پژوهشنامه گیاهان دانه روغنی ایران
جلد چهارم، شماره اول، ۱۳۹۴
http://ijop.areo.ir

تاثیر زوال بذر بر سبز شدن و میزان پراکسیداسیون لیپید آفتابگردان تحت شرایط تنش‌های خشکی و شوری

هادی نجفی‌نوایی*[1]، عباسعلی نوری‌نیا[2]، حسین غلامی تیله بنی[1] و هادی اسلامی[1]
[1]دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان، باشگاه پژوهشگران جوان، گرگان، ایران.
[2]استادیار پژوهش مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان، گرگان

چکیده

این آزمایش به منظور بررسی تاثیر سطوح فرسودگی بذر بر سبز شدن افتابگردان تحت شرایط تنش‌های خشکی و شوری در سال ۱۳۹۱ به صورت فاکتوریل دو عاملی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایشی عبارت بودند از فاکتور A شامل تنش‌های محیطی در پنج سطح شامل: شاهد (بدون تنش)، شوری در دو سطح متوسط (۷ دسی زیمنس بر متر) و شدید (۱۴ دسی زیمنس بر متر)، خشکی در دو سطح متوسط (۴- بار) و شدید (۸- بار) و فاکتورB شامل پیری بذر در چهار سطح ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت. در این تحقیق درصد، سرعت و یکنواختی سبز شدن، ۵۰ درصد (D50) زمان لازم برای رسیدن به حداکثر سبزشدن، هدایت الکتریکی غشاء، پراکسیداسیون لیپید و رشد هتروتروفیک گیاهچه که شامل دو جزء است: ۱) مقدار ذخایر بذر انتقال یافته یا پویا شده، ۲) کارایی تبدیل ذخایر بذر انتقال یافته به بافت گیاهچه، اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که با افزیش تسریع پیری فاکتورهای بیوشمیایی پراکسیداسیون لیپید و هدایت الکتریکی غشاء پلاسمایی افزایش یافت. در این آزمایش صفاتی نظیر درصد، سرعت و یکنواختی سبز شدن، رشد هتروتروفیک گیاهچه با افزایش زوال بذر کاهش یافت.

واژه‌های کلیدی: آفتابگردان، سبز شدن، پیری بذر، پراکسیداسیون لپید.

*مسئول مکاتبه: hadinajafinavaey@yahoo.com

مقدمه

سبز شدن، یکی از مهم‌ترین مراحل فنولوژیک گیاه است که تعیین‌کننده درجه موفقیت نظام‌های زراعی در تولید می‌باشد (Forcella *et al*., 2000). در این مرحله رشد گیاه به شدت تحت تاثیر عوامل محیطی به‌ویژه رطوبت خاک، شوری (Soltani *et al*., 2006) و کیفیت، قابلیت حیات و قدرت بذر قرار می‌گیرد (De Figueiredo *et al*., 2003). در اغلب محصولات زراعی قدرت بذر در زمان رسیدگی فیزیولوژیک در بالاترین مقدار قرار دارد. در عین حال بنیه بذر طی دوره انبارداری در همین وضعیت باقی نمانده و بذرها در زمان انبارداری نامناسب رطوبت و دمای بالا زوال پیدا می‌کنند که این زوال منجر به کاهش. کیفیت بذر می‌گردد (Barsa *et al*., 2003). وجود تنش‌های همزمان خشکی و شوری جوانه‌زنی و سبز شدن گیاهان را با محدودیت مواجه می‌کنند. این دو عامل محیطی از یک طرف باعث کاهش پتانسیل آب خاک و از طرف دیگر با ایجاد سمیت و تجمع نمک برروی بذرها، در انتقال مواد غذایی به بافت گیاهچه، اختلال به‌وجود آورده و سبز شدن را به تاخیر می‌اندازد (Cachorro and Ortiz,2003). تنش شوری و خشکی و عدم دقت کافی در انباداری بذرها، می‌تواند بر سبزشدن و در نهایت تولید گیاهان زراعی اثر داشته باشد. یکی ازگیاهان مهم برای اقلیم کشورآفتابگردان می‌باشدکه باکیفیت بالای روغن دانه و تحمل نسبتاً زیاد به خشکی وتنش آبی سهم به‌سزایی در زراعت کشور ما دارد (Mobasery and Piry, 2014; Karimzadeh *et al*., 2015). از نظر تغذیه، روغن آفتابگردان به‌دلیل داشتن مقادیر فراوانی از اسیدهای چرب اشباع نشده نظیر اسیدهای چرب لینولئیک و اولئیک مورد توجه می‌باشد. دانه آفتابگردان بسته به ارقام مختلف دارای ۲۶ تا ۵۰ درصد روغن می باشد (سیلر، ۲۰۱۲). جوانه زدن و ظهور گیاهچه به انرژی زیادی احتیاج دارد که از طریق فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز، تجزیه، انتقال و استفاده از مواد ذخیره‌ای تامین می‌شود. طبق گزارش‌های موجود با فرسودگی بذر در گیاه آفتابگردان میزان آلفا و بتا آمیلاز که از آنزیم‌های هیدرولیتیک در فرآیند جوانه‌زنی است، کاهش می‌یابد که می‌تواند بروی انتقال مواد به بافت گیاهچه تاثیر بگذارد. شرایط انبارداری متفاوت می‌تواند باعث ایجاد اختلاف معنی‌داری در جوانه‌زنی و سبز شدن گیاه شود (Marshal and Lewis, 2004).

به منظور بررسی اثر زوال بر ویژگی جوانه‌زنی و بنیه بذر آفتابگردان تاجی و همکاران (۲۰۱۵) سه رقم آفتابگردان (هایسان ۲۵، پروگرس، لاکومکا) و زوال بذر به‌صورت تسریع پیری در چهار سطح (صفر (شاهد)، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت) در دمای ۴۳ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۱۰۰ درصد مورد بررسی قرار دادند. آنها گزارش کردند که اثر زوال و رقم بر روی تمام صفات در سطح یک درصد معنی‌دار بود. اما اثرات متقابل رقم و زوال برتمامی صفات به جز سرعت جوانه‌زنی و یکنواختی جوانه‌زنی در سطح یک درصد معنی‌دار شد. نتایج نشان داد با افزایش زوال بذر، شروع و پایان موثر جوانه‌زنی

افزایش و درصد جوانه‌زنی نهایی کاهش یافت. همچنین در آزمون رشد گیاهچه مشخص شد که اثر رقم بر میزان استفاده از ذخایر بذر در سطح ۵ درصد و وزن خشک گیاهچه در سطح یک درصد معنی‌دار بود. بذرها طی دوره انبارداری زوال پیدا می‌کنند. این امر منجر به کاهش کیفیت بذر و به دنبال آن ظرفیت جوانه‌زنی و قوه نامیه نیز کاهش می‌یابد (Tajii *et al.*, 2015). همچنین در آزمایشی تاثیر زوال بذر بر جوانه‌زنی ورشد گیاهچه ارقام آفتابگردان بررسی شد. نتایج نشان داد که درصد، سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی، وزن خشک گیاهچه، طول ریشه چه و ساقه چه با افزایش دوره زوال به‌طور خطی در تمام ارقام کاهش یافت. همچنین نتایج این آزمایش نشان دادکه تحت شرایط زوال کیفیت بذر ارقام آفتابگردان کاهش می‌یابد (Rassam *et al.*, 2015).

با توجه به این که آفتابگردان یکی از گیاهان روغنی مهم است، اما مطالعه زیادی بر روی زوال بذر آن صورت نگرفته است. این تحقیق با هدف بررسی تاثیر زوال بذر بر خصوصیات فیزیولوژی و بیوشمیایی آفتابگردان تحت شرایط تنش‌های خشکی و شوری انجام شده است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۰ به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. در این آزمایش دو عامل (a) تنش‌های محیطی در پنج سطح، شاهد (بدون تنش)، شوری در دو سطح متوسط (۷ دسی زیمنس بر متر) و شدید (۱۴ دسی زیمنس بر متر)، خشکی در دو سطح متوسط (۴- بار) و شدید (۸- بار) و عامل (b) شامل پیری بذر در چهار سطح ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت، مورد بررسی قرار گرفتند.

روش تسریع پیری: برای این منظور ابتدا تعداد ۵۰۰ بذر آفتابگردان انتخاب شدند. برای پیری بذر از روش تسریع پیری استفاده شد (Basra *et al.*, 2003). در این روش بذرها برای دوره‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۰ درصد قرار گرفتند. برای این کار بذور را به صورت مجزا (۱۰۰ گرم برای هر تیمار) روی یک توری سیمی از جنس آلومینیوم ریخته و در ظرف‌های خلاء جداگانه که در کف آن آب ریخته شده بود، قرار گرفتند و سپس ظرف‌ها در دمای مورد نظر گذاشته شدند. در پایان همه بذرهای در زمان مورد نظر از انکوباتور خارج شدند.

آزمون جوانه‌زنی و رشد هتروتروفیک گیاهچه: نخست برای اطمینان از تیمارهای ایجاد شده در تسریع پیری یک آزمایش جوانه‌زنی انجام گرفت. در این آزمایش ۲۵ بذر از هر تیمار با ۳ تکرار در ظروف پتری که در داخل هر کدام دو عدد کاغذ صافی واتمن قرار گرفته بود، گذاشته شد. با شروع سبز شدن هر ۲۴ ساعت یک بار بذرها شمارش شد. معیار بذور جوانه زده خروج ریشه چه به اندازه ۲ میلی‌متر بود (Soltani *et al.*, 2001). برای محاسبه درصد، سرعت و یکنواختکی سبز شدن از برنامه

Germin استفاده شد (Soltani *et al*., 2001). در این برنامه ابتدا نمودار جوانه‌زنی تجمعی هر تکرار در مقابل زمان برحسب ساعت رسم می شود. سپس با استفاده از روش درون‌یابی خطی مدت زمان از کاشت تا زمانی که ۱۰، ۵۰ و ۹۰ درصد حادث شد، محاسبه می‌گردد. این زمان‌ها به‌ترتیب D10، D50 و D90 می باشد که در روابط ۱ و ۲ نشان داده شده است. سرعت جوانه‌زنی (R50) به‌صورت عکس زمان تا رسیدن به ۵۰ درصد حداکثر درصد جوانه‌زنی و یکنواختی جوانه‌زنی (GU) به‌صورت تکامل زمان برای رسیدن از ۱۰ درصد حداکثر جوانه‌زنی به ۹۰ درصد حداکثر جوانه‌زنی براساس روابط ۱ و ۲ محاسبه شد:

رابطه ۱- $CU = D90 - D10$ و رابطه ۲- $R50 = 1 / D50$

برای اندازه‌گیری رشد هتروتروفیک گیاهچه، ابتدا وزن اولیه بذرهای خشک (ISDW)[1] هر تیمار را به‌صورت جداگانه محاسبه شدند. وزن خشک گیاهچه‌ها (SLDW)[2] و وزن خشک باقیمانده بذرها (FSDW)[3] بعد از ۱۲ روز محاسبه شدند. در نهایت، مقدار استفاده از ذخایر بذر (SRUR)[4]، کارایی استفاده از ذخایر بذر (SRUE)[5] بر اساس روابط ۳ و ۴ محاسبه شد.

رابطه ۳- $SRUR = ISDW - FSDW$ و رابطه ۴- $SRUE = SLDW / SRUR$

آزمون هدایت‌الکتریکی: برای تعیین هدایت‌الکتریکی (EC) نمونه‌های دو گرمی هر بذر از هر تیمار مورد آزمایش در ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر دی یونیزه با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲۰ دقیقه قرار گرفتند، سپس مخلوط آب و بذر از صافی عبور داده شد و از EC متر برای اندازه‌گیری هدایت‌الکتریکی استفاده شد. اندازه‌گیری هدایت‌الکتریکی هر یک از نمونه‌ها بر مبنای دسی‌زیمنس بر سانتی‌متر بر گرم و در درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد.

اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپید: استخراج عصاره بر اساس روش پروچاز کووا و همکاران (Prochazkova *et al*., 2001) انجام شد. برای این منظور نمونه‌های ۰/۵ گرمی هر بذر از هر تیمار مورد آزمایش با یک میلی‌لیتر از محلول تری کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد را در یک‌هاون چینی و در حمام یخ هموژنیزه شد. هموژنات به همراه یک میلی‌لیتر از محلول حاصل از شستشوی‌هاون داخل لوله سانتریفوژ ریخته شد و به‌مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفوژ ۱۵ هزار دور دردقیقه، سانتریفیوژ گردید. به یک میلی‌لیتر از سوپرناتانت ۴ میلی‌لیتر محلول تری باربیتوریک اسید ۰/۵ درصد در تری کلرواستیک اسید ۲۰ درصد اضافه شد و مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰، سانتریفیوژ گردید. سوپرناتانت برای

1. Initial seed dry weight
2. Seedling dry weight
3. Fragment seed dry weight
4. Seed resource user rate
5. Seed resource use efficiency

اندازه‌گیری مقدار جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مورد استفاده قرار گرفت. جذب محلول در طول موج ۵۳۲ نانو متر نسبت به شاهد بر مبنای میلی مول بر گرم وزن تر ثبت گردید.

آزمون سبز شدن: برای انجام آزمایش اصلی در گلخانه نخست بذور از هر تیمار زوال بذری و هر تکرار تحت شرایط تیمارهای شاهد (بدون تنش محیطی)، تیمار شوری در دو سطح متوسط (۷ دسی زیمنس بر متر) و شدید (۱۴ دسی زیمنس بر متر)، تیمار خشکی در دو سطح متوسط (۴- بار) و شدید (۸- بار) در گلدان‌های با قطر۲۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۵ سانتی متر کشت شد.

بعد از کشت با شمارش روزانه بذور سبز شده درصد و سرعت سبز شدن توسط نرم‌افزار Germin محاسبه شد (Soltani *et al.*, 2001). این برنامه D50 (یعنی مدت زمانی که طول می‌کشد تا سبز شدن به ۵۰ درصد حداکثر خود برسد) را برای هر تیمار بذری از طریق درون یابی منحنی افزایش سبز شدن در مقابل زمان محاسبه می‌کند. سرعت سبز شدن (برحسب ساعت) از طریق رابطه ۵ محاسبه شد:

$$R50 = 1 / D50$$

روش اعمال تنش شوری: برای اعمال تنش شوری (در دو سطح ۷ و ۱۴ دسی زیمنس بر متر) در هر گلدان ۶ کیلوگرم خاک ریخته شد و پس از تعیین درصد اشباع خاک و میزان هدایت‌الکتریکی خاک، میزان نمک (NaCl) مورد نیاز برای رسیدن به شوری‌های مورد نظر تعیین شد. میزان نمک مورد نیاز برای هر سطح شوری در آب حل شد و در شروع آزمایش به خاک اضافه گردید. گلدان‌ها به دفعات آبیاری شدند تا کل نمک در خاک پخش شود. سپس هدایت‌الکتریکی خاک گلدان‌ها برای اطمینان از ایجاد صحیح میزان شوری، شوری خاک توسط EC متر تعیین گردید.

روش اعمال تنش خشکی: روش اعمال پتانسیل‌های خشکی (در دو سطح ۴- و ۸- بار) به‌صورت وزنی بود. ابتدا وزن گلدان (۵۸ گرم)، زیرگلدانی (۳۰ گرم) مشخص شد و سپس مقدار ۶ کیلوگرم خاک یکنواخت تهیه شده به گلدان‌ها اضافه گردید. به‌منظور تعیین منحنی رطوبتی، دو نمونه از خاک مورد نظر به آزمایشگاه برده شد، نمونه‌های خاک اشباع بر روی صفحات اشباع شده دستگاه صفحات فشاری قرار داده شدند. با ایجاد مکش توسط دستگاه صفحات فشاری، خاک تحت تنش قرار گرفت. بدین‌ترتیب در سه نمونه خاک پتانسیل‌های آبی مد نظر ایجاد شد. بعد از ۲۴ ساعت نمونه‌ها به دستگاه آون برده شده و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت خشک شد. بدین گونه در هر دو پتانسیل، درصد رطوبت وزنی خاک با استفاده از فرمول $\%\theta_m = \frac{w_1 - w_2}{w_2} \times 100$ (w_1 جرم نمونه مرطوب و w_2 جرم نمونه خشک) تعیین گردید. با انجام اندازه‌گیری‌ها این امکان فراهم شد که مقدار رطوبت خاک و وزن هر گلدان در پتانسیل‌های مختلف محاسبه شود. در یک دستگاه محور مختصات

مقادیر رطوبت و پتانسیل نسبت به یکدیگر رسم و بدین طریق منحنی رطوبتی خاک ترسیم شد (Alizadeh, 2007).

صفات اندازه گیری شده: در این آزمایش درصد، سرعت و یکنواختی سبز شدن، ۱۰ درصد (D10)، ۵۰ درصد (D50) و ۹۰ درصد (D90) زمان لازم برای رسیدن به حداکثر جوانه‌زنی، هدایت‌الکتریکی غشاء، پراکسیداسیون لیپید و رشد هتروتروفیک گیاهچه که شامل دو جزء است: ۱) مقدار ذخایر بذر انتقال یافته یا پویا شده ۲) کارایی تبدیل ذخایر بذر انتقال یافته به بافت گیاهچه، اندازه گیری شد. همچنین ضرایب a و b برای رگرسیون ساده خطی و ضریب تبیین (R^2) محاسبه شد.

در نهایت داده‌های حاصل از آزمایش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه با هم و آزمون سبز شدن به‌طور جداگانه با استفاده از نرم افزار SAS مورد تجزیه آماری و رگرسیون خطی قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن انجام گردید.

نتایج و بحث

تاثیر پیری بذر بر صفات مورد بررسی: زوال بذر با استفاده از روش تسریع پیری بر صفات مورد مطالعه تأثیر داشت. بذور شاهد سبز شدن خود را سریع تر آغاز و به پایان رساندند. بررسی‌ها نشان داد که با افزایش زوال بذر میزان هدایت الکتریکی، پراکسیداسیون لیپید و D50 افزایش یافت، اما میزان رشد هتروتروفیک گیاهچه، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن خشک گیاهچه، یکنواختی، درصد و سرعت سبز شدن با افزایش تسریع پیری کاهش یافت.

هدایت‌الکتریکی و پراکسیداسیون لیپید: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر پیری بذر، تنش‌های محیطی و اثرات متقابل آن‌ها بر میزان مواد تراوش شده از بذر و پراکسیداسیون لیپید در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). در بررسی هدایت‌الکتریکی که یکی از مهم ترین معیارها برای بیان زوال بذر است، مشاهده شد که با افزایش سطوح زوال و تنش‌های محیطی، هدایت الکتریکی مخلوط آب و بذر و یا به عبارت دیگر مقدار مواد محلول سیتوپلاسمی تراوش یافته از غشاء پلاسمایی به محیط بیرون سلول افزایش یافت. پراکسیداسیون لیپید نیز به ازای هر ساعت افزایش در دوره تسریع پیری برای تیمارهای شاهد، خشکی متوسط، خشکی شدید، شوری متوسط و شوری شدید به‌طور معنی‌داری افزایش یافت.

در تنش‌های متوسط (خشکی ۴- بار و شوری ۷ دسی زیمنس بر متر) و شدید (خشکی ۸- بار و شوری ۱۴ دسی‌زیمنس بر متر) اختلاف هدایت‌الکتریکی و پراکسیداسیون لیپید با تیمار شاهد (بدون تنش) در تمام سطوح تسریع پیری معنی‌دار بود (جدول ۲). مطالعات مختلفی در مورد اثر پیری بذر بر خصوصیات بیوشمیایی بذر انجام شده است. بسرا و همکاران (Basra *et al*., 2003) نشان دادند که

پیری بذر باعث افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن افزایش پراکسیداسیون لیپید و تجزیه غشاء فسفولیپیدی می‌شود. همچنین اسویندتار و همکاران (Sveinsdottir *et al*., 2009) نشان دادند که با افزایش سطوح فرسودگی، فعالیت‌های آنزیمی در بذر مانند کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز، اسکوربات پراکسیداز و ATP آز کاهش می‌یابد. نتایج بدست آمده این محققان نشان داد که افزایش حجم خزانه و نسبت احیا به اکسید این آنتی اکسیدان‌ها، ضمن برطرف نمودن محدودیتهای مکانیسم‌های دفاعی، پتانسیل ردوکس سلول را افزایش می دهند (Dewir *et al*., 2006). به‌علاوه آنتی‌اکسیدان‌های اسکوربات و گلوتاتیون توانایی واکنش مستقیم با رادیکال سوپراکسید و سایر فرم‌های فعال اکسیژن را دارند که می‌توانند شدت آسیب را کاهش دهند (Israr and Sahi, 2006). کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و نیز کاهش حجم خزانه آنتی‌اکسیدان‌ها از عوامل اصلی محدود کننده مکانیسم‌های دفاعی به شمار آمده و سبب افزایش پراکسیداسیون لیپیدی گردیده است.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) برای هدایت‌الکتریکی و پراکسیداسیون لیپید.

منابع تغییرات	درجه آزادی	هدایت‌الکتریکی (دسی‌زیمنس بر سانتی‌متر برگرم)	پراکسیداسیون لیپید (میلی‌مول برگرم وزن‌تر)
تکرار	۲	۰/۰۶۵۳^{ns}	۰/۰۸۵۶^{ns}
پیری بذر	۳	۷/۰۷۷**	۱۱/۸۳**
تنش	۴	۲/۱۲۳**	۶/۳۳**
پیری بذر × تنش	۱۲	۰/۰۸۰۲**	۰/۱۱۰۳**
اشتباه	۲۴	۰/۰۰۵۸	۰/۰۰۷۸

^{ns} و *، ** به‌ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار بودن در سطح ۵ و ۱ درصد.

جدول ۲- مقایسه میانگین هدایت‌الکتریکی و پراکسیداسیون لیپید بذور آفتابگردان بین تیمارهای تنش در هر سطح تسریع پیری.

تیمارهای تنش	سطوح پیری(ساعت)							
	۲۴		۴۸		۷۲		۹۶	
	هدایت الکتریکی*	پراکسیداسیون لیپید**	هدایت الکتریکی	پراکسیداسیون لیپید	هدایت الکتریکی	پراکسیداسیون لیپید	هدایت الکتریکی	پراکسیداسیون لیپید
شاهد	۱/۱۶a	۴/۰۳a	۲/۳۳a	۵/۲۰a	۴/۷۰ a	۷/۵۶a	۵a	۱۰/۲۰d
خشکی متوسط	۳/۷۹ab	۶/۶۰b	۴/۹ab	۶/۷۶ b	۵/۹ab	۹/۱۶b	۶/۸۳b	۱۲/۳۶de
خشکی شدید	۵/۹۶c	۷/۹۰c	۶/۹۹c	۷/۹۵cb	۶/۹۹c	۱۱/۴۳c	۹/۹۰c	۱۴/۳۵f
شوری متوسط	۳/۳۵b	۶/۵۰b	۴/۵۳b	۶ b	۶/۵۷b	۸/۹۶b	۶/۳۰ b	۱۲/۴۶ e
شوری شدید	۵/۲۶c	۷/۸۰c	۶/۸۶c	۷/۴۳c	۶/۹۰c	۱۰/۵۶c	۹/۵۳c	۱۴/۲۶f

*میانگین‌های که حداقل یک حرف مشترک دارند با هم اختلاف معنی‌داری ندارند، *واحد: دسی زیمنس بر سانتی‌متر بر گرم، ** واحد: میلی‌مول بر گرم.

رشد هتروتروفیک گیاهچه: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر پیری بذر، تنش و اثرات متقابل آن‌ها برهر دو جزء رشد هتروتروفیک گیاهچه یعنی مقدار استفاده از ذخایر بذر و کارایی استفاده از ذخایر بذر در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول۳). در مطالعه حاضر با افزایش دوره فرسودگی بذر، مقدار استفاده از ذخایر بذر (SRUR) به صورت خطی کاهش یافت. همچنین کارایی تبدیل ذخایر بذر (SRUE) به‌صورت خطی کاهش یافت. در تنش‌های متوسط (خشکی۴- بار و شوری ۷ دسی زیمنس بر متر) و شدید (خشکی ۸- بار و شوری۱۴ دسی زیمنس بر متر) اختلاف مقدار استفاده از ذخایر بذر با تیمار شاهد (بدون تنش) در تمام سطوح تسریع پیری معنی‌دار بود (جدول۴). در تنش‌های خشکی و شوری اختلاف کارایی استفاده از ذخایر بذر با تیمار شاهد (بدون تنش) در تمام سطوح تسریع پیری معنی‌دار بود.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات و درجه آزادی) برای مقدار استفاده از ذخایر بذر و کارایی استفاده از ذخایر بذر.

منابع تغییرات	درجه آزادی	مقدار استفاده از ذخایر بذر (میلی‌گرم)	کارایی استفاده از ذخایر بذر (میلی گرم بر میلی‌گرم)
تکرار	۲	۰/۵۳۳^{ns}	۰/۰۴۲^{ns}
پیری بذر	۳	۲۲۶/۳۱**	۵/۳۲**
تنش	۴	۱۴۷/۳۲**	۱/۶۲**
پیری بذر × تنش	۱۲	۴/۲۹**	۰/۰۹۶**
اشتباه	۲۴	۰/۳۴۵	۰/۰۰۴۹

^{ns} و *، ** به‌ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار بودن در سطح ۵ و ۱ درصد.

کاهش رشد و تجمع ساکارز در گیاهچه‌های حاصل ار بذور زوال یافته به‌دلیل کاهش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده نشاسته می‌باشد که موجب کاهش متابولیسم نشاسته کوتیلدون‌ها و کاهش انتقال ساکارز از کوتیلدون‌ها به محور جنین می‌شود (Mohammadi*et al*., 2011). سلطانی و همکاران (Soltani *et al*., 2004) اثر فرسودگی بذر را بر تخلیه ذخایر بذر و رشد هتروتروفیک گندم مورد مطالعه قرار دادند. نتایج آزمایش نشان داد که با افزایش فرسودگی بذر مقدار استفاده از ذخایر بذر و کارایی تبدیل ذخایر بذر کاهش یافت. ایشان کاهش مقدار استفاده از ذخایر بذر و کارایی تبدیل ذخایر بذر به گیاهچه را به‌دلیل کاهش فعالیت هورمون جیبرلین و کاهش سنتز آنزیم هیدرولیتیک در فرآیند جوانه‌زنی بیان نمودند. سلطانی و همکاران (Soltani *et al*., 2004) در گندم نشان دادند که کاهش رشد گیاهچه در اثر تنش شوری و خشکی هر دو ناشی از کاهش تخلیه ذخایر بذر است و کارایی تبدیل تحت تاثیر تنش قرار نمی‌گیرد.

جدول ۴- مقایسه میانگین مقدار استفاده از ذخایر بذر و کارایی استفاده از ذخایر بذر آفتابگردان بین بیمارهای تنش در هر سطح تسریع پیری.

تیمارهای تنش	سطوح پیری (ساعت)							
	۲۴		۴۸		۷۲		۹۶	
	SRUR	SRUE	SRUR	SRUE	SRUR	SRUE	SRUR	SRUE
شاهد	۱۵a	۲/۰۶a	۱۲a	۱/۷۶a	۱۰/۵۶a	۱/۳۳ a	۸a	۰/۹۷a
خشکی‌متوسط	۱۱c	۱/۶۴c	۷c	۱/۳۳c	۶c	۰/۹۷c	۲c	۰/۴۵c
خشکی شدید	۶e	۱/۰۹e	۵e	۱e	۴ e	۰/۸۲e	۱d	۰/۳۰e
شوری متوسط	۱۲b	۱/۷۰b	۷/۵۳b	۱/۴۸b	۷/۴۵b	۱/۰۶b	۲/۸۵b	۰/۵۸b
شوری شدید	۸d	۱/۲۱d	۶d	۱/۲۴d	۵ d	۰/۹۱d	۱/۳۰d	۰/۴۲d

میانگین‌های که حداقل یک حرف مشترک دارند با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

میزان فعالیت آمیلاز در ساقه گیاهچه‌های بذور سالم بالاتر می باشد. فعالیت بالاتر آمیلاز و ساکارز فسفات سنتتاز در ساقه‌های گیاهچه‌های حاصل از بذور سالم تحت تنش خشکی موجب هیدرولیز سریع فرم قابل انتقال قند در ساقه گیاهچه‌ها شده و منجر به افزایش فراهمی گلوکز برای رشد گیاهچه می‌گردد که این امر افزایش میزان استفاده از ذخایر بذر و افزایش کارایی تبدیل ذخایر بذر را به همراه دارد. فرسودگی بذور، موجب افزایش معنی‌دار در کل قندهای محلول و افزایش قندهای موجود در ساقه می شود که نشان دهنده مصرف کندتر قندها برای رشد ساقه می‌باشد بنابراین کاهش فعالیت آنزیمی در ساقه گیاهچه‌های حاصل از بذور فرسوده تحت شرایط زوال بذر موجب اختلال در روابط بین منبع و مخزن شده و میزان تقاضای مخزن به عنوان یک نیروی جلو برنده برای سنتز ساکارز در کوتیلدون‌ها کاهش می‌یابد (Mohamadi *et al*., 2007). این محققین دلایل کاهش رشد گیاهچه تحت شرایط زوال بذر را کاهش آنزیم‌های تجریه کننده نشاسته و کاهش مصرف آن در گیاهچه در حال رشد می دانند (Modaresi *et al*., 2000).

سبز شدن گیاهچه: مقدار D50 و یکنواختی سبزشدن: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که پیری بذر، تنش‌های محیطی و اثرات متقابل آن‌ها بر مقدار D50 و یکنواختی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۵).

با افزایش سطوح فرسودگی بذر پارامتر D50 در هر ۴ گروه تیمار تنش و شاهد افزایش یافت. به عبارت دیگر، با اعمال تیمارهای تسریع پیری، زمانی که طول می‌کشد سبزشدن به ۵۰ درصد برسد افزایش می‌یابد و بذرهای پیر شده سبزشدن خود را نسبت به بذرهای شاهد دیرتر شروع می‌کنند (جدول۶). استفاده از تیمارهای تسریع پیری موجب کاهش یکنواختی سبزشدن نسبت به بذرهای شاهد گردید. در تنش‌های متوسط (خشکی ۴- بار و شوری ۷ دسی زیمنس بر متر) و شدید (خشکی ۸- بار و شوری ۱۴ دسی زیمنس بر متر) اختلاف پارامتر D50 با تیمار شاهد (بدون تنش) در تمام سطوح تسریع

پیری معنی‌دار بود (جدول۶). خواجه حسینی و همکاران (Khajeh-Hosseini *et al*., 2003) نشان دادند که بذرهای فرسوده شده سویا میانگین زمان سبزشدن طولانی‌تری داشتند. همچنین سلطانی و همکاران (Soltani *et al*., 2004) بیان کردند که کمترین و بیشترین زمان تا ۱۰ درصد و ۹۰ درصد حداکثر جوانه‌زنی به‌ترتیب مربوط به تیمار شاهد و ۳۰ روز تسریع پیری خواهد بود. بسرا و همکلاران (Basra *et al*., 2003) در آزمایش خود بروی جوانه‌زنی بذر پنبه نشان دادند که تیمار زوال باعث طولانی کردن زمان کاشت تا سبزشدن و در معرض خطر قرار گرفتن بذرها نسبت به عوامل زنده و غیرزنده در مرحله بحرانی استقرار گیاهچه می‌شود، همچنین این تیمارها کاهش یکنواختی سبزشدن را موجب می‌شوند که منجر به کاهش استقرار یکنواخت و کاهش عملکرد در محصول می‌شوند.

جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات و درجه آزادی) برای زمان تا ۵۰ درصد سبزشدن و یکنواختی سبزشدن.

منابع تغییرات	درجه آزادی	زمان تا۵۰ درصد سبز شدن (ساعت)	یکنواختی سبز شدن (ساعت)
تکرار	۲	۳۰/۱۸ ns	۲/۵۸ ns
پیری بذر	۳	۲۹۷/۶۸ **	۱۲۷۵/۹۴ **
تنش	۴	۵۸۷/۰۱ **	۱۱۵۶/۳۴ **
پیری بذر × تنش	۱۲	۱۱۵۸/۰۳ **	۸۰۰/۲۸ **
اشتباه	۲۴	۲۰/۰۶	۲۷/۴۶

ns و *، ** به‌ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار بودن در سطح ۵ و ۱ درصد.

جدول ۶- مقایسه میانگین زمان تا ۵۰ درصد سبزشدن بذور و یکنواختی بذور آفتابگردان بین تیمارهای تنش در هر سطح تسریع پیری.

تیمارهای تنش	سطوح پیری(ساعت)							
	۲۴		۴۸		۷۲		۹۶	
	D50	GU	D50	GU	D50	GU	D50	GU
شاهد	۶۷a	۷۹a	۷۱a	۶۰a	۸۵ a	۵۵ a	۹۲a	۴۰a
خشکی متوسط	۷۸c	۶۲b	۷۹b	۴۰c	۸۸b	۴۱c	۹۴ab	۳۳b
خشکی شدید	۸۶e	۵۱d	۸۸c	۳۳e	۹۰ b	۳۱e	۹۶b	۲۴c
شوری متوسط	۷۲b	۶۲b	۷۸b	۴۴b	۸۴a	۴۸b	۹۴ab	۳۴ b
شوری شدید	۸۲d	۵۸c	۸۶c	۴۶d	۸۸ b	۳۴d	۹۴ab	۲۸c

میانگین‌های که حداقل یک حرف مشترک دار ند با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

درصد و سرعت سبزشدن: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که پیری بذر، تنش‌های محیطی و اثرات متقابل آن‌ها بر درصد و سرعت سبز شدن بذر آفتابگردان در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود

(جدول ۷). با افزایش سطوح فرسودگی بذر درصد سبزشدن در هر ۴ گروه تیمار تنش و شـاهد کـاهش یافت. همچنین سرعت سبزشدن به صورت خطی کاهش یافت.

جدول ۷- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات و درجه آزادی) برای درصد و سرعت سبزشدن.

منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد سبزشدن (درصد)	سرعت سبزشدن (روز)
تکرار	۲	۷/۴۰ ns	۰/۰۰۱۹ ns
پیری بذر	۳	۵۲۵۱/۲۲ **	۰/۰۴۷ **
تنش	۴	۴۵۸۸/۳۸ **	۰/۰۰۱۰ **
پیری بذر × تنش	۱۲	۱۴۲/۰۰۲ **	۰/۰۰۲۳ **
اشتباه	۲۴	۱۱/۶۸	۰/۰۰۱۵۸

ns و *، ** به‌ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار بودن در سطح ۵ و ۱ درصد.

در تنش‌های متوسط (خشکی ۴- بار و شوری ۷ دسی زیمنس بر متر) و شدید (خشکی ۸- بار و شوری ۱۴ دسی زیمنس بر متر) اختلاف درصد سبزشدن با تیمار شاهد (بدون تنش) در تمام سطوح تسریع پیری معنی‌دار بود (جدول ۸). در تنش‌های خشکی و شوری اختلاف سرعت سبزشدن بذور با تیمار شاهد (بدون تنش) در تمام سطوح تسریع پیری معنی‌دار بود (جدول ۸). مطالعات مختلفی در مورد اثر پیری بذر بر جوانه‌زنی و سبزشدن تحت تنش‌های محیطی صورت گرفته است (Rehman *et al*., 1999; De Figueiredo *et al*., 2003; Khajeh-Hosseini *et al*., 2003). خواجه حسینی و همکاران (Khajeh-Hosseini *et al*., 2003) در قسمتی از آزمایش خود اثر متقابل پتانسیل‌های مختلف شوری (با استفاده NaCl) و قدرت بذر دو توده سویای آمریکایی و ایرانی را مورد بررسی قرار دادند. نتایج ایشان نشان می‌دهد درصد جوانه‌زنی بذور زوال یافته تحت تنش شوری کاهش بیشتری نسبت به بذور شاهد داشت (Gholami Tilebeni *et al*., 2014). دیفیگوریدو و همکاران (De Figueiredo *et al*., 2003) به بررسی اثر تنش‌های محیطی بر سبز شدن بذور آفتابگردان، سویا و ذرت با سطوح مختلف قدرت بذر پرداختند. ایشان نشان دادند که اثر متقابل قدرت بذر و تنش محیطی در آفتابگردان و سویا بر درصد سبز شدن معنی‌دار بود ولی در ذرت فقط اثرات قدرت بذر و تنش محیطی بر درصد سبزشدن معنی‌دار بود. آنها نشان دادند که میزان کاهش درصد سبز شدن برای بذوری با سطح قدرت بذر بالاتر نسبت به بذوری با قدرت متوسط و پایین کمتر بود. این نشان می‌دهد که بذوری با قدرت بذر کمتر دامنه تحمل کمتری به شرایط تنش دارند.

جدول ۸- مقایسه میانگین درصد و سرعت سبز شدن بذر آفتابگردان بین تیمارهای تنش در هر سطح تسریع پیری.

تیمارهای تنش	سطوح پیری(ساعت)							
	۲۴		۴۸		۷۲		۹۶	
	درصد سبزشدن	سرعت سبز شدن	درصد سبز شدن	سرعت سبز شدن	درصد سبز شدن	سرعت سبز شدن	درصد سبزشدن	سرعت سبز شدن
شاهد	۹۰a	۰/۸۹a	۸۴a	۰/۶۰a	۶۹ a	۰/۴۵ a	۴۲a	۰/۳۰a
خشکی متوسط	۵۷c	۰/۵۲b	۵۲c	۰/۴۰b	۴۴c	۰/۳۱b	۲۴c	۰/۲۳b
خشکی شدید	۳۴e	۰/۳۸c	۳۰e	۰/۲۳c	۲۷ e	۰/۱۱c	۱۲d	۰/۰۱c
شوری متوسط	۶۴b	۰/۶۲b	۶۲b	۰/۵۸b	۵۴b	۰/۴۱b	۳۲ b	۰/۲۴ b
شوری شدید	۴۲d	۰/۴۱c	۳۸d	۰/۳۶c	۳۲ d	۰/۲۰c	۱۸d	۰/۰۴c

میانگین‌های که حداقل یک حرف مشترک دار ند با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

به‌طور نظری کیفیت بذر می‌تواند بر عملکرد گیاهان زراعی به طور مستقیم و یا غیرمستقیم اثر بگذارند. اثر غیرمستقیم شامل درصد و زمان از کاشت تا سبزشدن (سرعت سبز شدن) می شود که از طریق تغییر تراکم گیاهی، آرایش فضایی و بقای محصول بر عملکرد اثر می‌گذارند (Ellis, 1992). سلطانی و همکاران (Soltani *et al*., 2001) اعلام کردند قدرت بذر بالا مثل سرعت بالا، یکنواختی و پوشش کامل در سبزشدن) در گیاهچه‌های قوی، با توجه به کوتاه کردن روز از کاشت تا کامل کردن پوشش زمین منجر به استقرار مناسب ساختار جامعه گیاهی و به حداقل رساندن رقابت بین گیاهی می شود که منجر به پتانسیل عملکرد دانه بالاتر و به حداکثر رساندن تولید گیاهان زراعی می‌شود. استفاده از بذوری با قدرت پایین به خصوص در شرایطی که مزرعه تحت تنش است می تواند به شدت درصد سبزشدن را کاهش دهد. بنابراین، با استفاده از بذوری با قدرت بالاتر می توان در دامنه وسیعی از شر ایط محیطی شاهد استقرار مناسب محصول بود، که می‌تواند در عملکرد نهایی نیز موثر باشد.

منابع

Alizadeh. A. 2007. Relation to water, soil and plants. Print six. Mahshahd University Publishers. 132-133

Basra, S.M.A., Ahmad, N., Khan, M.M., Iqbal, N. and Cheema, M.A. 2003. Assessment of cotton seed deterioration during accelerated aging. Seed Sci. Technol. 31: 531-540.

Cachorro, P. and Ortiz, A. 2003. Growth, water relations and solute composition of *phaseolus vulqaris L*, under saline conditions. Plant Sci. 95:23-29.

De Figueiredo, E., Albuquerque, M.C. and De Carvalho, N.M. 2003. Effect of the type of environmental stress on the emergence of sunflower (*Helianthus annus* L.), soybean (*Glycine max L.*) and maize (*Zea mays* L.) seeds with different levels of vigor. Seed Sci. Technol. 31: 465-479.

Dewir Y.H., Chakrabarty D., Ali M.B., Hahn E.J. and Paek K.Y. 2006. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities of *Euphorbia millii* hyperhydric shoots. Environ Exp. Bot. 58:93-99.

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

Forcella, F. Benech, R.L., Arnold, Sanchez, R. and Ghersa, C.M. 2000. Modeling seedling emergence. Field. Crop. Res. 67: 123-139.

Gholami Tilebeni, H., Salehi Balashahry. M. and Farhadi, Y.R. 2014. Effect of priming and deterioration of seed germination and seedling growth of rice changes. Journal of Seed Technology. 1. Islamic Azad University.

Israr M., and Sahi S.V. 2006. Antioxidative responses to mercury in the cell cultures of *Sesbania drummondii*. Plant Physiol Biochem. 44: 590-595.

Khajeh-Hosseini, M., Powell, A.A., and Bingham, I.J. 2003. The interaction between salinity stress and seed vigor during germination of soybean seeds. Seed. Sci. Technol. 31: 715-725.

Karimzadeh Asl, K.H., Mazaheri, D., and Pieghambari, S.A. 2015. Effect of four irrigation intervals on the seed yield and quantities characteristics of the three sunflower cultivars. Journal of Agriculture of Science, 24(2): 293-300.

Marshal, A.H. and Lewis, D.N. 2004. Influence of seed storage conditions on seedling emergence, seedling growth and dry matter production of temperate forage grasses. *Seed Sci. Technol.,* 32: 493-501.

Modarresi, R., Rucker, M. and Tekrony, D.M. 2002. Accelerating ageing test for comparing wheat seed vigor. Seed Sci. Technol. 30: 683-687.

Mohamadi, H., Soltani, A., Sadeghipor, H. and Zeinali, A.2007. Effect of seed deterioration on vegetative growth and chlorophyll fluorescence in soybean (*Glycine max*). Gorgan Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources. 15(5): 30-38.

Mohammadi, H., Soltani, A., Sadeghipour, H.R. and Zeinali, E. 2011. Effects of seed aging on subsequent seed reserve utilization and seedling growth in soybean. International Journal of Plant Production. 5(1): 65-70.

Prochazkova, D., Sairam, R.K., Srivastava, G.C., and Singh, D.V. 2001. Oxidative stress and antioxidant activity as the basis of senescence in maize leaves. Plant Sci. 161: 765-771.

Rehman, S., Harris, P.J.C. and Bourne, W.F. 1999. Effect of artificial ageing on the germination, ion leakage and salinity tolerance of Acacia tortilis and *A. coriacea* seeds. Seed Sci. Technol. 27: 141–149.

Soltani, A., Galashi, S., Zeinali, E. and Latifi, N. 2001. Germination, seed reserve utilization and seedling growth of chickpea as affected by salinity and seed size. Seed Sci. Technol. 30: 51-60.

Soltani, A., Ghorbani, M.H., Galeshi, S. and Zeinali, E. 2004. Salinity effects on germination and vigor of harvested seeds in wheat. Seed Sci. Technol. 32:583-592.

Soltani, A., Robertson, M.J., Torabi, B., Yousefi-Daz, M. and Sarparast, R. 2006. Modeling seedling emergence in chickpea as influenced by temperature and sowing depth. Agric. for. Meteorol. 138: 156-167.

Sveinsdottir, H., Yan, F. and Zhu, Y. 2009. Seed ageing-induced inhibition of germination and post-germination root growth is related to lower activity of plasma membrane H^+-ATPase in maize roots. Journal of Plant Physiology. 166: 128-135.