرایط تاریکی و ۱۸ درجه سانتیگراد برای هفت روز قرار داده شدند و تعداد بذر جوانه زده در هر روز به مدت هفت روز شمارش شد. سرعت جوانه زنی از رابطه ارائه شده بوسیله بیلچر و میلر (۱۹۷۴) محاسبه شد (۵).

$$R_S = \sum_{i=1}^n \frac{S_i}{D_i}$$

R_S سرعت جوانه زنی، S_i تعداد بذرهای جوانه زده در هر شمارش، D_i تعداد روز تا شمارش n ام، n دفعات شمارش می باشد. همچنین برای بدست آوردن شاخص جوانه زنی از فرمول ارائه شده توسط واکر سیمونز و سسینگ (۱۹۹۰) استفاده گردید (۲۸).

$$GI = \frac{7n_1 + 6n_2 + 5n_3 + 4n_4 + 3n_5 + 2n_6 + n_7}{7 \times N}$$

که در آن GI شاخص جوانه زنی، n_1 تعداد بذر جوانه زده در روز اول، n_2 تعداد بذر جوانه زده در روز دوم و ... n_7 تعداد بذر جوانه زده در روز هفتم و N تعداد کل بذر در هر پتری است.

اثر پیری بذر بر فعالیت آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز در مراحل اولیه جوانه زنی

با توجه به نتایج آزمایش مرحله قبل یک ژنوتیپ با بنیه بالا و یک ژنوتیپ با بنیه پایین انتخاب شدند. این آزمون بصورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول ژنوتیپ با دو سطح و فاکتور دوم بنیه با دو سطح قوی و ضعیف و فاکتور سوم آبیگری بذر در سه سطح ۶، ۱۲، ۱۸ ساعت بود.

تعداد ۴۰ عدد بذر از دو تیمار بنیه قوی و بنیه ضعیف برای هر ژنوتیپ بر روی کاغذ صافی استریل در درون پتريدش قرار داده شد. برای ایجاد تیمار بنیه ضعیف در هر ژنوتیپ ابتدا بذور مطابق آزمون ذکر شده در بخش قبل تحت شرایط پیری زودرس قرار گرفتند. سپس به هر پتری دیش پنج میلی لیتر از محلول ساکارز دو درصد اضافه شد (۷) و پتری دیشها در ۱۸ درجه سانتیگراد و شرایط تاریکی قرار گرفتند. در پایان مدت هر تیمار آبیگری، جنین

در شهر کرج کشت گردیدند. محل اجرای طرح در عرض جغرافیایی ۳۵° ۵۶' شمالی و طول جغرافیایی ۵۸° ۵۰' و ارتفاع ۱۳۱۲ متری از سطح دریا قرار دارد و دارای آب و هوای نیمه خشک با متوسط بارندگی سالیانه ۲۴۱ میلی متر می باشد. نوع خاک محل اجرای آزمایش از نوع لومی رسی بود.

ژنوتیپ ها بر روی یک ردیف، هر ژنوتیپ در دو خط یک متری کاشته شدند و بعد از هر پنج ژنوتیپ و در ابتدا و انتهای بلوک دو شاهد والفجر و گرگان کاشته شد. فاصله بین ردیفها ۲۵ سانتی متر در نظر گرفته شد. فاصله بین بوته ها بر روی هر خط پنج سانتی متر و مجموعاً ۴۰ عدد بذر برای هر ژنوتیپ در ارقام شاهد در دو خط کشت گردید. هیچ نوع کودی مصرف نشد. در طول فصل رشد پنج مرتبه آبیاری انجام شد. برای کنترل علفهای هرز یکبار از علف کش 2,4-D استفاده شد و یک مرتبه هم بصورت دستی و جین صورت گرفت.

مطالعات آزمایشگاهی

ارزیابی توان رشد گیاهچه در ژنوتیپ های جو

پس از برداشت ژنوتیپ های جو در مرحله رشدی زادکس ۹۲ (۲۹)، تعداد ۲۰ ژنوتیپ همراه با دو رقم شاهد تحت دو تیمار بدون پیری و پیری قرار گرفتند. این آزمون بصورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ۳ تکرار شامل فاکتور اول ژنوتیپ با ۲۲ سطح و فاکتور دوم بنیه با دو سطح بنیه قوی و بنیه ضعیف بود. در این بررسی به منظور ایجاد بنیه ضعیف آزمون پیری زودرس با استانداردهای انجمن بین المللی تست بذر (۲۵) انجام شد. به منظور ایجاد پیری، بذرها در داخل ژرمیناتور (مدل ساخت شرکت گروک ایران) در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۹۰ درصد بمدت ۳ روز قرار داده شدند. بعد از سه روز بذرها از ژرمیناتور خارج شدند و آزمون جوانه زنی استاندارد بر روی آنها انجام شد.

درصد، سرعت و شاخص جوانه زنی

به منظور انجام آزمون جوانه زنی استاندارد تعداد ۲۵ عدد بذر از هر تیمار در داخل یک پتريدش و بر روی کاغذ صافی قرار داده شدند. پنج میلی لیتر آب مقطر استریل به

و تیمار در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین شاخص جوانه‌زنی (جدول ۳) نشان داد که ژنوتیپ‌های شماره ۱۳ و ۱۵ دارای شاخص جوانه‌زنی بالاتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها در تیمار بدون پیری و دارای تفاوت معنی‌دار با شاهد والفجر و گرگان بودند. ژنوتیپ‌های شماره ۳ و ۱۵ با شاخص جوانه‌زنی بالاتر نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها در تیمار پیری زودرس ظاهر شدند و دارای تفاوت معنی‌دار با شاهد والفجر و گرگان می‌باشند. ژنوتیپ‌های شماره ۲۵ و ۴۰ دارای شاخص جوانه‌زنی کمتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها در تیمار بدون پیری و دارای تفاوت معنی‌دار با شاهد والفجر و گرگان می‌باشند. ژنوتیپ‌های شماره ۲۲، ۲۵ و ۴۳ دارای شاخص جوانه‌زنی کمتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها در تیمار پیری زودرس و دارای تفاوت معنی‌دار با شاهد والفجر و گرگان می‌باشند. بیشترین درصد افت متعلق به ژنوتیپ شماره ۲۵ و کمترین درصد افت متعلق به ژنوتیپ‌های شماره ۱۵ و ۳ بود (جدول ۳).

نتایج تجزیه واریانس سرعت جوانه‌زنی تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال ۰/۰۱ بین ژنوتیپ‌های جوانه‌زنی (جدول ۱) ضریب تغییرات یا پراکندگی حدود ۸/۳۳ درصد و اثر متقابل بین ژنوتیپ و تیمار در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی‌دار بود (جدول ۱).

نتایج مقایسه میانگین سرعت جوانه‌زنی در جدول ۴ نشان داده شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود ژنوتیپ‌های شماره ۱۳ و ۱۵ دارای سرعت جوانه‌زنی بالا در تیمار بدون پیری و دارای تفاوت معنی‌دار با شاهد والفجر و گرگان می‌باشند. همچنین ژنوتیپ‌های شماره ۳ و ۱۵ دارای سرعت جوانه‌زنی بالا در تیمار پیری زودرس می‌باشند. ژنوتیپ شماره ۱۵ دارای تفاوت معنی‌دار با شاهد والفجر و گرگان می‌باشد و ژنوتیپ شماره ۳ دارای تفاوت معنی‌دار با شاهد والفجر می‌باشد.

ژنوتیپ‌های شماره ۲۵ و ۴۰ دارای کمترین سرعت جوانه‌زنی در تیمار بدون پیری هستند و تفاوت معنی‌داری با شاهد والفجر نشان دادند. ژنوتیپ‌های شماره ۲۲ و ۲۹ دارای کمترین سرعت جوانه‌زنی در تیمار پیری هستند و دارای تفاوت معنی‌دار با شاهد والفجر و گرگان می‌باشند. بیشترین درصد افت متعلق به ژنوتیپ‌های شماره ۲۲، ۲۵ و

ها از بذور جدا شده، در نیتروژن مایع منجمد شدند و در فریزر ۷۰- درجه سانتیگراد تا زمان استخراج آنزیم نگهداری شدند. برای تهیه محلول بافر استخراج، استخراج پروتئین جنین بذر، و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز از روش تغییر یافته برنال و همکاران (۲۰۰۰) استفاده شد (۷). محاسبات آماری:

داده‌های بدست آمده از لحاظ توزیع و یکنواختی واریانس مورد بررسی قرار گرفته و سپس به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی و طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵٪ انجام گرفت. برای تجزیه‌های آماری از نرم‌افزارهای SAS و C-MSTAT و Excel 2000 استفاده شد.

نتایج و بحث

اثر پیری بذر بر درصد، شاخص و سرعت جوانه‌زنی :

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که ژنوتیپ‌ها و سطوح بنیه تفاوت معنی‌داری در درصد جوانه‌زنی در سطح احتمال ۰/۰۱ دارند (جدول ۱). ضریب تغییرات یا پراکندگی حدود ۴/۷۴ درصد و اثر متقابل بین ژنوتیپ و تیمار در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی‌دار بود. ژنوتیپ‌های میانگین ۱۰۰ درصد جوانه‌زنی دارای بیشترین درصد جوانه‌زنی در تیمار بدون پیری بودند که می‌توان به تعدادی از آن‌ها مانند ژنوتیپ‌های شماره ۱۵، ۵ و ۳ اشاره کرد ولی دارای تفاوت معنی‌دار با شاهد والفجر و گرگان نمی‌باشند (جدول ۲). ژنوتیپ‌های شماره ۷، ۲۲، ۲۵ و ۲۹ با درصد جوانه‌زنی کمتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها و شاهد در تیمار بدون پیری و پیری زودرس بودند و تفاوت معنی‌داری با شاهد والفجر و گرگان داشتند. کمترین درصد افت متعلق به ژنوتیپ شماره ۳، ۱۵ و بیشترین درصد افت متعلق به ژنوتیپ‌های شماره ۷ و ۲۵ بود (جدول ۲).

نتایج تجزیه واریانس برای شاخص جوانه‌زنی نشان داد که تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۱ بین ژنوتیپ‌ها و سطوح بنیه وجود دارد (جدول ۱). ضریب تغییرات یا پراکندگی حدود ۴/۸۴ درصد است و اثر متقابل بین ژنوتیپ

در ژنوتیپ با بنیه بالا بیشتر از ژنوتیپ با بنیه پایین بود (نمودار ۱).

جدول ۱- میانگین مربعات صفات بررسی شده در ۲۲ ژنوتیپ جو در آزمون رشد گیاهچه

منابع تغییرات	درجه آزادی	سرعت جوانه زنی	شاخص جوانه زنی	درصد جوانه زنی
بلوک	۲	۱/۶۲ ns	۰/۰۰۵۸**	۲۷/۲۸ns
ژنوتیپ	۲۱	۱۸/۲۸**	۰/۰۶۴**	۸۹۰/۲۳**
بنیه	۱	۱۷۶۵/۳۶**	۶/۴۴**	۵۴۵۳۴/۰۱**
بنیه × ژنوتیپ	۲۱	۵/۰۵**	۰/۰۳۴**	۵۷۴/۷۷**
خطا	۸۶	۰/۵۳	۰/۰۰۱	۱۳/۶۱
ضریب تغییرات		۸/۳۳	۴/۸۴	۴/۷۴

ns ، * و ** به ترتیب به معنی غیر معنی دار بودن، معنی دار در سطح ۵ و ۱ درصد .

جدول ۲- اثر پیری بذر بر درصد جوانه زنی ۲۰ ژنوتیپ جو و دو رقم شاهد

شماره	ژنوتیپ	درصد جوانه زنی (تیمار شاهد)	درصد جوانه زنی (تیمار پیری)	درصد افت
۱	CGN00001	۹۷/۳۳	۴۲/۶۷	۵۶/۱۶
۲	CGN00007	۱۰۰	۸۲/۶۷	۱۷/۳۳
۴	CGN00008	۹۶	۳۴/۶۷	۶۲/۸۸
۵	CGN00009	۱۰۰	۸۱/۳۳	۱۸/۶۷
۷	CGN00012	۹۶	۳۱	۶۷/۷۱
۱۳	CGN00025	۱۰۰	۷۷/۳۳	۲۲/۶۷
۱۵	CGN00027	۱۰۰	۸۴	۱۶
۱۷	CGN00029	۱۰۰	۷۸/۶۷	۲۱/۳۳
۱۸	CGN00030	۱۰۰	۷۲/۳۳	۲۶/۶۷
۲۱	CGN00034	۱۰۰	۶۶/۶۷	۳۳/۳۳
۲۲	CGN00035	۹۶	۳۲	۶۴/۶۷
۲۵	CGN00038	۸۸	۲۲/۶	۷۲/۳۳
۲۹	CGN00043	۹۳/۳۳	۳۲	۶۵/۷۱
۳۱	CGN00046	۱۰۰	۶۹/۳۳	۳۰/۶۷
۳۲	CGN00048	۱۰۰	۷۲	۲۸
۳۸	CGN00054	۹۷/۳۳	۴۲/۶۷	۵۶/۱۶
۴۰	CGN00057	۹۷/۳۳	۳۷/۳۳	۶۱/۶۵
۴۲	CGN00060	۱۰۰	۶۹/۳۳	۳۰/۶۷
۴۳	CGN00062	۹۷/۳۳	۳۳/۳۳	۶۵/۷۶
۴۵	CGN00064	۱۰۰	۴۰	۶۰
۴۶	والفجر	۱۰۰	۸۲/۶۷	۱۷/۳۳
۴۷	مزرگان	۱۰۰	۷۷/۳۳	۲۲/۶۷
LSD		۳/۴۸	۷/۶۰۳	

۲۹ و کمترین درصد افت متعلق به ژنوتیپ های شماره ۳ و ۱۵ می باشد.

نتایج نشان داد که روند و پاسخ ژنوتیپ ها به تیمار پیری زودرس یکسان نبوده و پیری زودرس سبب کاهش سرعت، درصد و شاخص جوانه زنی شده است. در تحقیقی که توسط جاتوی و همکاران (۱۵) بر روی نخود تحت دو تیمار بدون پیری و پیری زودرس انجام شد مشخص گردید که پیری زودرس سبب کاهش سرعت و درصد و شاخص جوانه زنی می شود. آنها علت این امر را کاهش قابلیت حیات بذر بیان کردند. مدرسی و همکاران (۱۹) بیان کردند که پیری زودرس سبب کاهش سرعت و درصد جوانه زنی گندم می شود. این نتایج مشابه نتایجی است که پدرسن و همکاران (۲۰)، هامپتون و همکاران (۱۴)، سیمیک و همکاران (۲۳)، باسو و همکاران (۴) بر روی گندم، جو، نخود، ذرت گزارش نمودند.

اثر پیری بذر بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت کاتالاز و پراکسیداز در مراحل اولیه جوانه زنی:

نتایج آزمون رشد گیاهچه نشان داد که پیری زودرس سبب کاهش بنیه بذر می شود و ژنوتیپ ها با بنیه بالا دارای صفات جوانه زنی بالاتری نسبت به سایر ژنوتیپ ها بودند. بدین منظور دو ژنوتیپ یکی با بنیه بالا (CGN00027) و دیگری با بنیه پایین (CGN00038) انتخاب شدند تا فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت پراکسیداز و کاتالاز در مراحل اولیه جوانه زنی در این دو ژنوتیپ تحت دو تیمار پیری زودرس و بدون پیری بررسی شود.

بررسی فعالیت آنزیم کاتالاز

نتایج تجزیه واریانس آنزیم کاتالاز نشان داد که اثر متقابل ساعات مختلف آبیگری و ژنوتیپ در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی دار است (جدول ۵). در این بررسی با افزایش ساعت آبیگری از ۶ ساعت به ۱۸ ساعت فعالیت آنزیم کاتالاز در هر دو ژنوتیپ افزایش یافت و میزان فعالیت آنزیم در ژنوتیپ با بنیه بالا بیشتر از ژنوتیپ با بنیه پایین بود. همچنین روند افزایش فعالیت آنزیم با افزایش ساعت آبیگری

جدول ۳- اثر پیزی بذر بر شاخص جوانه‌زنی ۲۰ ژنوتیپ

شماره	ژنوتیپ	شاخص جوانه‌زنی	
		شاخص جوانه‌زنی (تیمار شاهد)	شاخص جوانه‌زنی (تیمار پیری) درصد افت
۱	CGN00001	۰/۷۹۳	۰/۲۵
۳	CGN00007	۰/۷۸۳	۰/۶۱۷
۴	CGN00008	۰/۸۰۷	۰/۲۰
۵	CGN00009	۰/۸۴۳	۰/۵۸
۷	CGN00012	۰/۸۱۳	۰/۱۹۳
۱۳	CGN00025	۰/۸۷۷	۰/۵۲
۱۵	CGN00027	۰/۸۹۰	۰/۶۶۳
۱۷	CGN00029	۰/۸۴۷	۰/۵۶
۱۸	CGN00030	۰/۸۶	۰/۵۰
۲۱	CGN00034	۰/۸۵۷	۰/۴۸۷
۲۲	CGN00035	۰/۸۱۳	۰/۱۶۳
۲۵	CGN00038	۰/۷۲۷	۰/۱۲
۲۹	CGN00043	۰/۷۹	۰/۱۹
۳۱	CGN00046	۰/۸۳۳	۰/۴۵۳
۳۲	CGN00048	۰/۸۵	۰/۴۹
۳۸	CGN00054	۰/۸۲۷	۰/۲۵۷
۴۰	CGN00057	۰/۷۸۳	۰/۲۳۳
۴۲	CGN00060	۰/۸۵	۰/۴۵
۴۳	CGN00062	۰/۷۹۳	۰/۱۶۷
۴۵	CGN00064	۰/۸۲۷	۰/۲۵۷
۴۶	والفجر	۰/۸۳	۰/۵۴۷
۴۷	مگرگان	۰/۸۳۳	۰/۵۵
LSD		۰/۰۴۳	۰/۰۵۱۵

سطح احتمال ۰/۰۱ معنی دار شد. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در هر دو ژنوتیپ در تیمار بدون پیری بیشتر از تیمار پیری زودرس بود و میزان فعالیت آنزیم در ژنوتیپ جو با بنیه بالا در هر دو تیمار بیشتر از ژنوتیپ جو با بنیه پایین بود. نتایج نشان داد که پیری زودرس سبب کاهش فعالیت آنزیم می شود. مقایسه درصد افت آنزیم در تیمار بدون پیری و پیزی زودرس نشان داد که درصد افت فعالیت آنزیم در ژنوتیپ با بنیه بالا حدود ۴۱٪ و در ژنوتیپ با بنیه پایین ۶۸٪ بوده و این نشان دهنده درصد افت بیشتر ژنوتیپ با بنیه پایین بود (نمودار ۳).

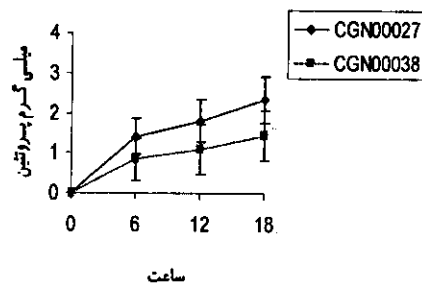
جدول ۴- اثر پیری بذر بر سرعت جوانه‌زنی ۲۰ ژنوتیپ جو و دو رقم شاهد

شماره	ژنوتیپ	سرعت جوانه‌زنی	
		سرعت جوانه‌زنی (تیمار شاهد)	سرعت جوانه‌زنی (تیمار پیری) درصد افت
۱	CGN00001	۱۱/۴۹	۳/۲۶
۳	CGN00007	۱۱/۹۲	۸/۲۳
۴	CGN00008	۱۱/۳۴	۲/۴۵
۵	CGN00009	۱۲/۵۳	۷/۰۷
۷	CGN00012	۱۱/۶۸	۲/۲۶
۱۳	CGN00025	۱۵/۹۴	۶/۵۴
۱۵	CGN00027	۱۵/۵۵	۱۰/۴۵
۱۷	CGN00029	۱۲/۶	۷/۲۴
۱۸	CGN00030	۱۳/۸۹	۶/۴۱
۲۱	CGN00034	۱۲	۶/۳۲
۲۲	CGN00035	۱۱/۷۸	۲/۰۲
۲۵	CGN00038	۱۰/۹۳	۲/۱۳
۲۹	CGN00043	۱۱/۴۵	۲/۰۵
۳۱	CGN00046	۱۲	۶/۳۸
۳۲	CGN00048	۱۲/۷۲	۶/۴۳
۳۸	CGN00054	۱۲/۰۷	۳/۲۵
۴۰	CGN00057	۱۱/۱۶	۳/۳
۴۲	CGN00060	۱۲/۷۱	۶/۲۳
۴۳	CGN00062	۱۱/۵	۲/۱۶
۴۵	CGN00064	۱۱/۶۲	۳/۴۵
۴۶	والفجر	۱۲/۶۲	۶/۷۷
۴۷	مگرگان	۱۲/۱	۷/۲۷
LSD		۱/۳۴	۱/۰۴۹

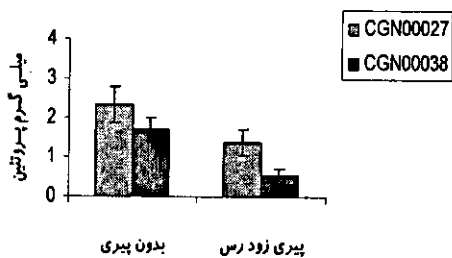
اثر متقابل بین ساعات آبیگری و بنیه برای فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی دار بود (جدول ۵). همچنین نتایج نشان داد که در هر دو تیمار پیری زودرس و بدون پیری با افزایش ساعت آبیگری از ۶ ساعت به ۱۸ ساعت میزان فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش یافت اما، میزان فعالیت آنزیم در تیمار پیری زودرس کمتر از تیمار بدون پیری بود.

مقایسه میانگین ها در تیمار پیری زودرس و بدون پیری در ۶ ساعت آبیگری نشان داد که فعالیت آنزیم حدود ۵۸٪ کاهش یافت و این کاهش در ۱۲ ساعت آبیگری حدود ۵۴٪ و در ۱۸ ساعت آبیگری حدود ۴۸٪ بود. نتایج نشان داد که پیری زودرس سبب کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز می شود (نمودار ۲). همچنین اثر متقابل بین ژنوتیپ و بنیه در

سطح احتمال ۰/۰۱ معنی دار بود (جدول ۵). با افزایش ساعات آبیگری از ۶ ساعت به ۱۸ ساعت میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در هر دو ژنوتیپ افزایش یافت ولی میزان فعالیت آنزیم در ژنوتیپ جو با بنیه بالا بیشتر بود. همچنین روند افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در ژنوتیپ با بنیه بالا بیشتر از ژنوتیپ با بنیه پایین در هر سه زمان آبیگری بود (نمودار ۴).



نمودار ۱- فعالیت آنزیم کاتالاز در جنین بذور دو ژنوتیپ جو با بنیه های متفاوت در مراحل اولیه جذب آب

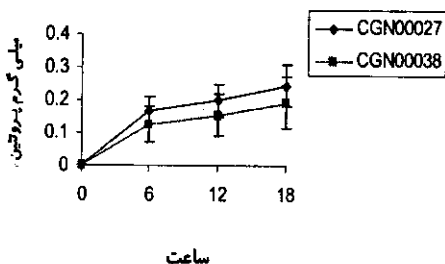


جدول ۵- میانگین مربعات فعالیت آنزیمهای پراکسیداز و کاتالاز در دو ژنوتیپ جو با بنیه های متفاوت

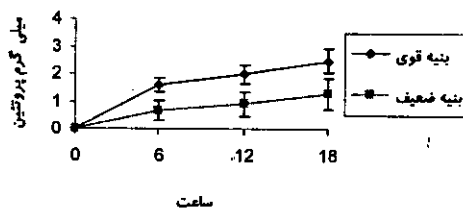
منبع تغییرات	درجه آزادی	فعالیت آنزیم کاتالاز	فعالیت آنزیم پراکسیداز
ساعات آبیگری	۲	۱/۷۶۳**	۰/۰۱۵۷**
ژنوتیپ	۱	۴/۸۷۴**	۰/۰۱۹۵**
بنیه	۱	۹/۹۶۱**	۰/۱۰۳۸**
ساعات آبیگری × ژنوتیپ	۲	۰/۰۸۳۹**	۰/۰۰۰۱**
ژنوتیپ × بنیه	۱	۰/۰۷۶۴**	۰/۰۰۱۵**
ساعات آبیگری × بنیه	۲	۰/۰۵۸۵**	۰/۰۰۱۳**
ساعات آبیگری × بنیه × ژنوتیپ		۰/۰۰۲۲**	۰/۰۰۰۰۰۰۴۴ ^{ns}
خطا	۲۴	۰/۰۰۰۰۲۲	۰/۰۰۰۰۰۱
ضریب تغییرات		۰/۳۲	۱/۷۶

** معنی دار بودن در سطح احتمال یک درصد

نمودار ۳- اثر تیمار پیری بر فعالیت آنزیم کاتالاز در جنین بذور دو ژنوتیپ جو



نمودار ۴- فعالیت آنزیم پراکسیداز در جنین بذور دو ژنوتیپ جو با بنیه های متفاوت در مراحل اولیه جذب آب



نمودار ۲- فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمارهای بنیه قوی و بنیه ضعیف در مراحل اولیه جذب آب

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل بین ساعات مختلف آبیگری و تیمار بنیه در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی دار است (جدول ۵). در این بررسی با افزایش ساعات آبیگری از ۶ ساعت به ۱۸ ساعت میزان فعالیت پراکسیداز در هر دو تیمار افزایش یافت اما میزان فعالیت این آنزیم در تیمار پیری در هر سه زمان آبیگری کمتر از تیمار بدون پیری بود. درصد افت فعالیت آنزیم در ۶ ساعت آبیگری در تیمار پیری زودرس حدود ۴۷٪، در ۱۲ ساعت آبیگری حدود ۴۶٪ و در ۱۸ ساعت آبیگری ۴۵٪ بود. این نتایج نشان داد که پیری زودرس سبب کاهش فعالیت آنزیم

بررسی فعالیت آنزیم پراکسیداز

نتایج تجزیه واریانس فعالیت آنزیم پراکسیداز نشان داد که اثر متقابل بین ساعات مختلف آبیگری و ژنوتیپ در

آنزیم های پراکسیداز و کاتالاز از آنتی اکسیدانت های مهم و از بین برنده رادیکال های آزاد که از متابولیسم اکسیداسیونی میتوکندری در طول جوانه زنی بذر مشتق شده اند هستند. بنابراین مطالعه فعالیت این آنزیم ها در شناخت بنیه بذر مهم است. در تحقیق ورما و همکاران (۲۷) در بذور براسیکا مشخص شده که پیری سبب کاهش فعالیت آنزیم می شود که همراه با کاهش قابلیت حیات می باشد. در مطالعه ای که توسط گوال و همکاران (۱۳) بر زوی بذور پنبه تحت شرایط پیری زودرس انجام گرفت مشخص شد که توانایی جوانه زنی کاهش یافته است. کاهش در توانایی جوانه زنی همبستگی با کاهش فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانت پراکسیداز و کاتالاز داشت. نتایج نشان داد که فرسودگی بذر در طول پیری زودرس به طور نزدیک مرتبط با کاهش در فعالیت آنزیم های از بین برنده رادیکال های آزاد است.

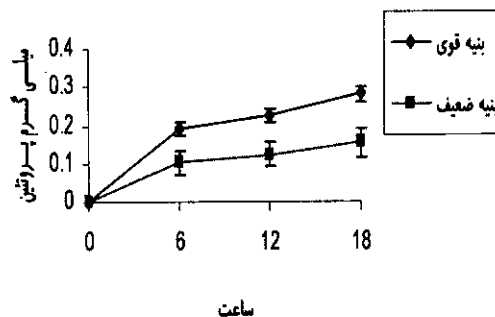
در مطالعه ای توسط برنال و همکاران (۷) بر روی ذرت مشخص شد که فعالیت پراکسیداز و کاتالاز در محور های جنینی بذر های پیر شده پایین بود و این ممکن است منجر به تجمع H_2O_2 شود که احتمالا جوانه زنی بیشتر را به طور مستقیم یا از طریق تشکیل رادیکال های هیدروکسیل ممانعت می کند.

مقایسه فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز در هر دو ژنوتیپ با بنیه قوی و ضعیف نشان داد که پیری زودرس سبب کاهش هر دو آنزیم می شود. اما، میزان افت آنزیم کاتالاز در هر دو ژنوتیپ بیشتر از آنزیم پراکسیداز بود. در واقع آنزیم کاتالاز نسبت به آنزیم پراکسیداز بیشتر تحت تاثیر پیری قرار گرفت، بنابراین می توان پیشنهاد نمود که آنزیم کاتالاز نقش کلیدی تری در جوانه زنی بذر جو نسبت به آنزیم پراکسیداز دارد.

نتیجه گیری

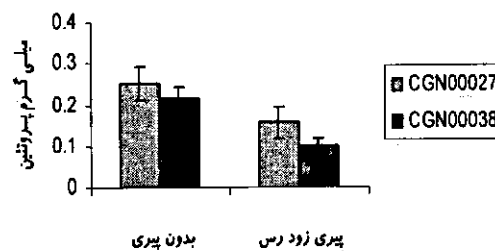
نتایج این تحقیق نشان داد که پیری بذر سبب کاهش بنیه بذر می شود و این موضوع از طریق کاهش درصد، سرعت، و شاخص جوانه زنی خود را نشان می دهد. تعدادی از ژنوتیپ ها مانند شماره ۱۳، ۱۵، ۲۲ در بین ژنوتیپ های موجود دارای بنیه بالاتری بودند که می توان در برنامه های به نژادی از این ارقام استفاده نمود در حالی که،

پراکسیداز در ساعات مختلف آبیگری می شود، روند افزایش فعالیت آنزیم در ساعات مختلف آبیگری در تیمار بدون پیری بیشتر بود (نمودار ۵).



نمودار ۵- فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمارهای بنیه در مراحل اولیه جذب آب

همچنین، نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل بین تیمار بنیه و ژنوتیپ در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی دار می باشد. میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در هر دو ژنوتیپ جو در تیمار بدون پیری بیشتر از تیمار پیری زودرس بود. میزان فعالیت آنزیم در دو ژنوتیپ با بنیه بالا در هر دو تیمار بدون پیری و پیری زودرس بیشتر بود. مقایسه درصد افت فعالیت آنزیم پراکسیداز در هر دو ژنوتیپ در دو تیمار پیری زودرس و بدون پیری نشان داد که درصد افت ژنوتیپ با بنیه بالا در تیمار پیری زودرس حدود ۳۸٪ و درصد افت ژنوتیپ با بنیه پایین ۵۵٪ بود، همچنین نتایج نشان می دهد که پیری زودرس سبب کاهش فعالیت آنزیم می شود (نمودار ۶).



نمودار ۶- اثر تیمار پیری بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در جنین بذور دو ژنوتیپ جو

کاتالاز بیشتر تحت تاثیر پیری بذر قرار گرفت و این آنزیم می تواند نقش مهمتری در جوانه زنی بذر جو نسبت به آنزیم پراکسیداز داشته باشد.

سپاسگزاری

مقاله فوق برگرفته از طرح تحقیقاتی ارزیابی بنیه بذر در ژرم پلاسما جو می باشد که هزینه آن توسط قطب علمی گیاهان علوفه ای دانشگاه تهران تامین گردیده است و بدینوسیله تقدیر و سپاسگزاری می گردد.

ژنوتیپ های شماره ۲۵ و ۲۹ دارای بنیه پایین تری نسبت به سایر ژنوتیپ ها دارند. صفات ژنتیکی برتر در برخی از ژنوتیپ ها می تواند دلیل بالا بودن بنیه آن ها باشد. فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت به عنوان یکی از دلایل فیزیولوژیکی مهم مورد بررسی قرار گرفت و نتایج این تحقیق نشان داد که آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز که دو آنزیم مهم برای از بین بردن رادیکال های آزاد در جوانه زنی بذر هستند تحت تاثیر پیری بذر قرار گرفته و پیری بذر سبب کاهش فعالیت این آنزیم ها می شود. فعالیت آنزیم

REFERENCES

1. Abdul-Baki, A.A., and J.D. Anderson. 1973. Vigour deterioration in soybean seeds by multiple criteria. *Crop Science*, 13: 630-633.
2. Anderson, J.D., and K. Gupta. 1986. Nucleotide alternation during seed deterioration. pp. 47-63. In: Mc Donald, M.B. and C.J. Nelson, (eds). *Physiology of Seed Deterioration*. Crop Science Society of America, Special Publication NO.11.1986, Madison, Wisconsin:
3. Basra, S.M.A., N. Ahmad, M.M. Khan, N. Iqbal and M.A. Cheema. 2003. Assessment of cotton seed deterioration during accelerated ageing. *Seed Science and Technology*, 31: 531-540.
4. Basu, S., S.P. Sharma, and M. Dadlani. 2004. Storability studies on maize (*Zea mays* L.) parental line seeds under natural and accelerated ageing conditions. *Seed Science and Technology*, 32: 239-245.
5. Belcher, E.W. and L. Miller. 1974. Influence of substrate moisture level on the germination of sweet gum and pine seed. *Proceeding of the Association of Official Seed Analysis*, 65: 88-89.
6. Berjak, P. and T.A. Villers. 1972. Aging in plant embryos: Acceleration of senescence following artificial ageing treatment. *New Phytology*, 71: 513-518.
7. Bernal, L., A. Camacho, and A. Carballo. 2000. Effect of seed ageing on the enzymic antioxidant system of maize cultivars. pp.157-160. In: Black, M., K.J. Bradford, and J. Vazquez-Ramos (eds.). *Seed Biology*. CABI Publshing. UK.
8. Cakmak, I., S. Dragan, and H. Marschner. 1993. Activities of hydrogen - prooxide scavenging enzymes in germinating wheat seeds. *Journal of Experimental Botany*, 44: 127-133.
9. Cookson, W.R., J.S. Rowarth, and J.R. Sedcole. 2001. Seed vigour in perennial ryegrass (*Lolium Perennel.*): Effect and Cause. *Seed Science and Technology*, 29: 255-270.
10. Das, G. and S. Sen-Mandi. 1988. Root formation in deteriorated (aged) wheat embryos. *Plant Physiology*, 88: 983-986.
11. Gasper, T., C. Penel, J.F. Gastillo, and H. Greppin. 1985. A two step control of basic and acidic peroxidases and its significant for growth and development. *Physiologia Plantarum*, 64: 418-423.
12. Gidrol, X., W. S. Lin, N. Degousee, S.F. Yip, and A. Kush. 1994. Accumulation of reactive oxygen species and oxidant of cytokinin in germination soybean seeds. *European Journal of Biochemistry*, 224: 21-28.
13. Goel, A., A.K Goel, and I.S. Sheoran. 2003. Changes in oxidative stress enzymes during artificial ageing in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) seeds. *Journal of Plant Physiology*, 160: 1093-1100.
14. Hampton, J.G., R.J. Brunton, G.M. Pemberton and J.S. Rowarth. 2004. Temperature of Pea (*Pisum Sativum* L.) seed. *Seed Science and Technology*, 32: 267-264.
15. Jatoi, S.A., M. Afzal, S. Nasim, and R. Anwar. 2001. Seed deterioration study in pea, using accelerated ageing techniques. *Pakistan Journal of Biological Science*, 4: 1490-1494.

16. Lee, S.Y., J.H. Lee, and T.O.K. Won. 2002. Variation differences in seed germination and seedling vigor of Korean rice varieties following dry heat treatment. *Seed Science and Technology*, 30: 311-327.
17. McDonald, M.B. 2004. Orthodox seed deterioration and its repair. pp. 273-304. In: Benech- Arnold, R.L. and R.A. Sanchez. (eds). *Handbook of Seed Physiology*. Food Product Press. UK.
18. McDaniel, R.G. 1969. Relationship of seed weight, seedling vigour and mitochondrial metabolism in barley. *Crop Science*, 9: 823-827.
19. Modarresi, R., M. Rucker, and D.M. Tekrony. 2002. Accelerating ageing test for comparing wheat seed vigour. *Seed Science and Technology*, 30: 683-687.
20. Pedersen, L.H., P.E. Jorgensen, and I. Poulsen. 1993. Effect of seed vigor and dormancy on field emergence, development and grain yield on winter wheat and winter barley. *Seed Science and Technology*, 21: 159-178.
21. Puntarulo, S. and A. Boveris. 1990. Effect of natural and accelerated ageing on the hydroperoxide metabolism of soybean embryonic axes. *Plant Science*, 69: 27-32.
22. Puntarulo, S., M. Galleano, R.A. Sanchez, and A. Boveris. 1991. Superoxide anion and hydrogen peroxide metabolism in soybean embryonic axes during germination. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1047: 277-283.
23. Simic, A., S. Sredojevic, M. Todorovic, L. Dukanovic, and C. Radenovic. 2004. Studies on the relationship between the content of total phenolics in exudates and germination ability of maize seed during accelerated ageing. *Seed Science and Technology*, 32: 213-218.
24. Simontacchi, M., A. Caro, G.G. Fraga, and S. Puntarulo. 1993. Oxidative stress affects α -tocopherol content in soybean embryonic axes during germination. *Plant Physiology*, 103: 949-953.
25. Soltani, A.E. Leinali, S. Galeshi, and N. Latifi. 2001. Genetic variation for and interrelationship among seed vigor traits in wheat from the Caspian sea coast of Iran. *Seed Science and Technology*, 29: 653-662.
26. Sung, J.M. and C.C. Chiu. 1995. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes of naturally aged soybean seed. *Plant Science*, 110: 45-52.
27. Verma, S.S., U. Verma, and R.P.S. Tomer. 2003. Studies on seed quality parameters in deteriorating seeds in Brassica (*Brassica campestris*). *Seed Science and Technology*, 31: 389-396.
28. Walker-Simmons, M.K. and J. Sesing. 1990. Temperature effects on embryonic abscisic acid levels during development of wheat grain dormancy. *Journal of Plant Growth Regulation*, 9: 51-56.