بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده کشاورزی

رساله دکتری زراعت (فیزیولوژی گیاهان زراعی)

تأثیر محلول‌پاشی و پیش‌تیمار بذر با اسید سینامیک بر ویژگی‌های فیزیولوژیک بذرهای زوال‌یافته لوبیا چشم بلبلی و گیاهان حاصل از آن

نگارنده: مریم اکبری

استاد راهنما:

دکتر مهدی برادران فیروزآبادی

اساتید مشاور :

دکتر محمدرضا عامریان

دکتر ناصر فرخی

شهریور ۱۳۹۸

فرم شماره ۱۲: صورت جلسه نهایی دفاع از رساله دکتری (Ph.D)

(ویژه دانشجویان ورودی های ۹۴ و ما قبل)

بدینوسیله گواهی می شود آقای/خانم مریم اکبری دانشجوی دکتری رشته زراعت-فیزیولوژی گیاهان زراعی به شماره دانشجویی ۹۲۱۶۷۸۵ ورودی مهرماه. سال ۱۳۹۲ در تاریخ ۹۸/۶/۲۳ از رساله **نظری** ☐ / **عملی** ☐ خود با عنوان : تأثیر محلول‌پاشی و پیش‌تیمار بذر با اسید سینامیک بر ویژگی‌های فیزیولوژیک بذرهای زوال‌یافته لوبیا چشم بلبلی و گیاهان حاصل از آن

دفاع و با اخذ نمره ۱۹,۵۶ به درجه : دکتری نائل گردید.

الف) درجه عالی: نمره ۲۰-۱۹ ☑ ب) درجه بسیار خوب: نمره ۱۸/۹۹ – ۱۷ ☐

ج) درجه خوب: نمره۱۶/۹۹– ۱۵ ☐ د) غیر قابل قبول و نیاز به دفاع مجدد دارد ☐

ه) رساله نیاز به اصلاحات دارد ☐

ردیف	هیئت داوران	نام و نام خانوادگی	مرتبه علمی	امضاء
۱	دکتر مهدی برادران فیروز آبادی	استاد/ اساتید راهنما	دانشیار	
۲	دکتر محمدرضا عامریان	مشاور/ مشاورین	دانشیار	
۳	دکتر ناصر فرخی	مشاور/ مشاورین	دانشیار	
۴	دکتر خدایار همتی	استاد مدعو خارجی	دانشیار	
۵	دکتر احمد غلامی	استاد مدعو داخلی	دانشیار	
۶	دکتر حمیدرضا اصغری	استاد مدعو داخلی	دانشیار	
۷	دکتر محمدرضا عامریان	سرپرست (نماینده) تحصیلات تکمیلی دانشکده	دانشیار	

مدیر محترم تحصیلات تکمیلی دانشگاه:

ضمن تأیید مراتب فوق مقرر فرمائید اقدامات لازم در خصوص انجام مراحل دانش آموختگی خانم مریم اکبری بعمل آید.

نام و نام خانوادگی رئیس دانشکده : دکتر محمدرضا عامریان

تاریخ و امضاء و مهر دانشکده:

ماحصل آموخته هایم را تقدیم میکنم به آنان که مهر آسمانی شان آرام بخش آلام زمینی ام است

به استوارترین تکیه گاهم دستان پر مهر پدرم

به سبزترین نگاه زندگیم چشمان پر عطوفت مادرم

که هرچه آموختم در مکتب عشق شما آموختم و هرچه بکوشم قطره ای از دریای بی کران مهربانی تان را سپاس نتوانم بگویم. امروز هستی ام به امید شما و فردا کلید باغ بهشتم رضای شماست. چیزی گران سنگ تر از این ندارم تا به خاک پایتان نثار کنم. باشد که حاصل تلاشم نسیم گونه غبار خستگی تان را بزداید.

بوسه بر دستان پر مهرتان.

تشکر و قدردانی

سپاس خدای را که سخنوران در ستودن او بمانند و شمارندگان شمردن نعمت های او ندانند و کوشندگان حق او را گزاردن نتوانند و سلام و درود بر محمد و خاندان پاک او، طاهران معصوم.

بدون شک جایگاه و مقام معلم بالاتر از آن است که در مقام قدردانی از زحمات بی شائبه او با زبان قاصر و دست ناتوان چیزی بنگاریم. اما از آنجایی که تجلیل از معلم سپاس از انسانی است که هدف و غایت آفرینش را تامین می کند و سلامت امانت هایی که به دستش سپرده اند را تضمین می نماید و نیز از باب "من لم یشکر المنعم من المخلوقین لم یشکر الله عزو جل" :

از استاد دانشمند و فرزانه ام **جناب آقای دکتر مهدی برادران فیروزآبادی** که در کمال سعه صدر، با حسن خلق و فروتنی از هیچ لطفی در این عرصه بر من دریغ ننمودند

اساتید شایسته و صبورم **آقایان دکتر محمدرضا عامریان و دکتر ناصر فرخی** که زحمت مشاوره این رساله را تقبل نمودند

اساتید محترم داور **جناب آقایان دکتر خدایار همتی، دکتر احمد غلامی و دکتر حمیدرضا اصغری** که با داوری این رساله به غنای بیشتر آن کمک نمودند

کلیه اساتید محترم گروه زراعت و اصلاح نباتات، کارشناسان محترم آزمایشگاه و کارکنان مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود

پدر و مادر عزیزم این دو معلم بزرگوارم که همواره بر کوتاهی و درشتی من قلم عفو کشیده و کریمانه از کنار غفلت هایم گذشته اند و در تمام عرصه های زندگی یار و یاوری بی چشم داشت بوده اند

همسرم که سایه مهربانی و صبوریش موجب دلگرمی من بود و نیز **خواهر و برادرم** همسفران زندگیم که با هم آغاز کردیم، در کنار هم آموختیم و چشم به آینده دوختیم کمال تشکر و قدردانی را دارم. امید است به مدد خداوند متعال گوشه ای از زحمات آنان را جبران کنم.

تعهد نامه

اینجانب **مریم اکبری**. دانشجوی دوره دکترا رشته **زراعت- فیزیولوژِ گیاهان زراعی** دانشکده **مهندسی کشاورزی** دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه **تأثیر محلول‌پاشی و پیش تیمار بذر با اسید سینامیک بر ویژگی‌های فیزیولوژیک بذرهای زوال یافته لوبیا چشم بلبلی و گیاهان حاصل از آن** تحت راهنمائی **دکتر مهدی برادران فیروزآبادی** متعهد می شوم :

- تحقیقات در این پایان نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است .
- در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است .
- مطالب مندرج در پایان نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است .
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد و مقالات مستخرج با نام « دانشگاه صنعتی شاهرود » و یا « Shahrood University of Technology » به چاپ خواهد رسید .
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تأثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از پایان نامه رعایت می گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه ، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است .
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری ، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است .
-

تاریخ

امضای دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج ، کتاب ، برنامه های رایانه ای ، نرم افزار ها و تجهیزات ساخته شده است) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد . این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود .
- استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی باشد.

چکیده

فرسودگی بذر شامل از دست رفتن کیفیت، قابلیت حیات و بنیه بذر به‌صورت غیرقابل برگشت طی زمان می‌باشد که از عوامل عمده کاهش کیفیت و کمیت تولید در بخش کشاورزی تلقی می‌گردد. از متابولیت‌های ثانویه مختلفی نظیر ویتامین‌ها، تنظیم کننده‌های رشد و آنتی اکسیدان‌ها به‌منظور کاهش اثرات مخرب انواع تنش‌های محیطی از جمله تنش فرسودگی بذر به‌صورت پیش‌تیمار بذری و یا محلول پاشی برگی استفاده می شود. یکی از این ترکیبات اسید سینامیک می‌باشد که یک متابولیت ثانویه فنلی است و خواص بهبوددهندگی آن در انواع تنش‌های محیطی ثابت شده است. در این مطالعه، به بررسی تأثیر پیش‌تیمار بذری و محلول‌پاشی برگی غلظت‌های مختلف این متابولیت ثانویه بر پاسخ‌های فیزیولوژیک بذرهای فرسوده و غیرفرسوده و نیز گیاهان حاصل از آن‌ها در دو بخش آزمایشگاهی و مزرعه‌ای پرداخته شده است. تیمارهای بخش آزمایشگاهی که در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار در آزمایشگاه بذر دانشگاه وخنینگن هلند انجام شد، شامل کیفیت اولیه بذر در دو سطح (بذر غیرفرسوده و بذر فرسوده) به عنوان فاکتور اول و پیش تیمار بذر با اسید سینامیک در پنج سطح (۰، ۱۵،۳۰، ۴۵ و۶۰ میکرومولار) به عنوان فاکتور دوم بودند. آزمایش مزرعه‌ای در سال های ۱۳۹۴ و ۱۳۹۵ در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوک های کامل تصادفی در سه تکرار در آزمایشگاه و مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود روی لوبیا چشم بلبلی توده محلی بسطام انجام شد. فاکتور اول شامل کیفیت اولیه بذر در دو سطح (بذر غیرفرسوده و بذر فرسوده)، فاکتور دوم شامل پیش‌تیمار بذر با غلظت‌های اسید سینامیک در سه سطح (۰، ۳۰ و ۶۰ میکرومولار) و فاکتور سوم شامل محلول‌پاشی غلظت‌های اسید سینامیک در سه سطح (۰، ۳۰ و ۶۰ میکرومولار) بود. بذرها و گیاهان حاصل بر حسب کیفیت اولیه بذر واکنش متفاوتی به اسید سینامیک داشتند. فرآیندهای فرسودگی منجر به کاهش صفات مرتبط با جوانه‌زنی، رشد هتروفیک و میزان ذخایر منتقل شده از بذر در مقایسه با بذرهای غیرفرسوده گردید. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نیز در مقایسه با بذرهای غیرفرسوده کمتر بود. ولی محتوای مالون دی آلدهید افزایش یافت. پیش تیمار بذرهای فرسوده با غلظت‌های اسید سینامیک به‌ویژه غلظت‌های ۴۵ و ۶۰ میکرومولار سبب بهبود تمامی صفات مرتبط با جوانه‌زنی، مقدار و کارایی استفاده از ذخایر و افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز گردید. در بذرهای غیرفرسوده، پیش‌تیمار اسید سینامیک بر صفات مرتبط با جوانه‌زنی به جز شاخص بنیه بذر بی‌تأثیر بود. اسید سینامیک محتوای مالون دی آلدهید را در بذرهای فرسوده در مقایسه با بذرهای فرسوده پیش‌تیمار نشده به‌شدت کاهش داد. تحت تأثیر فرسودگی، در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده ارتفاع بوته، تعداد شاخه فرعی، تعداد غلاف در بوته، وزن هزار دانه، عملکرد دانه، محتوای نسبی آب برگ، شاخص پایداری غشاء پلاسمایی و نیز فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی اکسیدان در مقایسه با گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده کاهش یافت. ولی از محتوای آنتوسیانین، فلاونوئید و فعالیت آنزیم کاتالاز بالاتری برخوردار بودند. پیش‌تیمار بذرهای فرسوده با غلظت ۳۰ میکرومولار اسید سینامیک افزایش ۱۲

درصدی در میزان عملکرد نهایی را در پی داشت. محلول‌پاشی اسید سینامیک در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده با غلظت ۶۰ میکرومولار نیز سبب افزایش ۲۱ درصدی عملکرد در مقایسه با عدم محلول‌پاشی شد. پیش‌تیمار بذرهای غیرفرسوده با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک سبب کاهش محتوای نسبی آب برگ، شاخص پایداری غشاء، محتوای قند محلول، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان به جز آسکوربات پراکسیداز و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی گردید. اما غلظت ۶۰ میکرومولار محتوای آنتوسیانین، فلاونوئید و اسیدهای آمینه آزاد را بهبود بخشید. در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مورد بررسی اسید سینامیک (به‌جز اثر محلول‌پاشی آن بر میزان آنتوسیانین و شاخص پایداری غشاء) سبب بهبود صفات فیزیولوژیک ذکر شده گردید. آنزیم‌های آنتی اکسیدان در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده واکنش‌های متفاوتی به پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت های مختلف اسید سینامیک نشان دادند. برای مثال پیش‌تیمار و محلول‌پاشی غلظت‌های این متابولیت افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز را در پی داشت. این تیمارها فعالیت آسکوربات پراکسیداز را کاهش دادند.

کلمات کلیدی: آنزیم آنتی اکسیدان، بهبود بذر، جوانه‌زنی، رادیکال‌های آزاد، فرسودگی بذر، عملکرد

لیست مقالات مستخرج از رساله

۱- **اکبری، م. برادران فیروزآبادی، م. عامریان، م. فرخی، ن. (۱۳۹۶)**، "بررسی اثر پیش تیمار و محلول پاشی اسید سینامیک بر عملکرد و اجزای عملکرد لوبیا چشم بلبلی حاصل از بذرهای نرمال و زوال یافته"، نخستین همایش ملی تولیدات گیاهی، زراعی و باغی، ص ۱۲۰۷، گنبد کاووس.

۲- **اکبری، م. برادران فیروزآبادی، م. عامریان، م. فرخی، ن. (۱۳۹۶)**، " بررسی پیش تیمار بذری و محلول پاشی اسید سینامیک بر تجمع ماده خشک و محتوای نسبی آب برگ لوبیا چشم بلبلی حاصل از بذرهای نرمال و فرسوده "، نخستین همایش ملی تولیدات گیاهی، زراعی و باغی، ص ۱۲۱۶، گنبد کاووس.

۳- **اکبری م. برادران فیروزآبادی م. عامریان م. فرخی ن. (۱۳۹۷)**، " تاثیر اسید سینامیک بر جوانه زنی، بنیه بذر و برخی ویژگی های فیزیولوژیک، عملکرد دانه و اجزای عملکرد لوبیا چشم بلبلی (*Vigna unguiculata*) توده محلی بسطام حاصل از بذرهای فرسوده و غیر فرسوده " مجله علوم و تحقیقات بذر ایران، در نوبت چاپ.

٤- **Akbari M., Baradaran Firouzabadi M., Amerian M.R. and Farrokhi N. (۱۳۹۸)**. "Seed Pretreatment with Cinnamic Acid Positively Affects Germination, Metabolite leakage, Malon dialdehyde content and Heterotrophic growth of aging cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds". Iranian Journal of Seed research. Article in press.

فهرست مطلب‌ها

فصل اول مقدمه ۲

فصل دوم بررسی منابع ۷

۲-۱- بذر و اهمیت آن در کشاورزی ۸

۲-۲- طول عمر بذر ۸

۲-۳- فرسودگی بذر ۱۰

۲-۴- عوامل مؤثر بر طول عمر بذر ۱۰

۲-۴-۱- عوامل داخلی ۱۰

۲-۴-۱-۱- دما و رطوبت نسبی ۱۱

۲-۴-۱-۲- رطوبت بذر ۱۱

۲-۴-۲- عوامل ژنتیکی ۱۲

۲-۴-۳- وجود میکروفلور ۱۳

۲-۴-۴- خسارت مکانیکی ۱۳

۲-۴-۵- رسیدگی بذر ۱۳

۲-۵- علائم فرسودگی بذر ۱۳

۲-۵-۱- تغییرات ظاهری ۱۴

۲-۵-۲- تغییرات فراساختاری ۱۴

۲-۵-۳- کاهش درصد جوانه‌زنی ۱۴

۲-۶- دلایل فرسودگی بذر ۱۵

۲-۶-۱- پراکسیداسیون لیپیدها ۱۵

۲-۶-۲- نابودی ساختارهای حیاتی بذر ۱۶

۲-۶-۳- تغییر در فعالیت آنزیم ها ۱۷

۲-۷- تکنیک‌های بهبود بذر ۱۸

۲-۸ - مسیر بیوسنتزی فنیل پروپانوئید ۲۱

۲-۹- اسید سینامیک ۲۳

۲-۱۰- اهمیت و نقش حبوبات در کشاورزی ۲۵

۲-۱۱- لوبیا چشم بلبلی ۲۵

۲-۱۱- ۱- گیاه‌شناسی لوبیا چشم بلبلی ۲۶
۲-۱۱-۲- تأثیر فرسودگی بذر بر رشد و عملکرد لوبیا چشم بلبلی ۲۷
فصل سوم مواد و روش‌ها ۲۹
۳-۱- زمان و مشخصات محل اجرای آزمایش ۳۰
۳-۲- خصوصیات خاک محل اجرای آزمایش ۳۰
۳-۳- مشخصات تیمارها و طرح آزمایشی ۳۱
۳-۴-آماده سازی بذرها ۳۲
۳-۵- بررسی بذر در بخش آزمایشگاهی ۳۳
۳-۵-۱- صفات مرتبط با جوانه‌زنی ۳۳
۳-۵-۲- بررسی رشد هتروتروفیک و میزان ذخایر منتقل شده طی جوانه‌زنی بذر ۳۴
۳-۵-۳- نشت الکترولیت‌ها ۳۵
۳-۵-۴- استخراج و سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان ۳۵
۳-۵-۴-۱- سنجش محتوای پروتئین محلول ۳۵
۳-۵-۴-۲- سوپراکسید دیسموتاز (EC ۱,۱۵,۱,۱) ۳۶
۳-۵-۴-۳- کاتالاز (EC ۱,۱۱,۱,۶) ۳۷
۳-۵-۴-۴- آسکوربات پراکسیداز (EC ۱,۱۱,۱,۱۱) ۳۷
۳-۵-۴-۵- پراکسیداز (EC ۱,۱۱,۱,۷) ۳۸
۳-۵-۴-۶- گلوتاتیون رداکتاز (EC ۱,۸,۱,۷) ۳۹
۳-۵-۵- تعیین میزان پراکسیداسیون لیپیدی ۳۹
۳-۵-۶- مکان‌یابی مولکول‌های ROS در جنین بذر به روش هیستوکیمیکال ۳۱
۳-۵-۶-۱- مکان‌یابی مولکول‌های پراکسید هیدروژن در جنین ۴۰
۳-۵-۶-۲- مکان‌یابی رادیکال آزاد $O_2^{\cdot-}$ در جنین ۴۰
۳-۶- بخش مزرعه ای ۴۰
۳-۶-۱-آماده سازی بستر و عملیات کاشت ۳۳
۳-۶-۲- عملیات داشت ۴۱
۳-۶-۳- اعمال تیمارها ۴۱
۳-۶-۴- عملیات برداشت ۴۱
۳-۶-۵- نمونه برداری برگ برای بررسی صفات فیزیولوژیک ۴۱
۳-۶-۶- اندازه گیری صفات مورفولوژیک و زراعی ۴۲

۳-۶ -۷- استخراج و سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان ۴۲
۳-۶-۷-۱- سنجش محتوای پروتئین محلول ۴۲
۳-۶-۷-۲- سوپراکسید دیسموتاز (EC ۱,۱۵,۱,۱) ۴۲
۳-۶ -۷-۳- کاتالاز (EC ۱,۱۱,۱,۶)..... ۴۲
۳-۶-۷ -۴- آسکوربات پراکسیداز (EC ۱,۱۱,۱,۱۱)..... ۴۳
۳-۶-۷-۵- پراکسیداز (EC ۱,۱۱,۱,۷) ۴۳
۳-۶-۷-۶- گلوتاتیون رداکتاز (EC ۱,۸,۱,۷) ۴۳
۳-۶-۸- سنجش میزان پرولین ۴۴
۳-۶-۹- سنجش میزان اسیدهای آمینه آزاد..... ۴۴
۳-۶-۱۰- سنجش میزان مالون دی آلدهید..... ۴۴
۳-۶-۱۱- سنجش محتوای کلروفیل و کاروتنوئید..... ۴۵
۳-۶-۱۲- سنجش محتوای آنتوسیانین برگ..... ۴۵
۳-۶-۱۳- سنجش میزان فلاونوئیدها..... ۴۶
۳-۶-۱۴- پایداری غشای پلاسمایی برگ..... ۴۶
۳-۶-۱۵- قندهای محلول برگ ۴۷
۳-۶-۱۶- محتوای نسبی آب برگ..... ۴۷
۳-۷- تجزیه و تحلیل داده ها ۴۷
فصل چهارم نتایج و بحث ۵۱
۴.-۱- مطالعات بذر در بخش آزمایشگاهی ۵۲
۴-۱-۱- درصد جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر..... ۵۲
۴-۱-۲- درصد گیاه‌چه‌های نرمال ۵۴
۴-۱-۳- زمان تا ۱۰ و ۵۰ درصد جوانه‌زنی ۵۶
۴-۱-۴- سرعت جوانه‌زنی ۴۹
۴-۱-۵- یکنواختی جوانه‌زنی..... ۵۷
۴-۱-۶- وزن خشک گیاه‌چه ۵۸
۴-۱-۷- سطح زیر منحنی جوانه‌زنی (AUC) ۵۹
۴-۱-۸- رشد هتروتروفیک و میزان ذخایر منتقل شده طی جوانه‌زنی بذر..... ۶۰
۴-۱-۹- نشت الکترولیت‌ها ۶۱
۴-۱-۱۰- فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان ۶۴

۴-۱-۱۰-۱- سوپر اکسید دیسموتاز ۶۵
۴-۱-۱۰-۲- کاتالاز ۶۵
۴-۱-۱۰-۳- پراکسیداز ۶۶
۴-۱-۱۰-۴- آسکوربات پراکسیداز ۶۸
۴-۱-۱۰-۵- گلوتاتیون رداکتاز ۶۹
۴-۱-۱۱- پراکسیداسیون لیپیدها ۷۰
۴-۱-۱۲- مکان‌یابی تجمع گونه‌های فعال اکسیژن در جنین بذرهای غیرفرسوده و فرسوده ۷۲
۴-۱-۱۲- ۱- مکان‌یابی مولکول های پراکسید هیدروژن ۷۳
۴-۱-۱۲- ۲- مکان‌یابی رادیکال‌های آزاد سوپراکسید ($O_2^{\cdot -}$) ۷۳
۴-۲- صفات بررسی شده در بخش مزرعه‌ای ۷۴
۴-۲-۱- ماده خشک اندام‌های هوایی ۷۵
۴-۲-۲- ارتفاع بوته ۷۵
۴-۲-۳- تعداد شاخه فرعی ۷۹
۴-۲-۴- اجزای عملکرد ۸۱
۴-۲-۴-۱-تعداد غلاف در بوته ۸۲
۴ – ۲-۴-۲-تعداد دانه در غلاف ۸۵
۴ – ۲-۴-۳- وزن هزاردانه ۸۷
۴-۲-۵- عملکرد ۸۹
۴-۲-۶- محتوای نسبی آب برگ ۹۱
۴-۲-۷- شاخص پایداری غشاء پلاسمایی ۹۴
۴-۲-۸- محتوای کلروفیل و کاروتنوئید ۹۷
۴-۲-۹- محتوای فلاونوئید برگ ۹۸
۴-۲-۱۰- محتوای آنتوسیانین برگ ۱۰۱
۴-۲-۱۱- پرولین و سایر اسیدهای آمینه آزاد ۱۰۴
۴-۲-۱۲- محتوای قندهای محلول ۱۰۷
۴-۲-۱۳- پراکسیداسیون لیپیدها ۱۰۹
۴-۲-۱۴- فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان ۱۱۳
۴-۲-۱۴-۱- سوپراکسید دیسموتاز ۱۱۳
۴-۲-۱۴-۲-کاتالاز ۱۱۶

۴-۲-۱۴-۳-آسکوربات پراکسیداز ۱۱۸
۴-۲-۱۴-۴- پراکسیداز ۱۲۲
۴-۲-۱۴-۵- گلوتاتیون رداکتاز ۱۲۳
۴-۳- نتیجه گیری ۱۲۶
۴-۴- پیشنهادها ۱۲۶
پیوست ۱۲۹
منابع ۱۴۳

فهرست شکل‌ها

شکل ۲-۱- تنش فرسودگی بذر ۲۰

شکل ۲-۲- مسیر بیوسنتزی فنیل پروپانوئید. ۲۲

شکل ۲-۳- نقش انواع مختلف متابولیت‌های فنیل پروپانوئید در شرایط مواجهه گیاه با تنش‌های زنده و غیرزنده. ... ۲۲

شکل ۲-۴- ساختار شیمیایی اسید سینامیک ۲۳

شکل ۳-۱-نقشه کشت طرح آزمایشی مورد استفاده ۲۴

شکل ۳-۲ -منحنی استاندارد پروتئین محلول ۳۶

شکل ۳-۳- منحنی استاندارد قند محلول در طول موج ۶۲۵ نانومتر ۴۸

شکل ۴-۱. درصد جوانه‌زنی. تأثیر پیش‌تیمار بذر با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر درصد جوانه‌زنی بذرهای غیرفرسوده و فرسوده. ۵۴

شکل ۴-۲. بنیه بذر. تأثیر پیش‌تیمار بذر با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر بنیه بذرهای غیرفرسوده و فرسوده ۵۴

شکل ۴-۳: درصد گیاه‌چه‌های نرمال. تاثیر پیش‌تیمار بذر با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر درصد گیاهچه‌های نرمال بذرهای غیرفرسوده و فرسوده. ۵۵

شکل ۴-۴. گیاه‌چه های نرمال و غیرنرمال. تأثیر پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر ظهور گیاه‌چه از بذرهای غیرفرسوده و فرسوده ۵۶

شکل ۴-۵. زمان تا ۱۰ درصد جوانه‌زنی. تأثیر پیش تیمار بذر با غلظت های مختلف اسید سینامیک بر زمان تا ۱۰ درصد جوانه‌زنی در بذرهای غیرفرسودهو فرسوده..... ۵۷

شکل ۴-۶. زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی. تأثیر پیش‌تیمار بذر با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی در بذرهای غیرفرسوده و فرسوده. ۵۷

شکل ۴-۷. سرعت جوانه‌زنی. تأثیر کیفیت اولیه بذر بر سرعت جوانه‌زنی بذرهای فرسوده و غیرفرسوده. ۵۸

شکل ۴-۸. یکنواختی جوانه‌زنی. تأثیر کیفیت اولیه بذر بر یکنواختی جوانه‌زنی بذرهای غیرفرسوده و فرسوده..... ۵۹

شکل ۴-۹. یکنواختی جوانه‌زنی. تأثیر پیش‌تیمار بذر با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر یکنواختی جوانه‌زنی. ۵۹

شکل ۴-۱۰. وزن خشک گیاه‌چه. تأثیر کیفیت اولیه بذر بر وزن خشک گیاه‌چه. ۶۰

شکل ۴-۱۱. وزن خشک گیاه‌چه. تأثیر پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر وزن خشک گیاه‌چه. ۶۰

شکل ۴-۱۲. سطح زیر منحنی جوانه‌زنی. تأثیر کیفیت اولیه بذر بر سطح زیر منحنی جوانه‌زنی. ۶۱

شکل ۴-۱۳. سطح زیر منحنی جوانه‌زنی. تأثیر پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر سطح زیر منحنی جوانه زنی..... ۶۱

شکل ۴-۱۴. مقدار استفاده از ذخایر بذر. تأثیر پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر مقدار استفاده از ذخایر بذرهای غیرفرسوده و فرسوده..... ۶۳

شکل ۴-۱۵. کارایی استفاده از ذخایر.تأثیر پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر کارایی استفاده از ذخایر بذرهای غیرفرسوده و فرسوده..... ۶۳

شکل ۴-۱۶. کسر ذخایر منتقل شده بذر. تاثیر پیش‌تیمار غلظت های مختلف اسید سینامیک بر کسر ذخایر مصرف شده بذر..... ۶۴

شکل ۴-۱۷. نشت الکترولیت‌ها. تأثیر پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر نشت الکترولیت‌ها در بذرهای غیرفرسوده و فرسوده..... ۶۵

شکل ۴-۱۸. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز. تأثیر پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بذرهای غیرفرسوده و فرسوده..... ۶۶

شکل ۴-۱۹. آنزیم کاتالاز. تأثیر پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر فعالیت آنزیم کاتالاز در بذرهای غیرفرسوده و فرسوده..... ۶۸

شکل ۴-۲۰. آنزیم پراکسیداز. تأثیر پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در بذرهای غیرفرسوده و فرسوده.. ..... ۶۹

شکل ۴-۲۱. آنزیم آسکوربات پراکسیداز. تأثیر پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در بذرهای غیرفرسوده و فرسوده. ۷۰

شکل ۴-۲۲. آنزیم گلوتاتیون رداکتاز. تأثیر پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون رداکتاز در بذرهای غیرفرسوده و فرسوده..... ۷۱

شکل ۴-۲۳. محتوای مالون دی آلدهید. تأثیر پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر محتوای مالون دی آلدهید در بذرهای غیرفرسوده و فرسوده. ۷۲

شکل ۴-۲۴. مکان‌یابی تجمع مولکول‌های پراکسید هیدروژن به روش هیستوکیمیکال، ۷۴

شکل ۴-۲۵. مکان‌یابی تجمع رادیکال‌های آزاد O_2^- به روش هیستوکیمیکال..... ۷۵

شکل ۴-۲۶. تجمع ماده خشک. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و سال بر تجمع ماده خشک..... ۷۸

شکل ۴-۲۷. تجمع ماده خشک. تاثیر برهم کنش پیش‌تیمار بذر و سال بر تجمع ماده خشک. ۷۸

شکل ۴-۲۸. تجمع ماده خشک. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر تجمع ماده خشک. ۷۸

شکل ۴-۲۹. تجمع ماده خشک. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر تجمع ماده خشک..... ۷۸

شکل ۴-۳۰. تجمع ماده خشک. تأثیر برهم کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر تجمع ماده خشک..... ۷۹

شکل ۴-۳۱. ارتفاع بوته. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر ارتفاع بوته..... ۸۱

شکل ۴-۳۲. ارتفاع بوته. تاثیر برهم کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر ارتفاع بوته..... ۸۱

شکل ۴-۳۳. تعداد شاخه فرعی در بوته. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر بر تعداد شاخه فرعی در بوته. ۸۲

شکل ۴-۳۴. تعداد شاخه فرعی در بوته. تأثیر برهم کنش پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک و محلول پاشی این غلظت‌ها. ۸۲

شکل ۴-۳۵. تعداد غلاف در بوته. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر تعداد غلاف در بوته. ۸۴

شکل ۴-۳۶. تعداد غلاف در بوته. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر تعداد غلاف در بوته. ۸۴

شکل ۴-۳۷. تعداد غلاف در بوته. تأثیر برهم کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر تعداد غلاف در بوته. ۸۵

شکل ۴-۳۸. تعداد دانه در غلاف. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر تعداد دانه در غلاف. ۸۶

شکل ۴-۳۹. تعداد دانه در غلاف. تأثیر برهم کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر تعداد دانه در غلاف..... ۸۶

شکل ۴-۴۰. وزن هزاردانه. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر وزن هزار دانه..... ۸۸

شکل ۴-۴۱. وزن هزاردانه. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر وزن هزار دانه..... ۸۸

شکل ۴-۴۲. وزن هزاردانه. تأثیر برهم کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر وزن هزاردانه. ۸۸

شکل ۴-۴۳. عملکرد دانه. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر عملکرد دانه..... ۹۱

شکل ۴-۴۴. عملکرد دانه. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر عملکرد دانه..... ۹۱

شکل ۴-۴۵. عملکرد دانه. تأثیر برهم کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر عملکرد دانه. ۹۱

شکل ۴-۴۶. محتوای نسبی آب برگ. تأثیر برهم کنش سال و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر محتوای نسبی آب برگ. ۹۳

شکل ۴-۴۷. محتوای نسبی آب برگ. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر محتوای نسبی آب برگ.. ..... ۹۳

شکل ۴-۴۸. محتوای نسبی آب برگ. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر محتوای نسبی آب برگ. ۹۴

شکل ۴-۴۹. محتوای نسبی آب برگ. تأثیر برهم کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر محتوای نسبی آب برگ.. ..... ۹۴

شکل ۴ -۵۰. شاخص پایداری غشاء پلاسمایی. تأثیر برهم کنش سال و کیفیت اولیه بذر. ۹۶

شکل ۴ -۵۱. شاخص پایداری غشاء پلاسمایی. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر شاخص پایداری غشاء پلاسمایی. ۹۶

شکل ۴ -۵۲. شاخص پایداری غشاء پلاسمایی. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر شاخص پایداری غشاء پلاسمایی. ۹۶

شکل ۴ -۵۳. شاخص پایداری غشاء پلاسمایی. تأثیر برهم کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر شاخص پایداری غشاء پلاسمایی. ۹۶

شکل ۴- ۵۴. محتوای کلروفیل a. تأثیر برهم کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک محتوای کلروفیل a. ۹۸

شکل ۴ -۵۵. محتوای فلاونوئید. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در دو سال آزمایش بر محتوای فلاونوئید. ۱۰۰

شکل ۴ -۵۶. محتوای فلاونوئید. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در دو سال آزمایش بر محتوای فلاونوئید. ۱۰۰

شکل ۴ -۵۷. محتوای فلاونوئید. تأثیر برهم کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در دو سال آزمایش بر محتوای فلاونوئید. ۱۰۱

شکل ۴- ۵۸. محتوای آنتوسیانین. تأثیر کیفیت اولیه بذر بر محتوای آنتوسیانین در سال اول. ۱۰۳

شکل ۴- ۵۹. محتوای آنتوسیانین. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر محتوای آنتوسیانین در سال دوم.. ..... ۱۰۳

شکل ۴- ۶۰. محتوای آنتوسیانین. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر محتوای آنتوسیانین در سال دوم.. ..... ۱۰۳

شکل ۴- ۶۱. محتوای آنتوسیانین. تأثیر برهم کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر محتوای آنتوسیانین در سال دوم..... ۱۰۳

شکل ۴-۶۲. محتوای اسیدهای آمینه آزاد. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر محتوای اسیدهای آمینه آزاد. ۱۰۶

شکل ۴-۶۳. محتوای اسیدهای آمینه آزاد. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر محتوای اسیدهای آمینه آزاد. ۱۰۶

شکل ۴-۶۴. محتوای پرولین. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در دو سال آزمایش بر محتوای پرولین..... ۱۰۷

شکل ۴-۶۵. محتوای پرولین. تأثیر برهم کنش پیش تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در سال اول آزمایش بر محتوای پرولین..... ۱۰۷

شکل ۴ -۶۶. محتوای قندهای محلول. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در دو سال آزمایش بر محتوای قندهای محلول. ۱۰۹

شکل ۴ -۶۷. محتوای قندهای محلول. تأثیر برهم کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در دو سال آزمایش بر محتوای قندهای محلول..... ۱۰۹

شکل ۴ -۶۸. محتوای قندهای محلول. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در دو سال آزمایش بر محتوای قندهای محلول. ۱۱۰

شکل ۴-۶۹. محتوای مالون دی آلدهید. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در دو سال آزمایش بر محتوای مالون دی آلدهید..... ۱۱۲

شکل ۴-۷۰. محتوای مالون دی آلدهید. تأثیر برهم کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در دو سال آزمایش بر محتوای مالون دی آلدهید. ۱۱۲

شکل ۴-۷۱. محتوای مالون دی آلدهید. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در سال دوم..... ۱۱۲

شکل ۴- ۷۲. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و سال ۱۱۵

شکل ۴- ۷۳. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز. ۱۱۵

شکل ۴- ۷۴. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز. تغییرات فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تحت تاثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک. ۱۱۶

شکل ۴- ۷۵. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز. تأثیر برهم کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز..... ۱۱۶

شکل ۴-۷۶. فعالیت آنزیم کاتالاز. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در دو سال آزمایش بر فعالیت آنزیم کاتالاز ۱۱۷

شکل ۴-۷۷. فعالیت آنزیم کاتالاز. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در دو سال آزمایش بر فعالیت آنزیم کاتالاز. ۱۱۸

شکل ۴-۷۸. فعالیت آنزیم کاتالاز. تأثیر برهم کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در دو سال آزمایش بر فعالیت آنزیم کاتالاز.. ..... ۱۱۸

شکل ۴-۷۹. آنزیم آسکوربات پراکسیداز. تأثیر برهم کنش سال و کیفیت اولیه بذر بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز.. ..... ۱۲۰

شکل ۴-۸۰. آنزیم آسکوربات پراکسیداز. تأثیر برهم کنش سال و پیش‌تیمار بذر با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز.. ..... ۱۲۰

شکل ۴- ۸۱. آنزیم آسکوربات پراکسیداز. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های اسید سینامیک بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز.. ..... ۱۲۰

شکل ۴- ۸۲. آنزیم آسکوربات پراکسیداز. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی با غلظت‌های اسید سینامیک بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز. ۱۲۰

شکل ۴-۸۳. آنزیم آسکوربات پراکسیداز. تأثیر برهم کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز.. ..... ۱۲۱

شکل ۴-۸۴. فعالیت آنزیم پراکسیداز. تأثیر برهم کنش سال و کیفیت اولیه بذر بر فعالیت آنزیم پراکسیداز..... ۱۲۳

شکل ۴-۸۵. فعالیت آنزیم پراکسیداز. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر فعالیت آنزیم پراکسیداز..... ۱۲۳

شکل ۴-۸۶. فعالیت آنزیم پراکسیداز. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر فعالیت آنزیم پراکسیداز. ۱۲۳

شکل ۴-۸۷. فعالیت آنزیم پراکسیداز. تأثیر برهم کنش کیفیت پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر فعالیت آنزیم پراکسیداز..... ۱۲۳

شکل ۴-۸۸. فعالیت آنزیم گلوتاتیون رداکتاز. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در دو سال آزمایش بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون رداکتاز..... ۱۲۵

شکل ۴-۸۹. فعالیت آنزیم گلوتاتیون رداکتاز. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در دو سال آزمایش بر فعالیت گلوتاتیون رداکتاز. ۱۲۵

شکل ۴-۹۰. فعالیت آنزیم گلوتاتیون رداکتاز. تأثیر برهم کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در دو سال آزمایش بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون رداکتاز. ۱۲۵

فهرست جدول‌ها

جدول۳-۱- خصوصیات خاک محل آزمایش ۳۰

جدول ۳-۲- ترکیبات تیماری مورد استفاده در مطالعه مزرعه‌ای ۳۱

جدول پیوست ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات مرتبط با جوانه‌زنی، بنیه بذر و گیاهچه‌های نرمال تحت تأثر کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با اسید سینامیک ۱۲۲

جدول پیوست ۲– تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات یکنواختی جوانه‌زنی، وزن خشک گیاه‌چه، انتقال ذخایر طی جوانه‌زنی بذر و نشت الکترولیت‌ها تحت تأثر کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با اسید سینامیک ۱۲۲

جدول پیوست ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و پراکسیداسیون لیپیدها در بذر تحت تأثیر کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با اسید سینامیک ۱۲۳

جدول پیوست ۴ - تجزیه مرکب (میانگین مربعات) عملکرد، اجزای عملکرد، تجمع ماده خشک و برخی صفات مورفولوژیک تحت تأثیر سال‌های آزمایش، کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار بذر و محلول‌پاشی با اسید سینامیک ۱۲۴

جدول پیوست ۵. مقایسه میانگین اثر ترکیب‌های تیماری حاصل از کیفیت اولیه بذر (a)، پیش‌تیمار (b) و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید ۱۲۵

جدول پیوست ۶- مقایسه میانگین اثرات سه جانبه سال (y)، پیش‌تیمار (b) و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (c) بر تجمع ماده خشک ۱۲۶

جدول پیوست ۷- مقایسه میانگین اثرات چهار جانبه سال (۷)، کیفیت اولیه بذر (A) پیش‌تیمار (B) و محلول‌پاشی با غلظت های مختلف اسید سینامیک (C) بر تجمع ماده خشک ۱۲۷

جدول پیوست ۸- تجزیه مرکب (میانگین مربعات) صفات محتوای نسبی آب برگ، شاخص پایداری غشاء پلاسمایی و رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ تحت تأثیر سال‌های آزمایش، کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار بذر و محلول‌پاشی با اسید سینامیک ۱۲۸

جدول پیوست ۹- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) فلاونوئید، آنتوسیانین، پرولین، اسیدهای آمینه آزاد، قند محلول و مالون دی آلدهید تحت تأثیر سال‌های آزمایش، کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار با اسید سینامیک ۱۲۹

جدول پیوست ۱۰- مقایسه میانگین اثر ترکیب‌های تیماری حاصل از کیفیت اولیه بذر (A)، پیش‌تیمار (B) و محلول پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (C) بر محتوای نسبی آب برگ ۱۳۰

جدول پیوست ۱۱ مقایسه میانگین اثر ترکیب‌های تیماری حاصل از کیفیت اولیه بذر (A)، پیش‌تیمار (B) و محلول پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (C) بر شاخص پایداری غشاء پلاسمایی ۱۳۰

جدول پیوست۱۲- مقایسه میانگین اثر ترکیب‌های تیماری حاصل از کیفیت اولیه بذر (A)، پیش‌تیمار (B) و محلول پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (C) بر محتوای فلاونوئید برگ در سال اول و دوم ۱۳۱

جدول پیوست ۱۳- مقایسه میانگین اثر ترکیب‌های تیماری حاصل از کیفیت اولیه بذر (A)، پیش‌تیمار (B) و محلول پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (C) بر محتوای آنتوسیانین برگ در سال دوم ۱۳۲

جدول پیوست ۱۴- مقایسه میانگین اثر ترکیب‌های تیماری حاصل از کیفیت اولیه بذر (A)، پیش‌تیمار (B) و محلول پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (C) بر محتوای اسیدهای آمینه آزاد ۱۳۲

جدول پیوست ۱۵- مقایسه میانگین اثر ترکیب‌های تیماری حاصل از کیفیت اولیه بذر (A)، پیش‌تیمار (B) و محلول پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (C) بر محتوای قند محلول برگ در سال اول و دوم ۱۳۳

جدول پیوست ۱۶- مقایسه میانگین اثر ترکیب‌های تیماری حاصل از کیفیت اولیه بذر (A)، پیش‌تیمار (B) و محلول پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (C) بر محتوای مالون دی آلدهید برگ ۱۳۴

جدول پیوست ۱۷- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) آنزیم‌های آنتی اکسیدان تحت تأثیر سال‌های آزمایش، کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک ۱۳۵

جدول پیوست ۱۸- مقایسه میانگین اثر ترکیب‌های تیماری حاصل از کیفیت اولیه بذر (A)، پیش‌تیمار (B) و محلول پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (C) بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ۱۳۶

جدول پیوست ۱۹- مقایسه میانگین اثر ترکیب‌های تیماری حاصل از کیفیت اولیه بذر (A)، پیش‌تیمار (B) و محلول پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (C) بر فعالیت آنزیم کاتالاز در سال اول و دوم ۱۳۷

جدول پیوست ۲۰- مقایسه میانگین اثر ترکیب‌های تیماری حاصل از کیفیت اولیه بذر (A)، پیش‌تیمار (B) و محلول پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (C) بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ۱۳۸

جدول پیوست ۲۱- مقایسه میانگین اثرات سه جانبه سال (Y)، پیش‌تیمار (B) و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (C) بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ۱۳۸

جدول پیوست ۲۲- مقایسه میانگین اثر ترکیب‌های تیماری حاصل از کیفیت اولیه بذر (A)، پیش‌تیمار (B) و محلول پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (C) بر فعالیت آنزیم پراکسیداز ۱۳۹

جدول پیوست ۲۳- مقایسه میانگین اثرات سه جانبه سال (Y)، کیفیت اولیه بذر (A) و پیش‌تیمار با غلظت های مختلف اسید سینامیک (B) بر فعالیت آنزیم پراکسیداز ۱۳۹

جدول پیوست۲۴- مقایسه میانگین اثرات سه جانبه سال (Y)، پیش‌تیمار (B) و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (C) بر فعالیت پراکسیداز ۱۴۰

جدول پیوست ۲۵ -میانگین اثرات چهار جانبه سال (Y)، کیفیت اولیه بذر (A)، پیش‌تیمار (B) و محلول‌پاشی (C) با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر فعالیت آنزیم پراکسیداز ۱۴۰

جدول پیوست ۲۶- مقایسه میانگین اثر ترکیب‌های تیماری حاصل از کیفیت اولیه بذر (A)، پیش‌تیمار (B) و محلول پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (C) بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون رداکتاز در سال اول و دوم ۱۴۱

فصل اول

مقدمه

امنیت غذایی سنگ بنای یک جامعه توسعه یافته و عنصر اصلی سلامت فکری، روانی و جسمی اعضای آن است. این مهم به‌ویژه برای کشورهای در حال توسعه نظیر ایران شایان توجه مضاعف است. براساس پیش‌بینی های موجود، جمعیت ایران در سال ۱۴۰۴ خورشیدی (۲۰۲۵ میلادی) به ۹۰ میلیون و در سال ۱۴۲۹ (۲۰۵۰) به حدود ۱۱۵ میلیون نفر خواهد رسید. جمعیت جهان نیز در این سال‌ها به ترتیب حدود ۷/۷ و ۹ میلیارد نفر خواهد بود. تجزیه و تحلیل دانشمندان علم زراعت حاکی از آن است که با روش‌های کنونی تولید و نیز با توجه به عدم پایداری آن به دلیل وجود دائمی عوامل کاهنده‌ی تولید نظیر تنش‌های مختلف محیطی، کمبود غذا یک تهدید جدی برای حیات بشر محسوب می‌گردد. از این‌رو، به‌کارگیری تکنولوژی‌های آینده‌نگر برای تأمین و تضمین امنیت غذایی بشر حائز اهمیت فراوان می‌باشد (یزدی صمدی، ۱۳۹۶).

رشد و نمو گیاهان به‌عنوان یک پدیده پیچیده بازتاب پاسخ آن‌ها به شرایط متغیر محیطی است. کاهش رشد تحت شرایط نامناسب محیطی به قطع ارتباط بین فرآیندهای گیاه، تغییر فرآیندهای کلیدی و حتی متوقف شدن برخی از این فرآیندها نسبت داده می‌شود. گیاهان طی دوره رشد خود به‌طور مداوم با شرایط متغیر محیطی که به آنها تنش‌های محیطی[۱] اطلاق می‌گردد، روبرو می‌شوند. تنش عبارت است از هر عامل خارجی که بر رشد و نمو، عملکرد، ظرفیت تکثیر و به‌طور کلی بقای گیاه تأثیر منفی داشته باشد. رطوبت، دما، تشعشع، مواد غذایی و گازها بسته به مقدارشان در محیط می‌توانند رشد و نمو گیاهان را افزایش یا کاهش دهند. مقدار یا غلظت نامناسب این عوامل سبب ایجاد تنش در گیاه می‌شود (کوچکی و همکاران، ۱۳۶۷). عوامل تنش‌زا اغلب با تغییر در فرآیند های فیزیولوژیک گیاه موجب ایجاد صدمه و کاهش عملکرد می‌شوند. واکنش فرآیندهای فیزیولوژیک به عوامل تنش‌زا در گونه‌های مختلف گیاهی همواره ثابت نیست، بلکه ممکن است از گیاهی به گیاه دیگر و حتی در مراحل مختلف رشد و نمو متفاوت باشد (کافی و مهدوی دامغانی، ۱۳۸۱). شرایط تنش می‌تواند به‌صورت دائم یا موقت رخ دهد و لزوماً مرگ آنی گیاه را در پی ندارد. به‌طوری که اگر تنش پس از مدت کوتاهی حذف شود، گیاه به

۱- Environmental stresses

حالت طبیعی باز می‌گردد و چنان‌چه تنش فراتر از محدوده تحمل گیاه باشد، آسیب و یا حتی مرگ در سطوح مختلف را در پی خواهد داشت. از سوی دیگر، گیاهان به مکانیسم‌های مولکولی منحصر به فردی مجهز می باشند که در نهایت سبب مقاومت گیاه در برابر انواع تنش‌های محیطی می‌گردند (وینس و زولتان، ۲۰۱۱).

زوال بذر[۱] که به آن فرسودگی و نیز پیری بذر[۲] هم اطلاق می‌گردد یکی از مشکلات اساسی بر سر راه تولید در کشاورزی است و جزء تنش‌های غیرزنده به‌شمار می‌آید که می‌تواند قدرت بقای بذر را کاهش دهد و در نهایت سبب مرگ آن گردد. طوری که طبق آمار، سالیانه حدود ۲۵ درصد بذر تولیدی به‌ویژه در اثر نگهداری در شرایط نامناسب پس از تولید از دست می‌رود (شلار و همکاران، ۲۰۰۸). فرسودگی را می‌توان به‌صورت از دست رفتن کیفیت، قابلیت حیات و بنیه بذر به‌صورت غیرقابل برگشت طی زمان تعریف کرد که با بالا رفتن دما و رطوبت شدت آن افزایش می‌یابد. در چنین شرایطی حفظ قابلیت حیات طی دوره انبارداری بسیار مشکل خواهد بود. کیفیت بذر به هنگام کاشت به کیفیت اولیه آن در انبار، دما، محتوای رطوبت بذر، مقدار رطوبت محیط نگهداری بذر و نیز عوامل زنده موجود در محیط نگهداری بذر (نظیر قارچ‌ها) بستگی دارد. در این بین، دما و رطوبت بالا از جمله مهمترین عوامل نامساعد فراهم‌کننده شرایط وقوع فرسودگی بذر به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه است که کشاورزان بخشی از بذر تولیدی را برای کشت در سال زراعی بعد در انبارهایی با شرایط نامناسب نگهداری می کنند (کاپور و همکاران، ۲۰۱۰).

مطالعات متعددی درباره تأثیر فرسودگی بذر بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی، اکولوژیکی و زراعی گیاهان مختلف انجام شده است. تعداد زیادی از این مطالعات حاکی از کاهش قابل‌توجه در درصد جوانه زنی، بنیه بذر و وزن خشک گیاه‌چه می‌باشد (گووینداراج و همکاران، ۲۰۱۷). تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و نیز تجمع برخی متابولیت‌های ثانویه نیز مشاهده شده است. برای درک بهتر فرآیند پیری بذر می‌توان از آزمون بنیه بذر و یا روش پیری تسهیل شده استفاده کرد. در تیمارهای فرسودگی تسهیل شده از این واقعیت استفاده می‌گردد که

---

[۱]- Seed deterioration

[۲]- Seed aging

دما و رطوبت بالا سبب تسهیل فرسودگی می‌شوند. به‌طوری که با دستکاری این دو عامل در محیط آزمایشگاه می توان بذر را فرسوده کرد و سپس به مطالعه آن پرداخت (دلوچه و باسکین، ۱۹۷۳).

از سوی دیگر، امروزه از ترکیبات مختلفی شامل ترکیبات شیمیایی، ویتامین‌ها، قارچ‌کش‌ها، تنظیم کننده های رشد و ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان به‌منظور کاهش اثرات منفی انواع تنش‌های محیطی از جمله تنش فرسودگی بذر به‌صورت پیش‌تیمار بذری[۱] و یا محلول‌پاشی برگی[۲] استفاده می‌شود. یکی از این ترکیبات اسید سینامیک[۳] می‌باشد که یک ترکیب فنولی است و بر اساس تحقیقات، سطوح داخلی این متابولیت در مواجهه با انواع تنش‌ها تغییر می‌یابد. خواص آنتی‌اکسیدانی آن در برخی تنش‌های محیطی به اثبات رسیده است.

حبوبات از جمله گیاهان مهم زراعی می‌باشند که به لحاظ دارا بودن منابع سرشار پروتئین در تغذیه انسان و دام از اهمیت خاصی برخوردارند و به همین لحاظ از آنها به‌عنوان گوشت مردم فقیر یاد می‌شود. همچنین به دلیل دارا بودن قابلیت تثبیت نیتروژن از نظر اکوسیستم‌های کشاورزی نیز اهمیت دارند (مجنون‌حسینی، ۱۳۸۷).

لوبیا چشم بلبلی یکی از حبوبات ارزشمندی است که علاوه بر دارا بودن همه مزایای این گروه از گیاهان زراعی، از نظر غذایی نیز به‌واسطه دارا بودن اسید فولیک فراوان و عوامل نفخ‌زای کمتر نسبت به سایر حبوبات متمایز است. از سوی دیگر، بذر این گیاه نظیر بذر بسیاری دیگر از محصولات زراعی نسبت به شرایط نامساعد محیطی (به‌ویژه دما و رطوبت بالا) حساس می‌باشد. اگرچه مقاومت به فرسودگی بذر در ارقام مختلف لوبیا چشم بلبلی متفاوت است ولی در مجموع می‌توان گفت زوال بذر در این گیاه سبب کاهش وزن‌تر و وزن خشک گیاه‌چه، طول گیاه‌چه، شاخص ویگور گیاه‌چه، شاخص سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه می‌گردد (شاهین و همکاران، ۲۰۱۳) که هر یک از این‌ها می‌تواند زمینه‌ساز به‌وجود آمدن یک گیاه ضعیف و حساس به شرایط سخت محیطی با عملکرد و کیفیت پایین گردد. از این رو، یافتن راهکاری که به کمک آن بتوان از اثرات مخرب زوال بذر

---

[۱] - Seed pretreatment
[۲] - Foliar application
[۳]- Cinnamic acid

جلوگیری کرد یا دست‌کم سبب تخفیف اثرات مخرب فرسودگی بذر شد، حائز اهمیت می‌باشد. با توجه به اینکه سندی درباره مطالعه اثرات آنتی‌اکسیدانی اسید سینامیک روی بذرهای زوال یافته به‌دست نیامد، در این مطالعه با فراهم آوردن شرایط پیری تسهیل شده به‌عنوان روشی کارآمد جهت شبیه‌سازی شرایط انبارداری بذر در حضور عوامل تسهیل کننده زوال و ارزیابی بنیه بذر و نیز بررسی آسیب‌های حاصل از زوال (ابرو و همکاران، ۲۰۱۳، شیباتا و همکاران، ۲۰۱۲) به بررسی تأثیر کاربرد اسید سینامیک به‌صورت پیش‌تیمار بذر و نیز محلول‌پاشی برگی پرداخته شد.

بخش اجرایی این رساله با هدف بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیک بذرهای غیرفرسوده و فرسوده لوبیا چشم بلبلی به پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف اسید سینامیک و نیز واکنش‌های فیزیولوژیک و زراعی گیاه لوبیا چشم بلبلی حاصل از بذرهای غیرفرسوده و فرسوده به محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسید سینامیک به اجرا در آمد.

اهداف اصلی این تحقیق عبارتند از:

۱- بررسی تأثیر پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر ویژگی‌های فیزیولوژیک بذرهای غیرفرسوده و نیز فرسوده لوبیا چشم بلبلی و گیاهان حاصل از آن‌ها

۲- بررسی عکس‌العمل گیاه لوبیا به محلول‌پاشی اسید سینامیک با غلظت‌های مختلف

۳- تعیین مناسب‌ترین محدوده غلظت اسید سینامیک برای پیش‌تیمار بذر

۴- تعیین مناسب‌ترین محدوده غلظت اسید سینامیک برای محلول‌پاشی برگی

۵- معرفی اسید سینامیک به‌عنوان آنتی‌اکسیدان مؤثر در کاهش اثرات مخرب فرسودگی بذر

فصل دوم

بررسی منابع

۲-۱- بذر و اهمیت آن در کشاورزی

شکل‌گیری و توسعه تمدن بشری با شناخت، جمع‌آوری و کاشت بذر آغاز و همزمان با آگاهی انسان اولیه از قابلیت نگهداری بذر برای استفاده در زمستان، کوچ‌نشینی به استقرار در مکان‌هایی دارای استعداد کشاورزی تبدیل گردید. قسمت اعظم غذای انسان، حیوانات و پرندگان را بذرها تشکیل می‌دهند طوری که بیش از ۵۰ درصد انرژی آن‌ها تنها به‌وسیله غلات به‌عنوان منبع عمده هیدرات کربن و لگوم‌ها به‌عنوان منبع عمده پروتئین گیاهی تأمین می‌گردد . علاوه بر این، بذرها دارای مصارف متعدد دارویی، صنعتی و تجاری می‌باشند (مجنون‌حسینی، ۱۳۸۷).

بذر مهمترین و اساسی‌ترین بخش گیاه است که در بازسازی، حفظ و انتقال مواد ژنتیکی گیاه و همچنین مکانیسم‌های پراکنش، تکثیر و بقای گیاه در شرایط بسیار سخت نقش اساسی دارد. همچنین مهم‌ترین عامل تکثیر گیاهان به روش جنسی می‌باشد که در مقایسه با اندام‌هایی که سبب تکثیر غیرجنسی می‌گردند، معمولاً کوچکتر هستند در نتیجه حمل و نقل و انبارداری آن راحت‌تر است. از سوی دیگر، طول عمر بذر و مقاومت بذر در مقابل شرایط نامساعد محیطی در مقایسه با اکثر اندام‌های قابل تکثیر بیشتر می‌باشد (واترورس و همکاران، ۲۰۱۵).

۲-۲- طول عمر بذر[۱]

بذر موجود زنده‌ای است که برای حفظ بقای خود به مکانیسم‌های بسیار منحصر به فردی مجهز شده است. ولی مانند سایر اشکال حیات به‌تدریج دچار فرسودگی می‌شود و در نهایت از بین می‌رود. با این وجود، بذر بعضی از گونه‌های گیاهی در شرایط مطلوب به مدت طولانی‌تری قادر به ادامه حیات می‌باشند. همان‌طور که پیش‌تر بیان گردید بذر برای تکثیر گیاهان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. به‌طوری‌که کشاورزان و نیز تولیدکنندگان بذر همواره به دنبال بذرهایی با کیفیت بالا هستند تا از کسب عملکرد نهایی مطلوب اطمینان حاصل نمایند. از

[۱] - Seed longevity

سوی دیگر، بنیه بذر[1] یک ویژگی پیچیده فیزیولوژیک برای اطمینان از وقوع جوانه‌زنی سریع و کامل، ظهور و استقرار یکنواخت گیاه‌چه‌های قوی و در نهایت عملکرد مطلوب گیاه در شرایط مزرعه محسوب می‌شود. این ویژگی به توانایی بذر برای ماندگاری در شرایط انبارداری و مقاومت در برابر آثار مخرب فرسودگی بذر وابسته است که به آن طول عمر بذر اطلاق می‌گردد (نیسارگا و همکاران، ۲۰۱۷).

جوانه‌زنی مناسب بذر و استقرار گیاه‌چه‌های قوی در مزرعه برای حصول عملکرد نهایی بسیار حائز اهمیت می‌باشد. بذرهای بالغ به لحاظ فیزیولوژیک در وضعیتی هستند که آن‌ها را قادر می‌سازد در برابر انواع شرایط نامساعد محیطی نظیر دماهای بالا یا پائین، یخزدگی و پسابیدگی مقاومت کنند (الیس، ۱۹۹۲). طول عمر بذر که به معنی طول مدت زنده ماندن بذر است، ویژگی بسیار مهمی است که نه‌تنها برای تطابق گیاه با شرایط متغیر محیطی بلکه برای حفظ تنوع ژنتیکی و تولید موفق محصول در بخش کشاورزی حائز اهمیت می‌باشد. کاهش طول عمر و وقوع فرسودگی[2] در بذر اغلب با اکسیداسیون ماکرومولکول‌های اساسی نظیر اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها و لیپیدها در ارتباط است. بذرها در حالت خشک دارای مکانیسم‌هایی نظیر حفاظت، سمیت‌زدایی و تعمیر می‌باشند که سبب حفظ بنیه و قابلیت جوانه‌زنی بالا می‌گردد. استراتژی حفاظتی شامل تشکیل سیتوپلاسم شیشه‌ای به منظور کاهش فعالیت‌های متابولیکی سلول و راهکار سمیت‌زدایی شامل تولید انواع آنتی‌اکسیدان‌ها است که از طریق مکانیسم جاروب کنندگی[3] از تجمع ماکرومولکول‌های اکسیدشده طی دوره انبارداری بذر ممانعت می‌کنند. سیستم ترمیم مولکول‌های آسیب دیده (DNA، RNA و پروتئین‌ها) طی فرآیند آبنوشی از طریق آنزیم هایی نظیر DNA گلیکولاز و متیونین سولفوکساید رداکتاز می‌باشد (سانو و همکاران، ۲۰۱۵). لازم به ذکر است علاوه بر طول عمر بذر، خواب بذر نیز جزء ویژگی‌هایی است که بذر از آن برای تطابق با شرایط نامساعد محیطی استفاده می‌کند.

[1] - Seed vigor
[2] - Seed deterioration
[3] - Scavenging mechanism

۲-۳- فرسودگی بذر

فرسودگی بذر و کاهش قابلیت انبارداری آن مسئله‌ای اساسی در ذخیره بذرها محسوب می‌گردد که در نهایت می‌تواند سبب افزایش هزینه‌های تولید محصولات کشاورزی گردد. این تلفات به‌ویژه در کشورهای کمتر توسعه یافته و نیز در نواحی جغرافیایی که بذرها طی دوره رسیدگی و انبارداری با دما و رطوبت نسبی بالا مواجه می‌شوند، به مراتب بیشتر است (سالونکه و همکاران، ۱۹۸۵) و (کیم، ۲۰۱۸).

فرسودگی بذر را می‌توان با ۳ مفهوم کلی توصیف کرد (دلوچه، ۱۹۷۳):

۱- فرسودگی بذر یک فرآیند غیرقابل انعطاف است. به این مفهوم که تمام موجودات زنده در نهایت دچار پیری و مرگ می‌شوند. به‌طوری که نمی‌توان جلوی فرآیند پیری را گرفت بلکه تنها می‌توان سرعت آن را کم کرد.

۲- فرسودگی بذر یک فرآیند غیرقابل برگشت است. به این مفهوم که واکنش‌های کاتابولیک طی پیری به‌صورت پیش‌رونده و غیرقابل برگشت ادامه می‌یابند.

۳- فرسودگی بذر بین جمعیت‌های بذر متفاوت است. به طوری که به اثبات رسیده بعضی ارقام نسبت به ارقام دیگر دیرتر و یا با سرعت کمتر دچار فرسودگی می‌شوند. این تفاوت حتی بین توده‌های مختلف یک رقم هم وجود دارد.

۲-۴- عوامل مؤثر بر طول عمر بذر

۲-۴-۱- عوامل داخلی

عوامل فیزیکی و وضعیت فیزیولوژیک بذرها به‌شدت بر طول عمر آن‌ها مؤثر است. بذرهای شکسته، ترک خورده و حتی کوبیده‌شده نسبت به بذرهایی که آسیب مکانیکی ندیده‌اند، سریع‌تر دچار فرسودگی می‌شوند (مک دونالد، ۱۹۸۵). برخی تنش‌های فیزیولوژیک در خلال نمو بذر و قبل از رسیدگی فیزیولوژیک نیز می‌توانند منجر به فرسودگی گردند. اندازه بذر و وضعیت پوسته نیز بر طول عمر بذر تأثیرگذار می‌باشند.

۲-۴-۱-۱- دما و رطوبت نسبی

مطالعات زیادی روی اثرات دما و رطوبت نسبی بر طول عمر بذر انجام شده است و تقریباً تمام آن‌ها تأیید می‌کنند که هرچه دما و رطوبت کمتر باشد قدرت بقای بذر بالاتر خواهد بود زیرا این دو عامل برای انجام اغلب فرآیندهای درون سلولی عوامل اولیه محسوب می‌شوند (کیم، ۲۰۱۸). به‌عبارت دیگر، از میان تمام عوامل دخیل در وقوع پیری در بذر، دما و رطوبت مهم‌ترین عوامل می‌باشند. اثرات رطوبت نسبی (و اثرات بعدی آن بر رطوبت بذر) و دمای محیط انبار شدیداً با هم در ارتباط هستند. سوما و همکاران (۲۰۱۳) در مطالعه خود روی بذرهای خردل و منداب دریافتند دما و رطوبت بالا سبب افت شدید درصد جوانه‌زنی، متوسط زمان جوانه‌زنی و نیز شاخص بنیه بذر می‌گردد. بذر اکثر گیاهان زراعی در رطوبت نسبی نزدیک ۸۰ درصد و دمای ۲۵ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد قابلیت حیات خود را از دست می‌دهند. اما همین بذرها را می‌توان در رطوبت نسبی ۵۰ درصد یا کمتر و دمای ۵ درجه سانتی‌گراد یا پایین‌تر به مدت ۱۰ سال و حتی بیشتر زنده نگه داشت (تووله، ۱۹۵۰). در خصوص وابستگی شدید دما، رطوبت نسبی و طول عمر بذر، هارینگتون (۱۹۷۲) دو قانون تجربی در مورد شرایط انبارداری مطلوب بذر ارائه داد:

۱- هر ۱ درصد کاهش در رطوبت بذر سبب دو برابر شدن طول عمر بذر می‌گردد.

۲- هر ۵ درجه سانتی‌گراد کاهش دما سبب دو برابر شدن طول عمر بذر می‌گردد.

۲-۴-۱-۲- رطوبت بذر

آب آزاد آبی است که با پیوندهای بسیار ضعیف در فضاهای بین‌سلولی و بین‌بافتی قرار دارد و با خشک کردن بذر به‌راحتی از آن خارج می‌شود. در صورتی که این آب در بذر باقی بماند منجر به زوال و نابودی سریع آن خواهد شد. در قوانین هارینگتون در رابطه با وابستگی طول عمر بذر به دما و رطوبت نسبی محیط باید رطوبت بذر را نیز در نظر گرفت. به‌طوری که در شرایطی که رطوبت بذر بالاتر از ۱۴ درصد و یا پایین‌تر از ۵ درصد باشد این قوانین صادق نیستند. زیرا در رطوبت بالای ۱۴ درصد شدت تنفس افزایش می‌یابد و احتمال آلودگی بذر به عوامل بیماری

زا بیش‌تر می‌گردد. در چنین شرایطی فرسودگی بذر تسهیل می‌شود. هنگامی که رطوبت بذر کمتر از ۵ درصد باشد، در اثر تجزیه ساختار غشاء فرآیند پیری سریع‌تر رخ می‌دهد. بنابراین، در حالتی که رطوبت بذر بین ۵ تا ۶ درصد است، احتمال وقوع زوال بسیار کم می‌باشد.

هر دو پارامتر دما و رطوبت بر متابولیسم بذر تأثیرگذار هستند. رطوبت نسبی بالا مقدار رطوبت بذر را افزایش می‌دهد که در نتیجه فعالیت‌های بیوشیمیایی بذر افزایش می‌یابد. دمای بالا نیز سبب تغییر سرعت برخی واکنش های آنزیمی و متابولیکی می‌شود که تسریع فرسودگی بذر را در پی خواهد داشت (شلار و همکاران، ۲۰۰۸). این تغییرات در فعالیت آنزیمی در بذرهای سویا (مورتی، ۲۰۰۲) و پنبه (گوئل و همکاران، ۲۰۰۶) مشاهده گردید. با این حال، محتوای رطوبت بذر به‌عنوان مهم‌ترین عامل حفظ طول عمر بذر شناخته شده است. اگرچه مقدار رطوبت بذر و دماهای بالا به هم وابسته‌اند اما دماهای بالا به واسطه افزایش فعالیت متابولیکی، فرسودگی بذرهای دارای محتوای رطوبتی بالا را تسریع می‌کنند. دماهای بالا تاثیر کمی بر فرسودگی بذرهای دارای محتوای رطوبت پایین می‌گذارند. به‌طوری که بذرهای دارای رطوبت کم در دمای بالای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به‌خوبی انبار می‌شوند ولی بذرهایی که مقدار رطوبت آن‌ها زیاد است، تنها در شرایطی که دما به ۱۰ درجه سانتی‌گراد یا کمتر کاهش یابد به‌راحتی قابل نگهداری در انبار می‌باشند. در نتیجه، اگرچه دما و رطوبت نسبی در تعیین طول عمر بذر اثر متقابل دارند، کنترل رطوبت نسبی و اثرات بعدی آن بر محتوای رطوبت بذر به‌منظور فراهم آوردن شرایط بهینه انبارداری از دمای انبارداری اهمیت بیشتری دارد.

۲-۴-۲- عوامل ژنتیکی

بذر برخی گونه‌ها به لحاظ ژنتیکی و شیمیایی مجهز به مکانیسم‌هایی می‌باشند که سبب حفظ قابلیت حیات آن‌ها و افزایش طول دوره انبارداری در مقایسه با بذر سایر گونه‌ها در شرایط مشابه می‌گردد. برای مثال، بذرهای دارای پوسته سخت و نفوذ ناپذیر معمولاً قابلیت حیات خود را برای مدت طولانی‌تری حفظ می‌کنند. همچنین بذرهایی که محتوای روغن آن‌ها به‌ویژه در جنین بالاتر است سریع‌تر دچار فرسودگی می‌شوند. تفاوت ژنتیکی در

پتانسیل انبارداری صرفاً به بذر گونه‌های مختلف محدود نمی‌شود. بلکه این اختلاف بین بذر ارقام مختلف یک گونه نیز قابل مشاهده است. البته باید در نظر داشت شرایط محیطی و پتانسیل ژنتیکی نیز طول عمر بذر را به شدت تغییر می‌دهد (ناگل و همکاران، ۲۰۱۶) و (وئو و همکاران، ۲۰۱۷).

۲-۴-۳- وجود میکروفلور

آلودگی قارچی بذرها معمولاً ناشی از قارچ‌های مزرعه‌ای و انباری می‌باشد. قارچ‌های مزرعه‌ای بر خلاف قارچ های انباری برای فعالیت به رطوبت نسبی بالا احتیاج دارند. بنابراین، عمده خسارت منجر به زوال در انبار ناشی از حمله قارچ‌های انباری به جنین بذر می‌باشد. از سوی دیگر، از آنجایی که باکتری‌ها برای فعالیت به آب آزاد نیاز دارند، معمولاً نمی‌توانند سبب تسریع زوال بذر در انبار شوند (کریستنسن، ۱۹۷۲).

۲-۴-۴- خسارت مکانیکی

بذرها طی فرآیند تولید تا انبارداری ممکن است در معرض آسیب‌های مکانیکی قرار گیرند. این آسیب‌ها معمولا اثرات آنی بر کیفیت بذر و طول عمر آن ندارند بلکه به دلیل تدریجی بودن فرآیند زوال، به مرور و طی دوره انبارداری سبب کاهش طول عمر بذر می‌گردند. از سوی دیگر، وجود خسارت‌های مکانیکی در بذرها می‌تواند زمینه حمله قارچ‌ها به بذر را فراهم نماید (سالونکه و همکاران، ۱۹۸۵).

۲-۴-۵- رسیدگی بذر

رسیدگی بذر بر قابلیت انبارداری آن تأثیرگذار می‌باشد. به‌طوری که، بیشترین توان انبارداری بذر در زمان رسیدگی فیزیولوژیک است. بسیاری از گیاهان دارای الگوی گلدهی نامحدود (نظیر حبوبات) بذرهایی با درجات مختلف رسیدگی و در نتیجه قابلیت انبارداری متفاوت تولید می‌کنند (سیلوا و همکاران، ۲۰۱۸).

۲-۵- علائم فرسودگی بذر

فرسودگی بذر در مجموع فرآیندی پیچیده محسوب می‌گردد. در نتیجه تفسیر و ارزیابی دقیق و جامع نتایج حاصل از مطالعات روی زوال مشکل است. همچنین باید توجه داشت که وقوع فرسودگی ممکن است در بذرهای

مختلف در قسمت‌های متفاوت رخ دهد. بدین‌معنا که بخش‌های مختلف بذر از نظر ترکیب شیمیایی و حساسیت به زوال متفاوت هستند. اکثر علائم مشهود در زوال بذر ابتدا در سطح مورفولوژیک و سپس در خلال جوانه‌زنی و رشد گیاه‌چه مشاهده می‌شوند و تا تغییرات فیزیولوژیک و فراساختاری پیش می‌روند که علائم آن به آسانی قابل تشخیص نمی‌باشد (کاپلند و مکدونالد، ۲۰۰۱).

۲-۵-۱- تغییرات ظاهری

تغییر رنگ پوسته بذر و نیز نکروزه شدن لپه‌ها به‌عنوان یکی از شاخص‌های ظاهری زوال بذر می‌باشد. این تغییرات معمولاً در اثر واکنش‌های اکسیداسیون در پوسته رخ می‌دهد که در شرایط دما و رطوبت بالا تسریع می گردند.

۲-۵-۲- تغییرات فراساختاری

بر اساس تحقیقات، از بین رفتن انسجام غشاهای سلولی و افزایش نشت الکترولیت‌ها که خود در اثر تخریب فسفولیپدها ناشی از وقوع پراکسیداسیون لیپیدی است، یکی از علائم فرسودگی بذر می‌باشد. همچنین، کاهش میزان تنفس، کاهش فعالیت آنزیم‌های دخیل در تجزیه ذخایر بذر و تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در مقایسه با بذرهای غیرفرسوده می‌تواند ناشی از زوال بذر باشد (گووینداراج و همکاران، ۲۰۱۷)

۲-۵-۳- کاهش درصد جوانه‌زنی

جوانه‌زنی یکی از مهمترین مراحل در چرخه زندگی گیاه می‌باشد که با پراکنش گونه‌های وحشی، افزایش کمیت و کیفیت تولید در ارتباط مستقیم است (روبیو دکاساس و همکاران، ۲۰۱۷). شاید بتوان گفت اولین رویداد قابل مشاهده در بذرهای فرسوده، کاهش و یا حتی عدم جوانه‌زنی بذر می‌باشد که در بسیاری از مطالعات روی فرسودگی گزارش شده است (لنر و همکاران، ۲۰۰۸).

۲-۶- دلایل فرسودگی بذر

۲-۶-۱- پراکسیداسیون لیپیدها[۱]

از میان تمام مدل‌های ارائه شده برای زوال بذر، مدل پراکسیداسیون لیپیدی با بیشترین استقبال مواجه شده است (کاپلند و مکدونالد، ۲۰۰۱). دلوچه و باسکین (۱۹۷۳) برای اولین‌بار گزارش دادند که به‌دنبال وقوع زوال بذر زنجیره‌ای از رخدادهای بیوشیمیایی به‌وقوع می‌پیوندند که در نهایت منجر به عدم جوانه‌زنی بذر و کاهش عملکرد در مزرعه می‌گردند. براساس مدل پیشنهادی آنها، تخریب غشاء در اثر پراکسیداسیون لیپیدی اولین رویداد طی فرسودگی بذر می‌باشد. مکانیسم پراکسیداسیون لیپیدی به‌خوبی شناسایی شده است. به‌طوری که حمله رادیکال‌های آزاد به اسیدهای چرب غیراشباع (به‌ویژه اسید اولئیک و اسید لینولئیک به‌عنوان رایج‌ترین اسیدهای چرب غشاء بذر) سبب آسیب به غشاء می‌گردد و از بین رفتن قابلیت نفوذ انتخابی غشاء منجر به افزایش تراوش محتویات سلول و نشت الکترولیت‌ها می‌گردد. از بین رفتن تمامیت غشاء پس از آبنوشی و با نشت الکترولیت‌ها مشخص می‌شود. رادیکال‌های آزاد حاصل از آسیب‌های غشایی بعداً قادرند سایر اجزای سلولی بذر از جمله غشاء اندامک‌های سلولی و ماکرومولکول‌های اساسی (پروتئین‌ها، قندها، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک) و حتی برخی متابولیت‌های ثانویه را مورد حمله قرار دهند. همچنین، در اثر تجمع انواع مختلف گونه‌های فعّال اکسیژن (ROS)[۲] و فعالیت و میل ترکیبی بالای آن‌ها با ماکرومولکول‌های اساسی، بذر دچار آسیب اکسیداتیو می گردد (منزس و همکاران، ۲۰۱۴). تنش اکسیداتیو ناشی از افزایش دسترسی به ROS (به‌عنوان عامل تحریک وقوع تنش در سلول‌های گیاهی و جانوری) به‌عنوان جزء کلیدی در بسیاری از پاسخ‌های گیاه به انواع تنش‌های محیطی است (نوکتور و همکاران، ۱۹۹۸). بر اساس فرضیه‌های موجود، بذر تنها زمانی قادر به جوانه‌زنی است که محتوای ROS کمتر از یک حد آستانه باشد. مالون دی آلدهید یکی از ترکیباتی است که در اثر فعالیت ROS به

۱- Lipid peroxidation

۲- Reactive oxygen species

هنگام وقوع پراکسیداسیون لیپیدی تولید می‌شود و به‌عنوان نشانگر زیستی وقوع پراکسیداسیون محسوب می گردد (بیلی و همکاران، ۲۰۰۸).

برای به حداقل رساندن پراکسیداسیون لیپیدی در بذرها چهار راهکار ارائه شده است:

۱) تغییر لیپیدها: از طریق تغییر نسبت اسیدهای چرب اشباع به غیراشباع. زیرا اسیدهای چرب اشباع نسبت به اسیدهای چرب غیراشباع کمتر در معرض اکسیداسیون لیپیدی قرار می‌گیرند.

۲) تنظیم فشار اکسیژن: کاهش مقدار اکسیژن موجود در اطراف بذر می‌تواند از طریق کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن سبب کاهش وقوع پراکسیداسیون لیپیدی گردد.

۳) تیمار بذر با ترکیبات دارای خواص آنتی‌اکسیدانی: پیش‌تیمار بذر با متابولیت‌هایی نظیر ویتامین E سبب حفاظت آنتی‌اکسیدانی از مولکول‌های اسید چرب از طریق مکانیسم جاروب‌کنندگی رادیکال‌های آزاد می‌گردد.

۴) هیدرو پرایمینگ بذر: بذرهای دارای بنیه ضعیف را می‌توان از طریق یکسری تیمارها که به آن‌ها پرایمینگ اطلاق می‌گردد، بهبود بخشید. در این حالت، بذرها به‌صورت کنترل شده‌ای در معرض آبگیری مجدد[۱] قرار می گیرند. این تیمار معمولاً از طریق تأثیر بر جنبه‌های فیزیولوژیک بنیه بذر شامل بهبود کارکرد بذر حین جوانه‌زنی (فعال شدن مکانیسم‌های اولیه ترمیم و بازسازی خسارت‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد مؤثر است(ژو و همکاران، ۲۰۱۹).

۲-۶-۲- نابودی ساختارهای حیاتی بذر

اسیدهای چرب تنها سوبسترای ROS در سلول نمی‌باشند. بلکه یکی از مهم‌ترین رخدادها طی زوال بذر تجزیه پیش‌رونده DNA هسته جنین ناشی از اکسیداسیون و یا نردبانی شدن آن می‌باشد که در نهایت سبب تکه تکه شدن مولکول DNA می‌گردد. این فرآیندها شبیه فرآیندهای مرگ برنامه‌ریزی شده سلول[۲] می‌باشند (بیلی و همکاران، ۲۰۱۱).

---

۱ - Rehydration

۲ - Programmed cell death

اکسیداسیون پروتئین‌ها در اثر فعالیت ROS منجر به هیدروکسیلاسیون گروه‌های آروماتیک و آلیفاتیک اسیدهای آمینه می‌گردد. همچنین اکسیداسیون می‌تواند سبب باز شدن زنجیره پلی‌پپتیدی و ایجاد پیوندهای متقاطع گردد. گروه‌های فعال پروتئین با فرآورده‌های اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع و نیز با مشتقات کربوهیدرات‌ها وارد واکنش می‌شوند تا مشتقات غیرفعال تولید نمایند. معمولاً از مقدار تجمع گروه‌های کربونیل به‌عنوان نشانگر آسیب اکسیداتیو به پروتئین‌ها استفاده می‌شود. به‌طور کلی، به‌هنگام وقوع پیری سطح پروتئین های اکسیدشده افزایش می یابد (استاتمن و لوین، ۲۰۰۳). همچنین، اسیدهای آمینه‌ای نظیر سیستئین، تریپتوفان، متیونین، هیستیدین و فنیل آلانین نیز به ROS حساس می‌باشند.

میتوکندری از جمله اندامک‌های سلولی است که به‌دلیل وجود مقادیر بالای اکسیژن مکان مناسبی برای فعالیت مولکول‌های ROS می‌باشد. نابودی میتوکندری و غشاهای آن و نیز تغییر کارکرد این اندامک به دلیل ایجاد ضعف تنفسی نقش مهمی در زوال بذر دارد. فعالیت آنزیم ATP آز در میتوکندری بذرهای فرسوده تشدید می‌شود که در نهایت منجر به فروپاشی و قطعه‌قطعه شدن آن در شرایط زوال پیشرفته می‌گردد (پریستلی، ۱۹۸۶).

۲-۶-۳- تغییر در فعالیت آنزیم‌ها

تغییر در فعالیت برخی آنزیم‌ها از دیگر اثرات زوال در بذر گیاهان می‌باشد. به‌طوری که با وقوع زوال فعالیت برخی کاهش و برخی دیگر افزایش می‌یابد. کاهش فعالیت آنزیم‌هایی نظیر کاتالاز و دهیدروژناز در بذرهای زوال یافته به‌خوبی به اثبات رسیده است (کنگ و همکاران، ۲۰۱۵) . چاکماک و همکاران (۲۰۱۰) کاهش فعالیت آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز در بذور فرسوده یونجه را گزارش دادند.

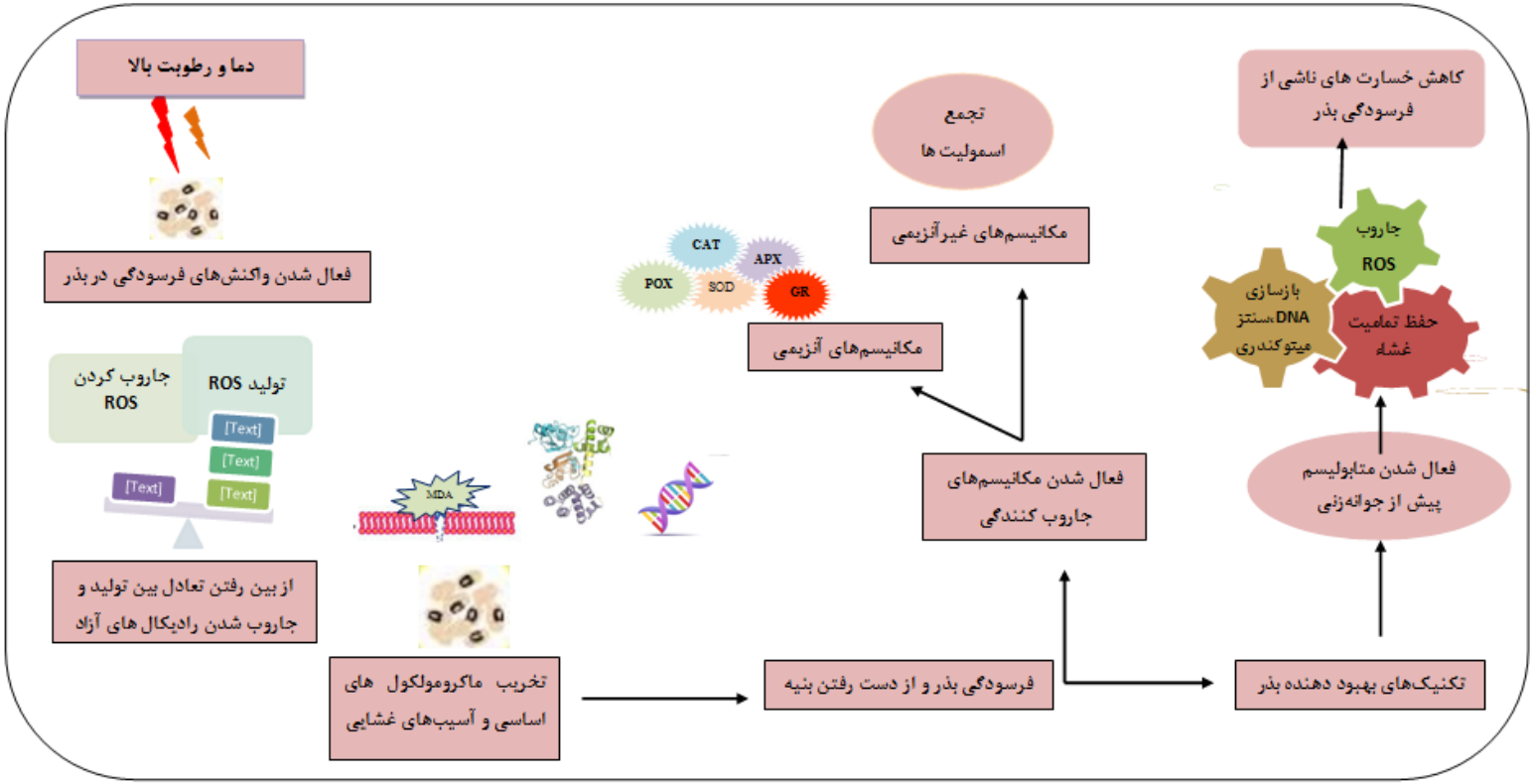
۲-۷- تکنیک‌های بهبود بذر[۱]

امروزه تکنیک‌های مختلفی به‌منظور افزایش بنیه بذر در دسترس است که به‌عنوان تکنیک‌های بهبوددهنده بذر و نیز تقویت کننده بذر[۲] شناخته می‌شوند. این روش‌ها شامل دامنه‌ای از تیمارهای بذری پس از برداشت (یا پیش از کشت) هستند که در نهایت سبب بهبود جوانه‌زنی و رشد گیاه‌چه از طریق تغییر بنیه و یا بهبود وضعیت فیزیولوژیک و سیتولوژیک بذر می‌گردند. هدف این تیمارها کوتاه کردن فاصله زمانی کاشت تا جوانه‌زنی است (حسین و همکاران، ۲۰۱۴) و (بالسترازی و همکاران، ۲۰۱۲). پیش‌تیمار بذر در گیاهان زراعی به وفور مورد استفاده قرار می‌گیرد و هدف آن بهبود کارایی جوانه‌زنی، ظهور و استقرار گیاه‌چه‌های قوی در مزرعه در شرایط نامساعد محیطی می‌باشد و سبب آغاز متابولیسم پیش از جوانه‌زنی می‌گردد. این فرآیند طی مراحل اولیه آبنوشی بذر آغاز می‌شود و شامل پاسخ‌های تعمیری (فعّالسازی مسیرهای بازسازی DNA و مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدان) می‌باشد که برای حفظ تمامیت ژنوم، اطمینان از وقوع جوانه‌زنی مناسب و رشد گیاه‌چه ضروری است (پاپارلا و همکاران، ۲۰۱۵). هانگ و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند فعال شدن مکانیسم تعمیر DNA طی فرآیند پیش‌تیمار سبب بهبود قدرت بقای بذر در *Artemisia sphaerocephala* می‌گردد. یکی دیگر از پاسخ‌های بذر به پیش‌تیمار تقویت مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدان می‌باشد. به‌طوری که پس از انجام پیش‌تیمار، ژن‌های کدکننده آنزیم‌های آنتی اکسیدان نظیر کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز (بالسترازی و همکاران، ۲۰۱۲) و نیز یکسری متابولیت‌های ثانویه در بذر تجمع می‌یابند. تاکنون مطالعات زیادی در مورد به‌کارگیری تکنیک‌های مختلف پیش‌تیمار به کمک ترکیبات شیمیایی، ویتامین‌ها، تنظیم‌کننده‌های رشد و ترکیبات آنتی‌اکسیدان به‌منظور بهبود آسیب‌های ناشی از فرسودگی بذر صورت گرفته است. نتایج حاکی از آن است که کاربرد ترکیباتی نظیر اسید آسکوربیک (رضا و همکاران، ۲۰۱۳) و (بریل هانت و همکاران، ۲۰۱۳)، انواع ویتامین B (هاواکس، ۲۰۰۹ و علیپور و محسن زاده، ۲۰۱۳)، پلی‌آمین‌هایی نظیر پوتریسین و اسپرمیدین (هاریندرا چمپا و همکاران، ۲۰۱۵ و اپال و همکاران، ۲۰۱۵)،

[۱] - Seed improvement techniques
[۲] - Seed invigoration techniques

گلوتاتیون (نعمت اعلی و حسن، ۲۰۱۴)، اسید لوولینیک (کورکمز، ۲۰۱۵)، اسید سالیسیلیک (رضا و همکاران، ۲۰۱۲، کومار باتی و باتاچارجی، ۲۰۱۱)، بخار روغن گیاه اکالیپتوس (باتاچارجی و همکاران، ۲۰۰۶)، برخی ترکیبات و داروهای شیمیایی نظیر ایبوپروفن و آسپرین (سنگوپتا، ۲۰۱۱ و دی و همکاران، ۲۰۱۲)، ترکیبات خام گیاهی نظیر عصاره برگ برخی گیاهان (حسین، ۲۰۱۴، مندال و همکاران، ۲۰۰۳) و نیز ترکیب سنتزی دیکگولاک سدیم (باتاراجی و همکاران، ۲۰۰۶) به‌صورت پیش‌تیمار بذر و یا محلول‌پاشی برگی قادر به تخفیف اثرات منفی انواع تنش‌های زنده و غیرزنده و بعضاً کاهش آثار مخرب زوال بذر می‌باشند. قنبری و همکاران (۱۳۹۵) نشان دادند هیدروپرایمینگ بذرهای فرسوده لوبیا چیتی سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی، بهبود بنیه بذرها، سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری و نیز شرایط عدم تنش گردید.

حسینی‌خواه و همکاران (۱۳۹۲) نیز نشان دادند پیش‌تیمار بذر با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک و ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میلی‌گرم در لیتر آلفاتوکوفرول سبب بهبود صفات جوانه‌زنی بذرهای فرسوده کنجد گردید.



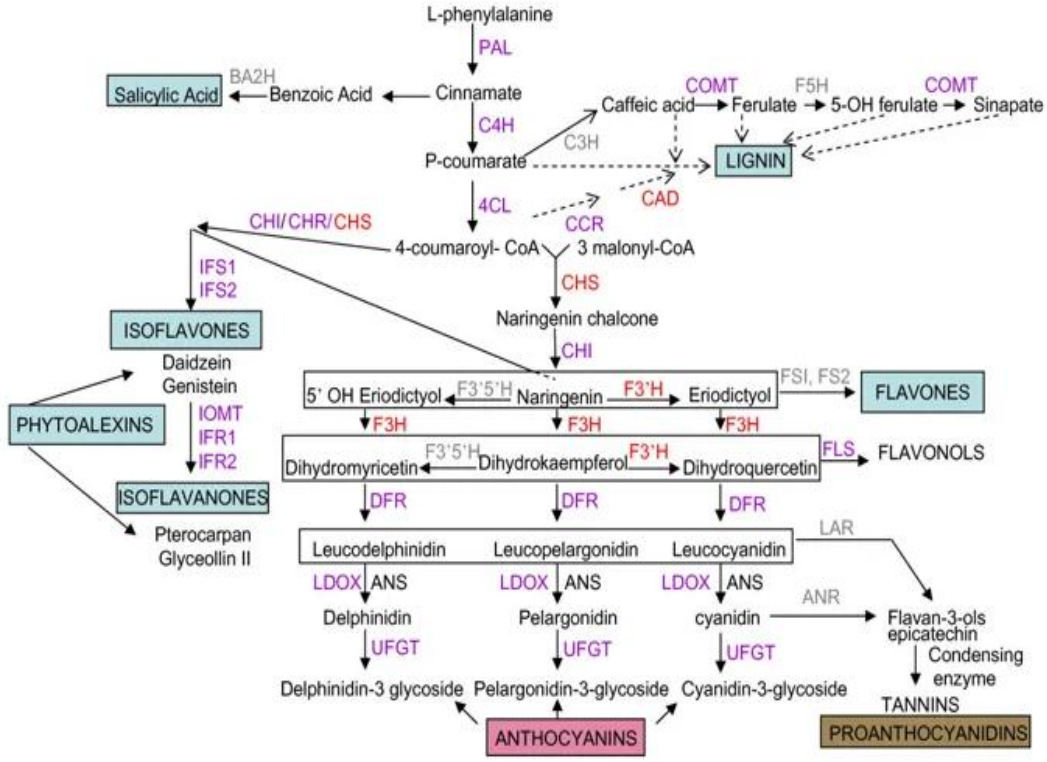
شکل ۲-۱- تنش فرسودگی بذر. دما و رطوبت بالا از جمله مهمترین عواملی هستند که منجر به تسریع واکنش‌های فرسودگی در بذر می‌گردند. از بین رفتن تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و فرآیندهای جاروب‌کردن این مولکول‌های مخرب، تخریب ماکرومولکول‌های اساسی و از بین رفتن تمامیت غشاهای سلولی از جمله مهم‌ترین رخدادها طی فرسودگی می‌باشند. بذرها به مکانیسم‌های آنزیمی و غیرآنزیمی برای کاهش اثرات فرسودگی مجهز هستند. تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و تجمع متابولیت‌های ثانویه دارای اثرات آنتی‌اکسیدان (اسمولیت‌ها) سبب تخفیف اثرات فرسودگی می‌شوند. از سوی دیگر، تکنیک‌های بهبود بذر با استفاده از متابولیت‌های ثانویه به‌صورت پیش‌تیمار بذری نیز با فعال کردن متابولیسم پیش از جوانه‌زنی در مرحله آبنوشی بذر سبب بهبود اثرات فرسودگی می‌گردد.

۲-۸ - مسیر بیوسنتزی فنیل پروپانوئید

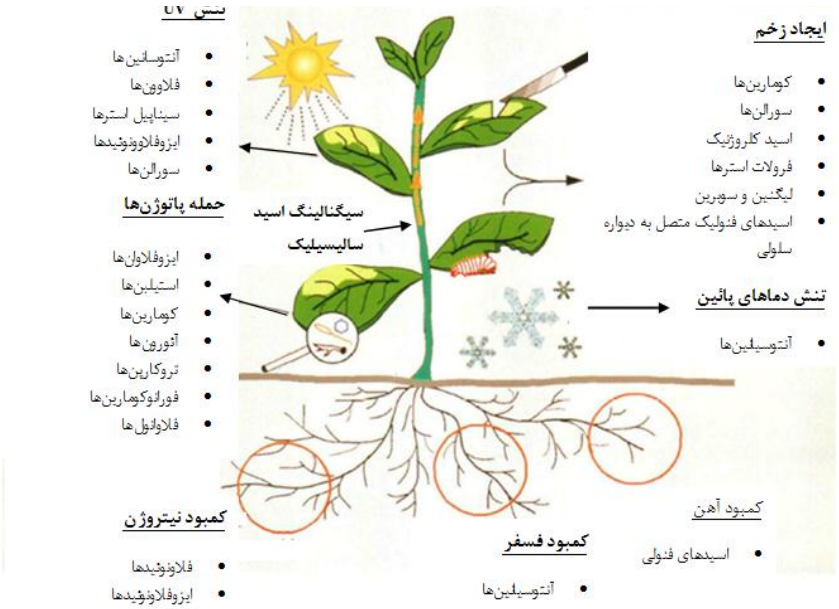
گیاهان دارای متابولیت‌های فنولی فراوان می‌باشند که در مجموع به آن‌ها فنیل پروپانوئید اطلاق می‌گردد. این ترکیبات همگی دارای یک حلقه فنیل همراه با یک زنجیره جانبی C_3 هستند و در واقع از اسکلت کربنی فنیل آلانین مشتق شده‌اند. در کنار انواع ترکیبات ساده فنولی، ترکیبات پیچیده‌تری نظیر فلاونوئیدها، استیلبن‌ها، تانن‌ها، لیگنان‌ها و لیگنین نیز جزء این گروه به‌حساب می‌آیند. فنیل پروپانوئیدها به همراه کربوکسیلیک اسیدهای دارای زنجیره‌های طویل، اجزای ساختاری سوبرین و کوتین نیز می‌باشند. همه ترکیبات فنیل پروپانوئیدی از فنیل آلانین و در برخی گیاهان از تیروزین حاصل از مسیر اسید شیکیمیک مشتق شده‌اند. این متابولیت‌های ثانویه کارکردهای مهمی در گیاهان دارند. از جمله به‌عنوان آنتی‌بیوتیک، حشره‌کش‌های طبیعی، ترکیبات سیگنالی برای همزیستی با رایزوبیوم‌ها، جذب‌کننده گرده‌افشان‌ها، ترکیبات حفاظتی در مقابل پرتوهای ماوراءبنفش، متابولیت‌های عایق که سبب نفوذناپذیری دیواره‌های سلولی در برابر گازها و آب می‌شوند، محسوب می‌گردند. همچنین در بسیاری از مکانیسم‌های دفاعی، پشتیبانی ساختاری و بقای گیاه نیز دخیل می‌باشند (شکل ۲-۱). اکثر آن‌ها نقش مهمی در دفاع گیاهان در برابر بروز انواع تنش‌های محیطی دارند. به‌طوری که با وقوع تنش‌های محیطی مقادیر داخلی آن‌ها در گونه‌های مختلف گیاهی تغییر می‌یابد (کریستی و همکاران، ۱۹۹۴). در شکل ۲-۲ نقش دفاعی تعدادی از آن‌ها در شرایط وقوع انواع تنش‌های زنده و غیرزنده نشان داده شده است.

بسیاری از فنیل پروپانوئیدهایی که در شرایط تنش تولید می‌شوند به‌عنوان فیتوالکسین‌ها[۱] طبقه بندی می‌گردند که به‌عنوان ترکیبات ضدمیکروب در پاسخ به حمله پاتوژن‌ها به گیاهان می‌باشند. اسید کلروژنیک، ایزوفلاوان‌ها و کومارین‌ها از جمله این ترکیبات هستند.

[۱] - Phytoalexins



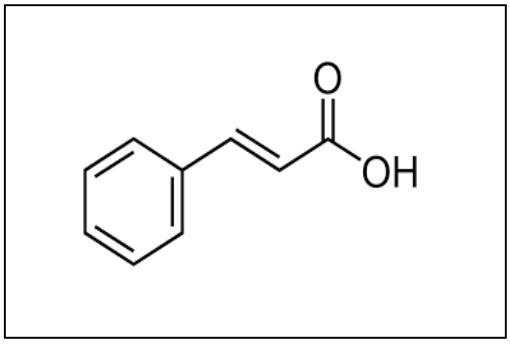
شکل ۲-۲- مسیر بیوسنتزی فنیل پروپانوئید. متابولیت‌های این مسیر همگی از اسید سینامیک مشتق می‌شوند. سطوح داخلی این ترکیبات به‌همراه اسید سینامیک در مواجهه با انواع تنش‌های محیطی تغییر می‌یابند.



شکل ۲-۳- نقش انواع مختلف متابولیت‌های فنیل پروپانوئید در شرایط مواجهه گیاه با تنش‌های زنده و غیرزنده. فنیل پروپانوئیدها در شرایط وقوع تنش‌های زنده نظیر تغذیه نشخوارکنندگان، حمله پاتوژن‌ها و آسیب های مکانیکی و نیز تنش‌های غیرزنده مانند تنش UV، تنش دماهای پایین و نیز کمبود عناصر غذایی در خاک سبب حفاظت از گیاه می‌گردند.

۲-۹- اسید سینامیک

اسید سینامیک مهم‌ترین ترکیب در مسیر بیوسنتزی فنیل پروپانوئید می‌باشد. این متابولیت از دی آمیناسیون فنیل آلانین به کمک آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز [۱] تولید می‌شود و به‌عنوان پیش‌ماده تولید سایر فنیل پروپانوئیدها محسوب می‌گردد. فرمول شیمیایی آن به‌صورت $C_9H_8O_2$ می‌باشد (شکل ۲-۴).



شکل ۲-۴- ساختار شیمیایی اسید سینامیک

مطالعه کورپا و اسماله (۲۰۱۹) نشان داد کاربرد خارجی این متابولیت ثانویه از طریق افزایش رشد سلول که به واسطه فعال کردن سیگنالینگ اکسین یا مسیرهای ناشناخته دیگری می‌باشد سبب افزایش رشد برگ می‌گردد. اسید سینامیک و مشتقات آن از جمله اسید سالیسیلیک، اسید کافئیک و اسید فرولیک به‌وفور در گیاهان یافت می‌شوند و سطوح آن‌ها اغلب در مواجهه با انواع تنش‌ها تنظیم می‌گردد (شلابی و هورویتس، ۲۰۱۴). این ترکیبات دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند و در محیط خنثی با رادیکال هیدروکسیل ($OH^{\bullet}$) واکنش می‌دهند و فرآورده‌های هیدروکسیلاسیون و دکربوکسیلاسیون تولید می‌کنند (سانتوز و ویرا، ۲۰۱۳).

مطالعه سینگ و چاتورووودی (۲۰۱۴) نشان داد پیش‌تیمار بذرهای ذرت با اسید سینامیک تیماری مفید برای محافظت از گیاه در شرایط تنش شوری می‌باشد. به طوری که غلظت ۰/۰۵ میلی مولار آن

[۱] - Phenylalanin ammonia lyase (PAL)

توانست میزان پراکسیداسیون لیپیدی در گیاهچه را کاهش دهد. همچنین، مشخص گردید این متابولیت از طریق تحریک تولید لیگنین مانع بیشتر یون های شوری به ریشه می‌گردد. یی و همکاران (۲۰۰۶) ثابت کردند اسید سینامیک یک ترکیب آللوشیمیایی بسیار قوی است که سبب بروز تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شود و از این طریق فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را تحریک می‌کند. بر این اساس، لی و همکاران (۲۰۱۱) در مطالعه تیمار برگ‌های خیار با اسید سینامیک دریافتند میزان مالون دی آلدهید در برگ‌ها دو روز پس از تیمار افزایش می‌یابد و نتیجه‌گیری کردند که اسید سینامیک به‌طور خفیف گیاه را دچار تنش می‌کند ولی این تنش بر رشد گیاه تأثیرگذار نبوده است. بلکه نوعی حافظه تنش در گیاه به‌جای گذاشته است که به گیاه در شرایط مواجهه با تنش این امکان را می‌دهد که بهترین پاسخ دفاعی به منظور حفظ بقاء خود را بروز دهد (هاریندراچمپا، ۲۰۱۵) مجموع تیمار اسید سینامیک سبب تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تخفیف اثرات تنش سرما و کاهش تجمع مالون دی‌آلدهید در برگ خیار گردید. همچنین تحقیقات دای و همکاران (۲۰۱۲) حاکی از آن بود که تیمار برگ‌های خیار با غلظت ۵۰ میکرومولار اسید سینامیک قادر به کاهش اثر بازدارندگی رشد ناشی از گرما و افزایش محتوای آنتی‌اکسیدان و تا حدی کاهش پراکسیداسیون لیپیدی می‌باشد. از بررسی‌های سان و همکاران (۲۰۱۲) روی تیمار گیاه‌چه‌های خیار با اسید سینامیک در شرایط تنش خشکی نیز نتایج مشابهی حاصل شد.

اسید فرولیک یکی از مشتقات بسیار مهم اسید سینامیک می‌باشد. مطالعه ژانگ و همکاران (۲۰۱۸)روی گیاه‌چه‌های زغال اخته که قبل از قرارگیری در شرایط تنش گرما با غلظت ۰/۶ میلی‌مولار اسید فرولیک پیش‌تیمار شده بودند، نشان داد محتوای قند محلول، پرولین و نیز فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز در این گیاه‌چه ها بالاتر بود. همچنین، این گیاه‌چه‌ها از محتوای نسبی آب بالاتر و مالون دی آلدهید کمتری برخوردار بودند.

۲-۱۰- اهمیت و نقش حبوبات در کشاورزی

حبوبات به‌عنوان یکی از مهم‌ترین منابع گیاهی غنی از پروتئین بعد از غلات به‌شمار می‌روند. این گیاهان با تثبیت زیستی نیتروژن ضمن بهبود حاصل‌خیزی خاک، به‌صورت گیاهان پوششی و یا در تناوب با بسیاری از گیاهان زراعی در جلوگیری از فرسایش خاک مؤثر هستند و نقش مهمی در پایداری نظام‌های کشاورزی ایفا می‌نمایند و نیز برای تنوع بخشی به نظام‌های کشت مبتنی بر غلات به‌عنوان محصولات ممتاز در نظر گرفته می‌شوند. علاوه بر آن، گیاهانی کم‌توقع هستند که برای کشت در نظام های زراعی کم‌نهاده مطلوب می‌باشند و در نتیجه از نظر اکولوژیکی و زیست محیطی اهمیت زیادی در جلوگیری از افزایش آلودگی مزارع دارند.

رشد جمعیت و نیز توسعه اقتصادی و اجتماعی کشور در دو دهه اخیر سبب شده تا مصرف مواد پروتئینی به‌ویژه گوشت قرمز افزایش چشمگیری یابد. بر این اساس، افزایش مواد پروتئینی به‌خصوص پروتئین‌های گیاهی که منابع ارزشمندتری در تغذیه هستند، اجتناب‌ناپذیر است. در نتیجه افزایش تولید حبوبات به‌عنوان مکمل منابع پروتئینی در برنامه‌های توسعه اقتصادی کشور نیز مورد توجه قرار گرفته است. لازم به ذکر است قاره آسیا به‌عنوان مهم‌ترین قطب تولید حبوبات در دنیا، حدود ۵۰ درصد تولید جهانی را به خود اختصاص داده است.

۲-۱۱- لوبیا چشم بلبلی

لوبیا چشم بلبلی با نام علمی *Vigna unguiculata*[۱] یکی از سازگارترین، متنوع‌ترین و مقوی‌ترین لگوم‌ها به‌شمار می‌آید. این گیاه در قرن ۱۷ میلادی توسط اسپانیایی‌ها به آمریکا برده شد و هم‌اکنون گونه *V. unguiculata* نماینده تعداد زیادی از واریته‌های لوبیا چشم بلبلی است که به‌طور گسترده کشت و کار می‌شوند. سازمان فضانوردی امریکا، این گیاه را به‌دلیل برتری‌های غذایی، تنوع، سازگاری و باروری بالا برای تحقیق و کاشت به ایستگاه‌های فضایی ارسال کرده است. قدمت کشت آن در ایران

[۱] - نام علمی قدیمی آن *Vigna sinensis* می‌باشد.

به‌طور دقیق مشخص نیست ولی چون انواع اهلی فراوانی دارد می‌توان استنباط کرد که از دوره‌های گذشته کاشت آن در کشور ما رواج داشته است. این گیاه به‌صورت لوبیا سبز، دانه خشک، سبزیجات، علوفه سبز و کود سبز مورد استفاده قرار می‌گیرد. دانه آن سرشار از عناصر غذایی شامل ۲۲ درصد پروتئین، ۱/۸ درصد چربی و ۶۰ درصد کربوهیدرات می‌باشد. همچنین منبع غنی از آهن و کلسیم است. این گیاه به‌دلیل رشد رویشی سریع و ایجاد پوشش مناسب در سطح خاک مانع فرسایش می‌شود و به‌عنوان کود سبز نیز کاربرد دارد (مجنون حسینی، ۱۳۸۷).

۲-۱۱- ۱- گیاه‌شناسی لوبیا چشم بلبلی

لوبیا چشم بلبلی گیاهی یکساله با بوته‌ای تقریباً صاف و بدون کرک به‌صورت پهن، ایستاده یا نیمه ایستاده به‌طول ۱۵ تا ۸۰ سانتی‌متر می‌باشد. طول غلاف‌ها ۱۰ تا ۳۰ سانتی‌متر و سخت و آویزان است. غلاف‌ها در اوایل رشد متورم نیستند. دانه‌ها معمولاً به طول ۶ تا ۱۰ میلی‌متر می‌باشند. سیستم ریشه ای آن توسعه‌یافته، عمودی با تجمع گره‌های تثبیت‌کننده نیتروژن می‌باشد. مقطع ساقه کمابیش چهارگوش، دارای گره‌های اغلب بنفش رنگ و گوشواره‌ها برجسته و بیضوی هستند. برگ‌ها متناوب، سه برگ‌چه‌ای و با دمبرگی به طول ۵ تا ۲۵ سانتی‌متر است که دو برگ‌چه اولیه متقابل، غیرمتقارن و برگ‌چه انتهایی غیرمتقارن، بیضوی و گاهی دارای بریدگی‌های کم‌عمق می‌باشد. گل آذین محوری و دارای چندین گل مجتمع نزدیک انتها می‌باشد. دانه‌ها از نظر اندازه، رنگ و شکل متفاوت و. لپه‌ها سفید تا سفید مایل به زرد هستند. جوانه‌زنی بذر آن نیز به‌صورت اپی‌جیل می‌باشد (مجنون حسینی، ۱۳۸۷).

این گیاه به‌دلیل داشتن فصل رشد کوتاه، گیاه مناسبی برای مناطق خشک و نیمه‌خشک محسوب می‌شود. مشابه سایر حبوبات، دمای بین ۲۱ تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد بهترین دما برای رشد و نمو آن می باشد. مقادیر بیشتر رطوبت قابل دسترس، رشد رویشی را طولانی‌تر می‌کند و گل‌دهی را به تعویق می اندازد. در اغلب حبوبات سرعت رشد در مرحله جوانه‌زنی و گیاه‌چه‌ای بسیار آهسته است. بنابراین در این گیاهان سرعت تجمع ماده خشک در این مراحل بسیار اندک است. در مراحل اولیه رشد، بنیه ضعیف گیاه‌چه به رشد آهسته سطح برگ مربوط می‌شود. بنابراین تقویت بنیه بذر در این گیاه ضروری می

باشد. نتایج بررسی‌ها در لوبیا چشم بلبلی نشان داده است که گیاهان حاصل از بذرهای درشت‌تر از سرعت جوانه‌زنی بالاتر، بنیه گیاه‌چه قوی‌تر و نسبت اندام هوایی به ریشه بیشتری برخوردارند. از سوی دیگر، بر اساس تحقیقات اعمال پرایمینگ در بذر درصد جوانه‌زنی را بهبود می‌بخشد و زمان لازم برای جوانه‌زنی را کاهش می‌دهد (پارسا و همکاران، ۱۳۸۷).

۲-۱۱-۲- تأثیر فرسودگی بذر بر رشد و عملکرد لوبیا چشم بلبلی

اگرچه مقاومت به فرسودگی بذر در ارقام مختلف لوبیا چشم بلبلی متفاوت است ولی مشخص شده است که زوال بذر در این گیاه سبب کاهش وزن تر و وزن خشک گیاه‌چه، طول گیاه‌چه، شاخص ویگور گیاه‌چه، شاخص سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه می‌گردد (شاهین و همکاران، ۲۰۱۳) که هر یک از این‌ها می‌تواند زمینه‌ساز به‌وجود آمدن یک گیاه ضعیف و حساس به شرایط سخت محیطی با عملکرد و کیفیت پایین گردد.

آدتومبی و همکاران (۲۰۱۱) نیز گزارش دادند در اثر فرسودگی بذر لوبیا چشم بلبلی، تمامی صفات مرتبط با جوانه‌زنی کاهش می‌یابند. همچنین، آن‌ها نشان دادند بذرهای این گیاه در صورتی که در دما و رطوبت پایین نگهداری شوند قادرند به‌مدت ۷ سال بدون کاهش قابلیت حیات و یا نقصان در پتانسیل عملکرد دانه باقی بمانند.

مشخص شده است که در اثر فرسودگی مقادیر هدایت الکتریکی در بذر لوبیا افزایش می‌یابد که حاکی از بروز اختلال در ساختار غشاء در شرایط زوال می‌باشد. همچنین در اثر فرسودگی، مقدار آنزیم های تحریک‌کننده ذخایر بذر (آمیلاز و فسفاتاز) و نیز آنزیم دهیدروژناز به‌عنوان فراهم آورنده انرژی لازم برای جوانه‌زنی کاهش یافت. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز در بذرهای دارای ویگور بالاتر نسبت به بذرهای زوال یافته بیشتر شد. به‌علاوه همبستگی منفی و معنی‌دار بین میزان پراکسیداسیون لیپیدی و آنزیم‌های جاروب‌کننده رادیکال‌های آزاد در بذرهای زوال‌یافته وجود داشت که بیانگر تجمع رادیکال‌های آزاد ناشی از بلوکه‌شدن آنزیم‌های جاروب کننده می‌باشد (شاهین و همکاران، ۲۰۱۳).

فصل سوم

مواد و روش‌ها

۳-۱- زمان و مشخصات محل اجرای آزمایش

این مطالعه در دو بخش بررسی بذر در آزمایشگاه و بررسی مزرعه‌ای روی گیاه لوبیا چشم بلبلی توده محلیبسطام انجام شد. بخش تحقیقات مزرعه‌ای طی سال‌های زراعی ۱۳۹۴ و ۱۳۹۵ در مزرعه تحقیقاتی و آزمایشگاه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود و بخش مطالعات بذر در سال ۱۳۹۵ در آزمایشگاه بذر دپارتمان فیزیولوژی گیاهی دانشگاه وخنینگن هلند انجام شد. مزرعه تحقیقاتی دانشگاه صنعتی شاهرود واقع در شهر بسطام (کیلومتر ۸ جاده شاهرود-آزادشهر) می‌باشد. شهر بسطام در عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۲۹ دقیقه شمالی و ۵۵ دقیقه طول شرقی واقع شده است و میانگین ارتفاع آن از سطح دریا ۱۳۶۶ متر می‌باشد. منطقه بسطام دارای اقلیم سرد و خشک است و میانگین بارندگی سالانه در این منطقه حدود ۱۵۴ میلی‌متر است و بارندگی‌ها عمدتاً در فصل پائیز و بهار رخ می‌دهند. حداقل و حداکثر دمای منطقه به‌ترتیب ۹/۶- و ۴۰ درجه سانتی‌گراد است.

۳-۲- خصوصیات خاک محل اجرای آزمایش

نتایج تجزیه فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه در عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری در جدول ۳-۱ نشان داده شده است.

پارامترهای اندازه‌گیری شده	مقدار	واحد
شن	۲۰/۱	درصد
لای	۴۹/۲	درصد
رس	۳۰/۷	درصد
کربن آلی	۰/۴	درصد
نیتروژن کل	۰/۱۰	درصد
پتاسیم قابل جذب	۲۸۰	پی‌پی‌ام
فسفر قابل جذب	۱۰	پی‌پی‌ام
روی	۱/۱	پی‌پی‌ام
هدایت الکتریکی	۱/۵	دسی‌زیمنس بر متر

جدول۳-۱- خصوصیات خاک محل آزمایش

۳-۳- مشخصات تیمارها و طرح آزمایشی

آزمایش مزرعه‌ای به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار اجرا شد. فاکتورها شامل کیفیت اولیه بذر در دو سطح (غیرفرسوده و فرسوده)، پیش‌تیمار بذر با اسید سینامیک در سه سطح (صفر، ۳۰ و ۶۰ میکرومولار) و محلول‌پاشی اسید سینامیک در سه سطح (صفر، ۳۰ و ۶۰ میکرومولار) بودند. در مجموع در هر تکرار ۱۸ ترکیب تیماری (جدول ۳-۲) وجود داشت و تعداد کل کرت‌های آزمایشی ۵۴ کرت بود (شکل ۳-۱). در بخش مطالعات بذر، آزمایش به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در ۴ تکرار اجرا گردید. فاکتورها شامل کیفیت اولیه بذر در دو سطح (غیرفرسوده و فرسوده)، پیش‌تیمار بذر با اسید سینامیک در سه سطح (صفر، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ میکرومولار) بودند (در بخش مطالعات بذر در آزمایشگاه، پیش‌تیمار بذرها با طیف وسیع‌تری از غلظت‌های اسید سینامیک انجام شد).

جدول ۳-۲- ترکیبات تیماری مورد استفاده در مطالعه مزرعه‌ای

شاهد (بذر غیرفرسوده، پیش‌تیمارشده با آب مقطر، محلول‌پاشی‌شده با آب مقطر)	$a_1b_1c_1$
بذرغیرفرسوده، پیش‌تیمارشده با آب مقطر، محلول‌پاشی‌شده با غلظت ۳۰ میکرومولار	$a_1b_1c_2$
بذرغیرفرسوده، پیش‌تیمارشده با آب مقطر، محلول‌پاشی‌شده با غلظت ۶۰ میکرومولار	$a_1b_1c_3$
بذرغیرفرسوده، پیش‌تیمارشده با غلظت ۳۰ میکرومولار، محلول‌پاشی‌شده با آب مقطر	$a_1b_2c_1$
بذرغیرفرسوده، پیش‌تیمارشده با غلظت ۳۰ میکرومولار، محلول‌پاشی‌شده با غلظت ۳۰ میکرومولار	$a_1b_2c_2$
بذرغیرفرسوده، پیش‌تیمارشده با غلظت ۳۰ میکرومولار، محلول‌پاشی‌شده با غلظت ۶۰ میکرومولار	$a_1b_2c_3$
بذرغیرفرسوده، پیش‌تیمارشده با غلظت ۶۰ میکرومولار، محلول‌پاشی‌شده با آب مقطر	$a_1b_3c_1$
بذرغیرفرسوده، پیش‌تیمارشده با غلظت ۶۰ میکرومولار، محلول‌پاشی‌شده با غلظت ۳۰ میکرومولار	$a_1b_3c_2$
بذرغیرفرسوده، پیش‌تیمارشده با غلظت ۶۰ میکرومولار، محلول‌پاشی‌شده با غلظت ۶۰ میکرومولار	$a_1b_3c_3$
بذر فرسوده، پیش‌تیمارشده با آب مقطر، محلول‌پاشی‌شده با آب مقطر	$a_2b_1c_1$
بذر فرسوده، پیش‌تیمارشده با آب مقطر، محلول‌پاشی‌شده با غلظت ۳۰ میکرومولار	$a_2b_1c_2$
بذر فرسوده، پیش‌تیمارشده با آب مقطر، محلول‌پاشی‌شده با غلظت ۶۰ میکرومولار	$a_2b_1c_3$
بذر فرسوده، پیش‌تیمارشده با غلظت ۳۰ میکرومولار، محلول‌پاشی‌شده با آب مقطر	$a_2b_2c_1$

بذر فرسوده، پیش‌تیمارشده با غلظت ۳۰ میکرومولار، محلول‌پاشی‌شده با غلظت ۳۰ میکرومولار	$a_2b_2c_2$
بذر فرسوده، پیش‌تیمارشده با غلظت ۳۰ میکرومولار، محلول‌پاشی‌شده با غلظت ۶۰ میکرومولار	$a_2b_2c_3$
بذر فرسوده، پیش‌تیمارشده با غلظت ۶۰ میکرومولار، محلول‌پاشی‌شده با آب مقطر	$a_2b_3c_1$
بذر فرسوده، پیش‌تیمارشده با غلظت ۶۰ میکرومولار، محلول‌پاشی‌شده با غلظت ۳۰ میکرومولار	$a_2b_3c_2$
بذر فرسوده، پیش‌تیمارشده با غلظت ۶۰ میکرومولار، محلول‌پاشی‌شده با غلظت ۶۰ میکرومولار	$a_2b_3c_3$

سال اول	تکرار ۱	$a_1b_2c_2$	$a_1b_2c_1$	$a_2b_2c_2$	$a_1b_2c_2$	$a_1b_2c_2$	$a_1b_2c_1$	$a_1b_2c_2$	$a_2b_2c_1$	$a_2b_2c_2$	$a_1b_2c_2$	$a_1b_2c_1$	$a_2b_2c_2$	$a_2b_2c_2$	$a_2b_2c_1$	$a_1b_2c_2$	$a_1b_2c_1$	$a_2b_2c_2$	$a_2b_2c_2$	$a_2b_2c_1$
	تکرار ۲	$a_1b_2c_2$	$a_1b_2c_2$	$a_1b_2c_1$	$a_2b_2c_1$	$a_2b_2c_2$	$a_2b_2c_2$	$a_2b_2c_2$	$a_2b_1c_2$	$a_1b_2c_2$	$a_1b_2c_2$	$a_1b_2c_2$	$a_1b_2c_2$	$a_2b_2c_2$	$a_2b_2c_2$	$a_2b_1c_1$	$a_2b_2c_1$	$a_2b_1c_1$	$a_2b_2c_1$	$a_2b_2c_2$
	تکرار ۳	$a_1b_2c_2$	$a_2b_1c_1$	$a_1b_2c_1$	$a_1b_1c_1$	$a_1b_2c_2$	$a_2b_1c_1$	$a_2b_1c_2$	$a_2b_2c_2$	$a_2b_2c_1$	$a_2b_2c_1$	$a_2b_2c_2$	$a_2b_2c_2$	$a_2b_2c_2$	$a_2b_2c_2$	$a_2b_1c_2$	$a_2b_1c_2$	$a_2b_1c_2$	$a_2b_2c_2$	$a_2b_2c_2$	$a_2b_1c_2$
سال دوم	تکرار ۱	$a_1b_2c_2$	$a_1b_2c_2$	$a_1b_2c_2$	$a_2b_1c_1$	$a_1b_1c_2$	$a_1b_1c_2$	$a_2b_2c_2$	$a_2b_1c_2$	$a_1b_2c_1$	$a_1b_2c_2$	$a_2b_2c_1$	$a_2b_2c_2$	$a_1b_1c_1$	$a_2b_2c_1$	$a_2b_2c_1$	$a_1b_2c_2$	$a_1b_2c_1$	$a_2b_2c_2$	$a_2b_2c_2$
	تکرار ۲	$a_2b_2c_1$	$a_1b_1c_1$	$a_2b_2c_2$	$a_2b_1c_1$	$a_1b_1c_2$	$a_2b_2c_2$	$a_2b_2c_2$	$a_1b_2c_2$	$a_1b_2c_2$	$a_1b_2c_1$	$a_2b_2c_1$	$a_1b_2c_1$	$a_2b_2c_1$	$a_1b_2c_1$	$a_2b_2c_2$	$a_1b_2c_1$	$a_2b_2c_2$	$a_2b_2c_1$	$a_1b_1c_2$	$a_1b_2c_2$
	تکرار ۳	$a_1b_2c_1$	$a_2b_1c_2$	$a_1b_2c_1$	$a_2b_1c_1$	$a_2b_2c_1$	$a_2b_2c_2$	$a_2b_2c_2$	$a_1b_1c_2$	$a_1b_2c_1$	$a_1b_2c_2$	$a_2b_2c_2$	$a_2b_2c_2$	$a_2b_2c_2$	$a_1b_1c_2$	$a_1b_2c_2$	$a_1b_2c_2$	$a_1b_2c_2$	$a_2b_2c_1$	$a_2b_1c_2$	$a_2b_1c_2$

شکل ۳-۱-نقشه کشت طرح آزمایشی مورد استفاده

a_1: بذر غیرفرسوده، a_2: بذر فرسوده

پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک: b_1 (صفر)، b_2 (۳۰ میکرومولار)، b_3 (۶۰ میکرومولار)

محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک: c_1 (صفر)، c_2 (۳۰ میکرومولار)، c_3 (۶۰ میکرومولار)

۴-۳-آماده‌سازی بذرها

به‌منظور فراهم آوردن بذرهای فرسوده از روش پیری تسریع شده[1] استفاده گردید. بدین منظور لازم بود بر اساس آزمون استاندارد پیری تسریع‌شده برای گونه‌های مختلف (ایستا، ۱۹۹۹)، بذرها به مدت

[1] - Accelerated aging

۷۲ ساعت در دمای ۴۱±۰/۳ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی[۱] اشباع قرار گیرند. به‌منظور تعیین مناسب‌ترین دما و رطوبت، پیش از شروع مطالعه در یک آزمایش ابتدایی دمای لازم برای فرسوده شدن بذرهای در دسترس در این مطالعه مشخص گردید. بر این اساس، ابتدا دمای اتاقک رشد و نیز درصد رطوبت با قراردادن دسیکاتوری که درون آن یک دستگاه رطوبت و دماسنج متصل به نرم‌افزار قرار داشت تا رسیدن به شرایط پایدار مورد نظر به مدت ۲۴ ساعت پایش گردید. بذرها درون دسیکاتور به مدت ۷۲ ساعت درون اتاقک رشد قرار گرفتند. در دمای ۴۱ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نزدیک اشباع افتی در درصد جوانه‌زنی بذرها رخ نداد. لذا دما به اندازه یک درجه سانتی‌گراد بالاتر در نظر گرفته شد. در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد نیز افتی معادل تنها ۳ درصد در مقایسه با بذرهای شاهد مشاهده گردید. اینطور نتیجه‌گیری شد که در این شرایط بذرها فرسوده نشده‌اند. اما با اعمال دمای ۴۳ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی نزدیک اشباع درصد جوانه‌زنی در مقایسه با شاهد (جوانه‌زنی ۱۰۰ درصد) به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت. با افزایش دما تا حد ۴۴ و ۴۵ درجه، بذرها قابلیت حیات خود را از دست دادند. در نتیجه شرایط مناسب برای اعمال تیمار پیری در بذرهای مورد مطالعه، دمای ۴۳ درجه سانتی گراد و رطوبت نزدیک به اشباع در نظر گرفته شد. سپس هر دو گروه بذرهای فرسوده و غیرفرسوده برای انجام آزمون جوانه‌زنی استاندارد (ISTA, ۲۰۱۲) و بنیه بذر با طیف وسیع‌تری از غلظت‌های اسید سینامیک (با خلوص آنالیتیکال ۹۷٪) شامل پنج غلظت صفر، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ میکرومولار به مدت ۶ ساعت پیش‌تیمار شدند. در خلال انجام پیش‌تیمار بذرها هوادهی شدند.

۳-۵- بررسی بذر در بخش آزمایشگاهی

۳-۵-۱- صفات مرتبط با جوانه‌زنی

هر دو گروه بذرهای فرسوده و غیرفرسوده برای انجام آزمون جوانه‌زنی استاندارد (ایستا، ۲۰۱۲) و بنیه بذر با طیف وسیع‌تری از غلظت‌های اسید سینامیک از شرکت مرک آلمان (با خلوص آنالیتیکال

[۱] -Relative humidity

٪۹۷) شامل پنج غلظت صفر، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ میکرومولار به مدت ۶ ساعت در دمای اتاق پیش‌تیمار شدند. جهت انجام آزمون جوانه‌زنی دمای ژرمیناتور روی ۲۵ درجه سانتی گراد تنظیم گردید. تعداد ۲۵ بذر برای هر ترکیب تیماری در ۴ تکرار در نظر گرفته شد. صفات مربوط به جوانه‌زنی با استفاده از ماژولcurve-fitting در نرم‌افزار GERMINATOR (ژوسن، ۲۰۱۰) محاسبه گردید. بخش سخت‌افزاری این نرم افزار شامل یک دوربین (Nikon D۸۰) متصل به کامپیوتر (مایکروسافت آفیس ۲۰۰۳ و مایکروسافت ویندوز xp) می‌باشد. همچنین از سینی‌های جوانه‌زنی با ابعاد ۱۵×۲۱ سانتی‌متر دارای کاغذ صافی با ابعاد ۱۴/۲×۲۰/۳ سانتی‌متر استفاده شد. در این پکیج، شمارش خودکار بذرهای جوانه زده بر اساس تباین رنگی بین ریشه‌چه و پوسته بذر با قراردادن سینی‌های کاشت زیر دوربین متصل به کامپیوتر انجام می‌شود. شمارش بذرهای جوانه زده سه بار در روز طی دوره جوانه‌زنی انجام شد. روز چهارم به عنوان آخرین روز جوانه‌زنی در نظر گرفته شد. برای محاسبه شاخص بنیه بذر (اگراوال، ۲۰۰۳) از فرمول زیر استفاده گردید:

$$VI= LS*MaxG \qquad \text{(رابطه ۱)}$$

که در آنLS میانگین طول گیاه‌چه (طول ریشه‌چه+طول ساقه‌چه (میلی‌متر) و MaxG درصد جوانه زنی می‌باشد.

۳-۵-۲- بررسی رشد هتروتروفیک و میزان ذخایر منتقل شده طی جوانه زنی بذر

میزان ذخایر منتقل‌شده، کسر ذخایر متحرک شده و رشد هتروتروفیک بذر با استفاده از وزن خشک اولیه و نهایی ۲۵ بذر برای هر ترکیب تیماری و نیز وزن خشک گیاه‌چه‌های حاصل از این بذرها برای هر ترکیب تیماری و کاربرد روابط ۳-۲ تا ۳-۴ بررسی گردید (سلطانی و همکاران، ۱۳۸۷).

رابطه (۳-۲) وزن خشک باقی‌مانده بذر - وزن خشک اولیه بذر = مقدار استفاده از ذخایر بذر

رابطه (۳-۳) مقدار استفاده از ذخایر بذر / وزن خشک گیاه‌چه = کارایی استفاده از ذخایر بذر

رابطه (۳-۴) وزن خشک اولیه بذر / کارایی استفاده از ذخایر بذر = کسر ذخایر مصرف شده بذر

۳-۵-۳- نشت الکترولیت‌ها

جهت ارزیابی میزان نشت الکترولیت‌ها از بذر از آزمون هدایت الکتریکی استفاده شد. قبل از شروع آزمایش وبه‌منظور هم‌دمایی، حجم آب مقطر مورد نیاز ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. برای انجام آزمون هدایت الکتریکی از هر تیمار تعداد ۵۰ بذر توزین گردید و در بشرهای ۵۰۰ میلی‌لیتری قرار داده شد. سپس ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن‌ها اضافه گردید. درب بشرها با فویل پوشانده و برای ۲۴ ساعت در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد داخل انکوباتور قرار داده شد. سپس میزان هدایت الکتریکی با دستگاه هدایت‌سنج (یومو ۰۴، ساخت کشور هلند) اندازه‌گیری و نتایج بر حسب میکروزیمنس بر گرم بر سانتی‌متر محاسبه گردید (همپتون و تکرونی، ۱۹۹۵).

۳-۵-۴- استخراج و سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

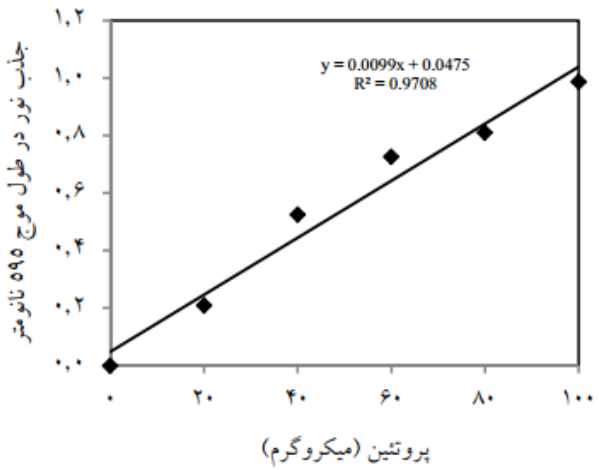
۳-۵-۴-۱- سنجش محتوای پروتئین محلول

برای استخراج پروتئین محلول از روش بردفورد (۱۹۷۶) مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم بافت بذری با ۲ میلی‌لیتر بافر استخراج شامل تریس ۰/۱، کلرید پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار، سولفات منیزیوم ۱ میلی‌مولار، EDTA ۱ میلی‌مولار و پلی‌وینیل پلی‌پیرولیدین ۱ درصد روی یخ هموژن گردید. هموژن حاصل پس از عبور از پارچه ململ به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد در ۱۲۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. از فاز بالایی برای اندازه‌گیری پروتئین محلول استفاده گردید. برای آماده‌سازی محلول بردفورد، ۱۰۰ میلی‌گرم کوماسی برلیانت بلو G-۲۵۰ در ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد حل شد. سپس ۱۰۰ میلی لیتر اسید فسفریک ۸۵ درصد به آن اضافه گردید و حجم نهایی محلول به ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. محلول حاصل پس از عبور از کاغذ صافی تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

برای اندازه‌گیری پروتئین محلول، به ۱۰ میکرولیتر از عصاره پروتئینی ۹۰ میکرولیتر آب مقطر اضافه شد و سپس ۵ میلی‌لیتر معرف بردفورد افزوده و برای ۲ دقیقه ورتکس گردید. پس از ۲۰ دقیقه

میزان جذب نور در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت شد و با استفاده از نمودار استاندارد پروتئین محتوای پروتئین تیمارها برآورد گردید.

برای تهیه منحنی استاندارد پروتئین محلول از محلول سرم آلبومین گاوی با غلظت ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر آب مقطر استفاده شد. به لوله‌های آزمایش مقادیر ۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکرولیتر از محلول پایه سرم آلبومین که به ترتیب حاوی ۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکروگرم آلبومین بود، اضافه گردید و حجم آن با آب مقطر به ۱۰۰ میکرولیتر رسانده شد. از روی مقادیر مختلف جذب به دست آمده در طول موج ۵۹۵ نانومتر به ازای مقادیر مختلف پروتئین منحنی استاندارد رسم گردید (شکل ۳-۲).



شکل ۳-۲ -منحنی استاندارد پروتئین محلول

۳-۵-۴-۲- سوپراکسید دیسموتاز (EC ۱,۱۵,۱,۱)

سنجش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز بر اساس احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم طبق روش مینامی و یوشیکاوا (۱۹۷۹) با اندکی تغییرات انجام شد. بدین‌منظور، از ۰/۵گرم بافت بذری به کمک ۵ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم با اسیدیته ۷ حاوی EDTA ۰/۵ میلی‌مولار، عصاره آنزیمی روی یخ استخراج گردید. هموژن حاصل پس از عبور از پارچه ململ در دمای ۴ درجه به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۵۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. فاز بالایی برای سنجش فعالیت آنزیم استفاده گردید. مخلوط واکنش شامل نیتروبلوتترازولیوم ۵۵ میلی‌مولار، تریتون X-۱۰۰ ۱/۴۲ درصد، EDTA ۱۰۰ میکرومولار، پیروگالول ۱۶

میلی‌مولار، ریبوفلاوین ۶۰ میکرومولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. با قرار دادن لوله‌های آزمایش زیر لامپ فلورسنت واکنش آغاز شد. پس از ۱۵ دقیقه از شروع واکنش، لامپ خاموش گردید و با قرار دادن لوله‌های آزمایش در تاریکی مطلق واکنش متوقف شد. از کمپلکس واکنشی بدون آنزیم که به مدت ۱۵ دقیقه در نور قرار گرفته بود، برای ارزیابی توان تولید کمپلکس سوپراکسید نیتروبلوتترازولیوم و نیز به‌عنوان معیار سنجش فعالیت آنزیمی استفاده شد. همچنین از کمپلکس واکنشی دیگری که از ابتدا در تاریکی مطلق قرار داشت به‌عنوان بلانک استفاده گردید. میزان جذب نوری نمونه ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت شد.

۳-۵-۴-۳- کاتالاز (EC ۱,۱۱,۱,۶)

مقدار ۰/۵گرم از بافت بذری با ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج فسفات منوسدیک (HNa_2PO_4) ۱۰۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۷/۵ حاوی ترایتون X-۱۰۰ با غلظت ۰/۱ درصد روی یخ هموژن شد و پس از عبور از پارچه ململ به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد و از فاز بالایی برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز استفاده گردید. مقدار ۳ میلی‌لیتر مخلوط واکنش محتوی ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۱۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۴۵۰ میلی‌مولار و ۲۸۵۰ میکرولیتر بافر سدیم فسفات ۵۴ میلی‌مولار با اسیدیته ۶/۸ استفاده شد. محلول بلانک به جای پراکسید هیدروژن حاوی ۱۰۰ میکرولیتر بافر سدیم فسفات بیشتر بود. تغییرات جذب نور در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت ۲ دقیقه اندازه‌گیری و از یک دقیقه آن و ضریب خاموشی $۳۹/۴\ mM^{-۱}cm^{-۱}$ برای محاسبه فعالیت آنزیم کاتالاز استفاده گردید (چنس و ماهلی، ۱۹۹۵).

۳-۵-۴-۴- آسکوربات پراکسیداز (EC ۱,۱۱,۱,۱۱)

برای استخراج عصاره آنزیمی، مقدار ۰/۳گرم از بافت بذری با ۲ میلی‌لیتر بافر استخراج پایه منوسدیک فسفات ۲۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۷ روی یخ هموژن گردید. عصاره حاصل پس از عبور از پارچه ململ به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در ۱۵۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. از فاز

بالایی برای سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز استفاده گردید. یک میلی‌لیتر مخلوط واکنش حاوی ۲۵ میکرولیتر اسید آسکوربیک (مقدار ۰/۱۰۵ گرم آسکوربات با آب مقطر به حجم ۳۰ میلی‌لیتر رسانده شد)، ۲۵ میکرولیتر EDTA (۰/۱۴۹ گرم EDTA با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد)، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۵۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن (مقدار ۱۰۴ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۳۵ درصد با آب مقطر به حجم نهایی ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد) و ۸۰۰ میکرولیتر بافر سدیم فسفات ۳۱۲/۵ میلی‌مولار با اسیدیته ۷ بود. محلول بلانک به جای پراکسید هیدروژن حاوی ۵۰ میکرولیتر بافر سدیم فسفات بیشتر بود. تغییرات جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت ۳ دقیقه قرائت شد و از یک دقیقه آن و نیز ضریب خاموشی $۲/۸\ mM^{-۱}cm^{-۱}$ برای محاسبه فعالیت آنزیم استفاده گردید (ناکانو و آسادا، ۱۹۸۱).

۳-۵-۴-۵- پراکسیداز (EC ۱,۱۱,۱,۷)

برای استخراج عصاره آنزیمی، مقدار ۱/۵ گرم از بافت بذری با ۴ میلی‌لیتر از بافر استخراج پایه مونوسدیک فسفات ۲۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۷ روی یخ هموژن گردید. پس از عبور عصاره از پارچه ململ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. از فاز بالایی برای سنجش فعالیت آنزیم استفاده شد. ۳ میلی‌لیتر مخلوط واکنش شامل ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول (مقدار ۰/۳۲۶ گرم گایاکول در ۱۶۷۴ میکرولیتر متانول حل و با آب مقطر به حجم نهایی ۵ میلی‌لیتر رسانده شد)، ۱۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن، ۲۶۰۰ میکرولیتر بافر سدیم فسفات و ۲۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. محلول بلانک به جای پراکسید هیدروژن حاوی ۱۰۰ میکرولیتر بافر سدیم فسفات ۲۸ میلی مولار با اسیدیته ۶/۸ بود. تغییرات جذب نور در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ۴ دقیقه اندازه‌گیری و از یک دقیقه آن و نیز ضریب خاموشی $۶/۲۶\ mM^{-۱}cm^{-۱}$ برای سنجش فعالیت آنزیم استفاده گردید (چنس و ماهلی، ۱۹۹۵).

۳-۵-۴-۶- گلوتاتیون رداکتاز (EC ۱,۸,۱,۷)

به‌منظور استخراج عصاره آنزیمی، ۰/۲ گرم از بافت بذر در ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار با اسیدیته ۷ حاوی EDTA ۱ میلی‌مولار و پلی وینیل فسفات ۰/۲ میلی‌مولار روی یخ هموژن شد. سپس به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در ۱۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید. فاز بالایی برای سنجش فعالیت آنزیم مورد استفاده قرار گرفت. مخلوط واکنش شامل فسفات پتاسیم ۲۰۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۷/۵، EDTA ۲ میلی‌مولار، کلرور منیزیوم ۱/۵ میلی‌مولار، گلوتاتیون اکسید (GSSG) ۰/۵ میلی‌مولار، NADH ۵۰ میکرومولار و عصاره آنزیمی بود. میزان کاهش جذب در طول موج ۳۴۰ نانومتر به مدت ۱۲۰ ثانیه قرائت شد. میزان NADPH مصرف شده با استفاده از ضریب خاموشی $۶/۲۲\ mM^{-۱}cm^{-۱}$ محاسبه گردید (آرورا و همکاران، ۲۰۰۲).

۳-۵-۵- تعیین میزان پراکسیداسیون لیپیدی

میزان پراکسیداسیون لیپیدی به روش دوو و براملی (۱۹۹۲) با اندکی تغییرات اندازه‌گیری شد. برای این منظور، ۰/۲۵ گرم بافت بذری با تری کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد هموژن گردید. هموژن حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. از فاز بالایی برای سنجش میزان پراکسیداسیون استفاده گردید. به ۲۵۰ میکرولیتر از این عصاره ۲ میلی‌لیتر معرف تیوباربیوتیک اسید (TBA) ۰/۲۵ درصد اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم قرار گرفت. سپس بلافاصله نمونه‌ها برای ۱۵ دقیقه در یک ظرف یخ قرار گرفتند. نمونه‌ها دوباره به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند. میزان جذب نمونه‌ها در طول موج‌های ۴۴۰، ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر قرائت شد. محلول بلانک حاوی ۲۵۰ میکرولیتر تری کلرواستیک ۰/۱ درصد و ۲ میلی‌لیتر تیوباربیوتیک اسید ۰/۲۵ درصد بود. میزان پراکسیداسیون لیپیدها بر اساس مقدار مالون دی آلدهید (MDA) موجود در عصاره طبق رابطه ۳-۵ محاسبه گردید.

رابطه (۳-۵) $LP(nmol.ml^{-1}) = [[(A۵۳۲-A۶۰۰)-[(A۴۴۰\times A۶۰۰)(MA)]]/۱۵۵۰۰۰] \times ۱۰$

که در این رابطه LP مقدار مالون دی آلدهید بر حسب نانومول بر میلی‌لیتر و MA جذب مولی ساکارز در غلظت‌های ۱ تا ۱۰ میلی‌مولار در ۵۳۲ و ۴۴۰ نانومتر است که به ترتیب ۸/۴ و ۱۴۷ محاسبه گردید و نسبتی معادل ۰/۰۵۷۱ داشت (دوو و براملگ، ۱۹۹۲). در نهایت میزان پراکسیداسیون لیپدی بر اساس نانومول MDA موجود به ازای هر گرم بذر بیان گردید.

۳-۵-۶- مکان‌یابی مولکول‌های ROS در جنین بذر به روش هیستوکیمیکال[۱]

۳-۵-۶-۱- مکان‌یابی مولکول‌های پراکسید هیدروژن در جنین

بذرها پس از پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک درون لوله‌های آزمایش قرار داده شدند و به آن‌ها ۱۰ میلی‌لیتر دی‌آمینوبنزیدین[۲] اضافه گردید. لوله‌ها درون فویل آلومینیوم پیچیده شدند و به مدت ۸ ساعت در دمای اتاق نگهداری شدند. سپس با آب مقطر شسته شدند و به حوله کاغذی که از قبل کاملاً به گلیسرول ۶۰ درصد در حد اشباع آغشته شده بود، منتقل گردیدند. جنین بذرها به دقت خارج شد و زیر میکروسکوپ متصل به دوربین قرار گرفت و عکسبرداری انجام شد. محل های تجمع پراکسید هیدروژن به‌صورت رنگ قهوه‌ای مایل به قرمز مشخص می‌گردد که حاصل واکنش دی‌آمینوبنزیدین با مقادیر داخلی پراکسید هیدروژن می‌باشد (کومار و همکاران، ۲۰۱۴).

۳-۵-۶-۲- مکان‌یابی رادیکال آزاد $O_2^{\cdot-}$ در جنین

بذرها پس از پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک درون لوله‌های آزمایش قرار گرفتند و به آن‌ها ۱۰ میلی‌لیتر نیتروبلوتترازولیوم[۳] اضافه شد. سایر مراحل نظیر آنچه برای ردیابی پراکسید

---

[۱] - Histochemical detection
[۲] - Diaminobenzidine
[۳]- Nitroblue tetrazolium

هیدروژن ذکر گردید، انجام شد. محل‌های تجمع رادیکال آزاد $O_2^{\cdot-}$ به‌صورت رنگ آبی تیره حاصل از واکنش این رادیکال با فورمازان مشخص بود (کومار و همکاران، ۲۰۱۴).

۳-۶- بخش مزرعه‌ای

۳-۶-۱-آماده‌سازی بستر و عملیات کاشت

زمین در سال قبل به‌صورت آیش نگهداری شده بود. آماده‌سازی با استفاده از دیسک صورت گرفت. بذر لوبیا چشم بلبلی مورد کاشت توده محلی بسطامی بود. عملیات کاشت درسال اول در تاریخ ۷ تیرماه ۱۳۹۴ و در سال دوم در تاریخ ۱۱ تیرماه ۱۳۹۵ با دست و در عمق ۵-۳ سانتی‌متری انجام شد. تراکم بوته ۲۰ بوته در مترمربع در نظر گرفته شد. در هرکرت آزمایشی ۴ خط کاشت به طول ۱۰ متر با فاصله ردیف ۵۰ سانتی‌متر و فاصله روی ردیف ۱۰ سانتی‌متر قرار داشت. دو خط کناری به‌عنوان حاشیه درنظرگرفته شد و از دو خط میانی برای انجام نمونه‌برداری استفاده گردید.

۳-۶-۲- عملیات داشت

آبیاری به‌صورت جوی و پشته‌ای هر ۷ روز یک‌بار انجام شد. مقادیر آب مصرفی برای تمام تیمارها تقریباً یکسان بود. پس از استقرار بوته‌ها اقدام به تنک‌کردن بوته‌های اضافی گردید. طی دوره رشد، ۳ بار وجین علف‌های هرز به‌صورت دستی انجام گرفت.

۳-۶-۳- اعمال تیمارها

فرسوده کردن بذور و پیش‌تیمار آن‌ها با غلظت‌های مورد نظر اسید سینامیک مطابق آن‌چه در بخش آماده‌سازی بذرها (بخش ۳-۴) ذکر گردید، پیش از کاشت انجام شد. محلول‌پاشی اسید سینامیک با غلظت‌های مورد مطالعه نیز طی یک مرحله قبل از گلدهی (۷۸ روز پس از کاشت)، هنگام غروب و در هوای ملایم انجام شد.

۳-۶-۴- عملیات برداشت

عملیات برداشت در سال اول ۱۰۰ روز پس از کاشت و در سال دوم ۱۰۳ روز پس از کاشت و در مرحله رسیدگی فیزیولوژیک با برداشت ۵ نمونه تصادفی از هر کرت آزمایشی انجام شد.

۳-۶-۵- نمونه‌برداری برگ برای بررسی صفات فیزیولوژیک

از ۱۴ روز پس از محلول‌پاشی، نمونه‌برداری برگی از برگ‌های کاملاً توسعه‌یافته و هم‌سن برای سنجش صفات فیزیولوژیک آغاز شد. در هر نمونه‌برداری برگ‌ها بلافاصله جهت اندازه‌گیری صفات روی یخ به آزمایشگاه منتقل و در یخچال نگهداری می‌شدند. در صورت نیاز برای صفات خاص نمونه‌ها بلافاصله پس از نمونه‌برداری در نیتروژن مایع فریز و تا زمان سنجش صفات در فریزر نگهداری شدند.

۳-۶-۶- اندازه‌گیری صفات مورفولوژیک و زراعی

برداشت پنج بوته از هر کرت آزمایشی در زمان رسیدگی فیزیولوژیک برای بررسی عملکرد، اجزای عملکرد (شامل تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف و وزن هزاردانه)، تجمع ماده خشک، ارتفاع بوته و تعداد شاخه فرعی انجام گرفت. ارتفاع بوته‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه با خط‌کش اندازه‌گیری و بر حسب سانتی‌متر ثبت گردید. بعد از شمارش تعداد شاخه‌فرعی، برای بررسی میزان تجمع ماده خشک در اندام‌های مختلف بوته‌ها به برگ، ساقه و غلاف تقسیم شدند و سپس به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. نمونه‌ها در پایان با ترازو با دقت ۰/۰۱توزین و اعداد بر حسب گرم در مترمربع محاسبه و ثبت گردیدند.

۳-۶ -۷- استخراج و سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

۳-۶-۷-۱- سنجش محتوای پروتئین محلول

سنجش محتوای پروتئین محلول در نمونه‌های برگ با استفاده از روش بردفورد (۱۹۷۶) که پیش تر در بخش ۳-۵-۴-۱ توضیح داده شد، صورت گرفت.

۳-۶-۷-۲- سوپراکسید دیسموتاز (EC ۱,۱۵,۱,۱)

فعالیت این آنزیم با استفاده از روش مینامی ویوشیکاوا (۱۹۷۹) مشابه بخش آزمایشگاهی (بخش ۳-۵-۴-۲) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

۳-۶ -۷-۳- کاتالاز (EC ۱,۱۱,۱,۶)

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز به روش ابی (۱۹۸۴) انجام پذیرفت. به این منظور، به ۰/۵ گرم از بافت برگ ۲ میلی لیتر بافر استخراج فسفات سدیم ۱۰۰ میلی مولار حاوی ۲ درصد پلی وینیل پلی پیرولیدن و ۱/۳ میلی مولار EDTA افزوده شد و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. از مایع رویی به عنوان عصاره آنزیمی استفاده شد. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (۷= pH) شامل ۰/۲ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن ۱ درصد و ۰/۳ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی بود. فعالیت آنزیم به‌صورت کاهش در جذب طی ۱ دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. برای سنجش فعالیت کاتالاز از ضریب خاموشی $۰/۰۴۳\ mM^{-۱}\ cm^{-۱}$ استفاده شد.

۳-۶-۷ -۴- آسکوربات پراکسیداز (EC ۱,۱۱,۱,۱۱)

برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز از روش آسادا و تاکاهاشی (۱۹۸۷) استفاده شد. به ۰/۱ گرم بافت برگ ۱ میلی‌لیتر بافر ۱۰۰ میلی‌مولار فسفات پتاسیم (pH=۷) حاوی ۲ میلی‌مولار EDTA و ۱ میلی‌مولار آسکوربات و ۱ درصد ترایتون X-۱۰۰ اضافه گردید. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۵۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید. از محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیم استفاده شد. ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۰/۰۵ مولار با (pH =۶/۵) با ۲ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن ۳ درصد و ۲ میلی‌لیتر آسکوربات ۵ میکرومول روی یخ مخلوط شده، بلافاصله ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی برگ اضافه و منحنی تغییرات جذب در ۲۵۶ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر به مدت ۲ دقیقه و با فواصل ۱۰ ثانیه بررسی شد. واحد آنزیمی به‌صورت حجم مورد نیاز از آنزیم جهت هیدرولیز ۱ میلی‌مول از عصاره در یک دقیقه و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تعریف شد. سپس فعالیت آنزیم بر حسب واحد

در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین و با استفاده از ضریب خاموشی $Mm^{-1}\ cm^{-1}$ ۲/۸ محاسبه گردید.

۳-۶-۷-۵- پراکسیداز (EC ۱,۱۱,۱,۷)

فعالیت آنزیم پراکسیداز بر اساس روش هالی (۱۹۷۲) اندازه‌گیری شد. بدین منظور، ابتدا ۰/۵ گرم از بافت برگ با ۲ میلی‌لیتر بافر منوسدیک فسفات ۲۵۰ میلی‌مولار (pH=۷) ۲ روی یخ هموژن و سپس در ۱۵۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. از مایع رویی برای سنجش فعالیت آنزیم استفاده شد. ۲ میلی‌لیتر تامپون استات ۰/۲ مولار (pH=۵) ، ۰/۲ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن ۰/۳ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر بنزیدین ۰/۰۲ مولار در متانول ۵۰ درصد روی یخ مخلوط شدند. سپس ۰/۱ میلی لیتر از عصاره آنزیمی برگ به این مخلوط واکنش اضافه شد، منحنی جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در دمای اتاق، هر ۳۰ ثانیه به مدت ۳ دقیقه در طول موج ۵۳۰ نانومتر رسم شد. واحد آنزیم به ازای $\mu M.ml^{-1}$ پراکسید هیدروژن تجزیه شده در هر دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تعریف شد و با کمک منحنی استاندارد فعالیت آنزیم برحسب تغییرات واحد آنزیم در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد. برای سنجش فعالیت پراکسیداز از ضریب خاموشی $Mm^{-1}\ cm^{-1}$ ۶/۲۶ استفاده شد.

۳-۶-۷-۶- گلوتاتیون رداکتاز (EC ۱,۸,۱,۷)

بررسی فعالیت این آنزیم به روش آرورا و همکاران (۲۰۰۲) مشابه بخش آزمایشگاهی انجام گرفت.

۳-۶-۸- سنجش میزان پرولین

برای سنجش پرولین از روش بیتس (۱۹۷۳) استفاده گردید. ابتدا ۰/۲ گرم ماده تر گیاهی در هاون خرد شد و سپس با ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳٪ مخلوط گردید و به مدت ۱۲ دقیقه در

g×۱۵۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. ۲ میلی‌لیتر از محلول رویی با ۲ میلی‌لیتر ناین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال مخلوط شد. نمونه‌ها پس از قرارگیری در حمام آب گرم ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت درون یخ سرد شدند. میزان ۴ میلی‌لیتر تولوئن به نمونه‌ها اضافه و با ورتکس به مدت ۲۰ ثانیه هم زده شد. پس از اندازه‌گیری جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر، منحنی استاندارد با استفاده از غلظت‌های مختلف پرولین رسم و معادله خط تعیین شد.

۳-۶-۹- سنجش میزان اسیدهای آمینه آزاد

محتوای آمینواسیدهای آزاد با روش رنگ سنجی و استفاده از معرف نین‌هیدرین اندازه‌گیری شد. ۰/۲ گرم بافت تازه گیاهی در ۵ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات سرد ۵۰ میلی‌مولار (pH =۶/۸) سائیده شد. هموژن حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در g ×۱۲۰۰۰ سانتریفوژ گردید. از محلول رویی برای سنجش آمینواسیدهای آزاد استفاده شد (هاردینگ و مک لین، ۱۹۱۶).

برای تهیه معرف نین‌هیدرین مقدار ۰/۳۵ گرم نین‌هیدرین در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول حل و به عنوان معرف در این سنجش استفاده گردید. ۱ میلی‌لیتر از معرف نین‌هیدرین به ۵ میلی‌لیتر نمونه افزوده شد. درب لوله‌ها بسته شد و به مدت ۴ تا ۷ دقیقه در دمای ۱۰۰-۸۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. مخلوط واکنش طی مدتی که در حرارت قرار داشت با استفاده از هم‌زن هم زده شد. پس از سرد شدن در دمای اتاق، جذب نمونه‌ها در ۵۷۰ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه مقدار آمینواسیدهای آزاد از منحنی استاندارد گلیسین استفاده گردید (ادرر و هوانگ، ۱۹۷۵). منحنی استاندارد با استفاده از غلظت‌های ۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر گلیسین تهیه شد. بقیه مراحل مطابق نمونه‌ها انجام و جذب در ۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. منحنی جذب بر حسب غلظت رسم و معادله خط آن محاسبه گردید.

۳-۶-۱۰- سنجش میزان مالون دی آلدهید

برای بررسی میزان پراکسیداسیون لیپیدی، محتوای مالون دی آلدهید نظیر بررسی آن در بذر از روش دوو و براملی (۱۹۹۲) اندازه‌گیری شد.

۳-۶-۱۱- سنجش محتوای کلروفیل و کاروتنوئید

به‌منظور اندازه‌گیری کلروفیل برگ، یک هفته پس از محلول‌پاشی به‌طور تصادفی از چند گیاه در هر کرت، از برگ‌های همسن جوان و کاملا توسعه یافته نمونه‌برداری انجام شد. جهت ارزیابی غلظت کلروفیل برگ از روش بدون لهیدگی استفاده شد.۰/۰۱ گرم از بافت برگ توزین و به قطعات کوچک خرد شد. به نمونه‌ها ۶ میلی‌لیتر دی متیل سولفوکساید اضافه شد. محلول حاصل به مدت ۴ ساعت درون حمام آبگرم با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. نمونه‌ها از حمام آبگرم خارج شدند و پس از سرد شدن میزان جذب آن‌ها در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شد (هیسوکس و ایسرائلستم، ۱۹۷۹). سپس با استفاده از روابط ۳-۶ تا ۳-۹ میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و میزان کاروتنوئید محاسبه گردید

$$Chl\ a\ (\mu g/ml) = (۱۲/۲۵\ A\ ۶۶۳\ ) – (۲/۵۵\ A\ ۶۴۵)$$ رابطه (۳-۶)

$$Chl\ b\ (\mu g/ml) = (۲۰/۳۱\ A\ ۶۴۵) – (۴/۹۱\ A\ ۶۶۳)$$ رابطه (۳-۷)

$$Chl\ T = chl\ a + chl\ b$$ رابطه (۳-۸)

$$Car\ (\mu g/ml) = (۱۰۰۰\ A\ ۴۷۰ – ۱/۹۰\ Chla – ۶۳/۱۴\ Chlb)/۲۱۴$$ رابطه (۳-۹)

پس از جایگزین کردن داده‌ها در روابط بالا اعداد به‌دست آمده در۱۰۰۰× V/ W ضرب گردید تا اعداد برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر به‌دست آیند. V حجم محلول کلروفیلی بر حسب میلی‌لیتر و W وزن نمونه تر برگ بر حسب گرم می‌باشد.

۳-۶-۱۲- سنجش محتوای آنتوسیانین برگ

برای سنجش میزان آنتوسیانین کل از روش کرزک و همکاران (۱۹۹۳) استفاده شد. مقدار ۰/۰۲ گرم از بافت تازه برگ با ۳ میلی‌لیتر متانول اسیدی شامل متانول و اسید کلریدریک به نسبت ۹۹ به ۱

هموژن شد. هموژن حاصل به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۶ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. جذب عصاره حاصل پس از ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ در ۴۰۰۰ دور در دو طول موج ۵۳۰ و ۶۵۷ نانومتر قرائت گردید.

$$A = ۵۳۰A - (۰/۲۵A \times ۶۵)$$ (رابطه ۳-۱۰)

که در آن A معادل میزان جذب عصاره می‌باشد.

۳-۶-۱۳- سنجش میزان فلاونوئیدها

برای سنجش فلاونوئید، میزان ۰/۲ گرم از برگ در ۳ میلی‌لیتر اتانول اسیدی شامل (اتانول و اسید کلریدریک به نسبت ۹۹ به ۱) هموژن شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. فاز بالایی به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از سرد شدن توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در سه طول موج ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر قرائت شد. برای محاسبه غلظت از ضریب خاموشی $۳۳۰۰۰ cm^{-۲}mol^{-۶}$ استفاده گردید (کرزک و همکاران، ۱۹۹۸).

۳-۶-۱۴- پایداری غشای پلاسمایی برگ

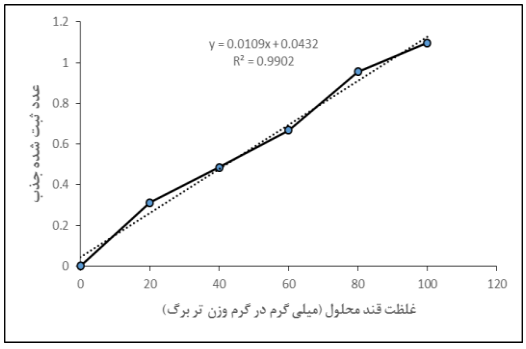
برای تعیین شاخص پایداری غشاء پلاسمایی اقدام به نمونه‌گیری تعدادی برگ همسن از هر ترکیب تیماری گردید. از نمونه برگ‌های تهیه شده به اندازه ۰/۰۱ گرم به‌صورت قطعات کوچک و هم اندازه جدا گردید. سپس این قطعات به فالکون‌های حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد ($C_۱$) قرار داده شدند. به همین ترتیب سری دوم فالکون ها آماده‌سازی گردید و این بار به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد ($C_۲$) قرار گرفتند. پس از خنک شدن در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، هدایت الکتریکی آن‌ها توسط دستگاه EC متر اندازه گیری شد و از طریق رابطه زیر میزان پایداری غشای پلاسمایی محاسبه گردید (سایرام و سریواساوا، ۲۰۰۱).

رابطه (۳-۱۱)

شاخص پایداری غشای پلاسمایی = ۱ - (C۱/C۲) × ۱۰۰

۳-۶-۱۵- قندهای محلول برگ

۰/۵گرم بافت برگ با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد در داخل هاون چینی هموژن و فاز بالایی هموژن حاصل جدا گردید. عمل استخراج دو بار دیگر و هر بار با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد تکرار شد. سپس محلول حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و بعد از جدا کردن بخش بالایی فاز مایع، عصاره الکلی حاصل تا زمان اندازه‌گیری کربوهیدرات در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای اندازه‌گیری کربوهیدرات محلول بر اساس روش ایریگوین و همکاران (۱۹۹۲) به ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره الکلی نگهداری شده در یخچال ۳ میلی‌لیتر آنترون تازه تهیه شده (۱۵۰ میلی‌گرم آنترون + ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک) اضافه شد. لوله‌های آزمایش به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفتند تا ماده رنگی حاصل شود. بعد از خنک شدن نمونه‌ها میزان جذب در طول موج ۶۲۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. برای تهیه استاندارد قند، از گلوکز با غلظت‌های ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر استفاده و کلیه مراحل آزمایش روی آن تکرار گردید (شکل ۳-۳).



شکل ۳-۳- منحنی استاندارد قند محلول در طول موج ۶۲۵ نانومتر

۳-۶-۱۶- محتوای نسبی آب برگ[۱]

[۱] - Relaive water content

به‌منظور ارزیابی محتوای نسبی آب برگ، تعداد ۳ گیاه از هر کرت آزمایشی به‌صورت تصادفی انتخاب و درون پوشش پلاستیک روی یخ بلافاصله به آزمایشگاه منتقل گردید. از هر گیاه یک برگ جوان و کاملاً توسعه‌یافته توزین و به مدت ۲۴ ساعت داخل آب مقطر در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (کرامر، ۱۹۸۳). برگ‌ها دوباره توزین شدند (وزن اشباع) و سپس برای ۴۸ ساعت در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند (وزن خشک). محتوای نسبی آب برگ از طریق فرمول زیر محاسبه گردید:

رابطه (۳-۱۲) محتوای نسبی آب برگ = {وزن تر - وزن خشک / وزن اشباع - وزن خشک} × ۱۰۰

۳-۷- تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای داده‌ها در ابتدا آزمون بارتلت انجام شد و در صفاتی که این آزمون معنی دار نبود و همگنی اشتباه آزمایشی تأیید گردید، تجزیه مرکب به‌کمک نرم افزار SAS®۹,۵انجام گرفت. برای صفاتی که آزمون بارتلت معنی‌دار شد، داده‌های هر سال به‌طور جداگانه آنالیز گردیدند. میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح ۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفتند و شکل‌ها با نرم افزار Excel رسم گردیدند.

فصل چهارم

نتایج و بحث

۴.-۱- مطالعات بذر در بخش آزمایشگاهی

۴-۱-۱- درصد جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر

نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به درصد جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر نشان داد که اثر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک به‌ترتیب در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد بر این صفات معنی‌دار است. اگرچه اثر اصلی هر دو تیمار یادشده نیز بر درصد جوانه‌زنی بذر معنی‌دار بود ولی شاخص بنیه بذر فقط تحت تاثیر فرسودگی بذر قرار گرفت (جدول پیوست ۱). وقوع فرآیندهای فرسودگی منجر به کاهش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی و بنیه بذر در مقایسه با بذرهای غیرفرسوده گردید. به‌طوری که در شرایط عدم پیش‌تیمار بذر، کاهشی معادل ۲۳ درصد در جوانه‌زنی مشاهده شد و کاهش در بنیه بذر به‌طور قابل ملاحظه‌ای شدیدتر و معادل ۶۰ درصد بود (شکل‌های ۴-۱ و ۴-۲).

کاهش طول عمر بذر یا قابلیت انبارداری آن مشکلی جدی در نگهداری بذر محسوب می‌گردد که می‌تواند در نهایت منجر به افزایش هزینه‌های تولید گردد (ویدیگال و همکاران، ۲۰۱۶). فرآیندهای پیری در بذر منجر به زوال پیش‌رونده و در نهایت عدم جوانه‌زنی یا دست‌کم کاهش جوانه‌زنی می‌شوند. همچنین، همان‌طور که پیش‌تر ذکر گردید بنیه بذر یک ویژگی فیزیولوژیک پیچیده است که برای ظهور سریع و یکنواخت گیاه‌چه در مزرعه ضروری می‌باشد و به توانایی ماندگاری بذر در انبار و مقاومت آن به شرایط نامناسب محیطی بستگی دارد.

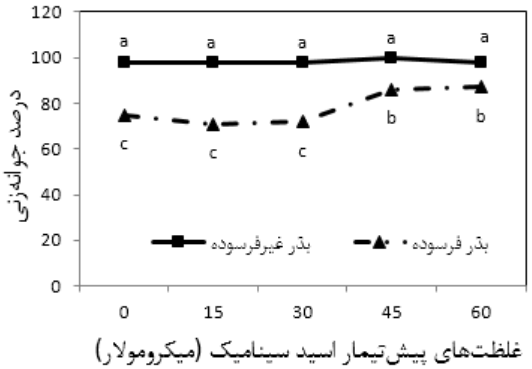
مطالعه کاپور و همکاران (۲۰۱۰) نشان داد فرسودگی تسریع‌شده در بذرهای نخود بر تمام ویژگی های فیزیولوژیک از جمله درصد جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر تأثیرگذار است. بر اساس نتایج آن‌ها کاهش قابلیت حیات، سرعت جوانه‌زنی و بنیه بذر با تغییرات بیوشیمیایی نظیر کاهش محتوای پروتئین ها و قندهای محلول مرتبط می‌باشد. بیابانی و همکاران (۲۰۱۱) نیز کاهش درصد و یکنواختی جوانه

زنی، و نیز کاهش رشد به‌صورت کاهش طول ریشه‌چه و گیاه‌چه، کاهش وزن ریشه و گیاه‌چه و افزایش درصد گیاه‌چه‌های غیرنرمال در نخود در شرایط فرسودگی بذر را گزارش دادند.

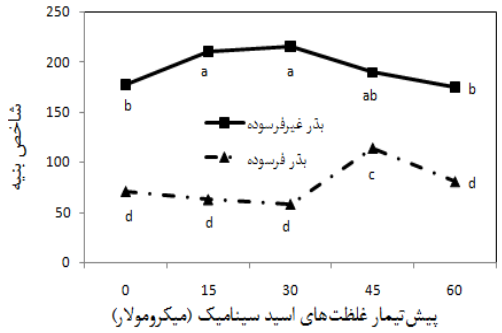
بذرهای با بنیه کم را می‌توان از طریق اعمال یک سری پیش‌تیمارهای قبل از کاشت بهبود بخشید (ونتورا و همکاران، ۲۰۱۲). در شکل‌های ۴-۱ و ۴-۲ مشاهده می‌شود که پیش‌تیمار بذرهای غیرفرسوده با اسید سینامیک اثر معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی نداشت. در حالی‌که غلظت‌های ۱۵ و ۳۰ میکرومولار به‌طور معنی‌دار بنیه این بذرها را در مقایسه با شاهد بهبود بخشیدند. ولی افزایش غلظت سبب کاهش معنی‌دار این صفت در مقایسه با بذرهای شاهد غیرفرسوده گردید.

پیش‌تیمار بذرهای فرسوده با غلظت‌های ۴۵ و ۶۰ میکرومولار سبب بهبود درصد جوانه‌زنی در مقایسه با بذرهای فرسوده پیش‌تیمار نشده گردید. به‌گونه‌ای که در نهایت درصد جوانه‌زنی از ۷۵ درصد از سطح صفر پیش‌تیمار به ۸۷ درصد در سطح ۶۰ میکرومولار اسید سینامیک رسید. غلظت ۴۵ میکرومولار بنیه بذرهای فرسوده را ۳۸ درصد بهبود بخشید ولی غلظت بالاتر تأثیری بر این صفت نداشت.

نتایج مطالعه السیدی و یوسف (۲۰۱۴) نشان می‌دهد پیش‌تیمار بذری با اسید سالیسیلیک که از مشتقات اسید سینامیک می‌باشد نیز می‌تواند سبب بهبود درصد جوانه‌زنی و بنیه بذر در برخی واریته های گندم تحت شرایط تنش شوری گردد. همچنین سینگ و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند پیش‌تیمار بذرهای ذرت با اسید سینامیک در شرایط تنش شوری قادر به کاهش اثرات مخرب تنش و تنظیم آنزیم های آنتی اکسیدان می‌باشد. آن‌ها ابراز داشتند اثرات مفید اسید سینامیک تحت شرایط تنش به‌مراتب بارزتر از اثرات آن در شرایط بدون تنش است.



شکل ۴-۱. درصد جوانه‌زنی. تأثیر پیش‌تیمار بذر با غلظت های مختلف اسید سینامیک بر درصد جوانه زنی بذرهای غیرفرسوده و فرسوده. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارها می‌باشد.

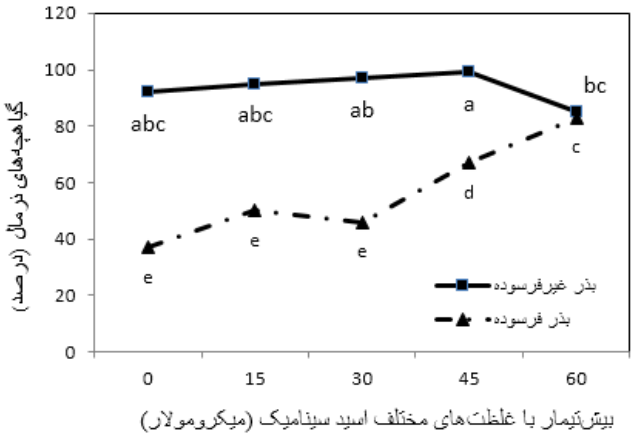


شکل ۴-۲. بنیه بذر. تأثیر پیش‌تیمار بذر با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر بنیه بذرهای غیرفرسوده و فرسوده. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می باشد.

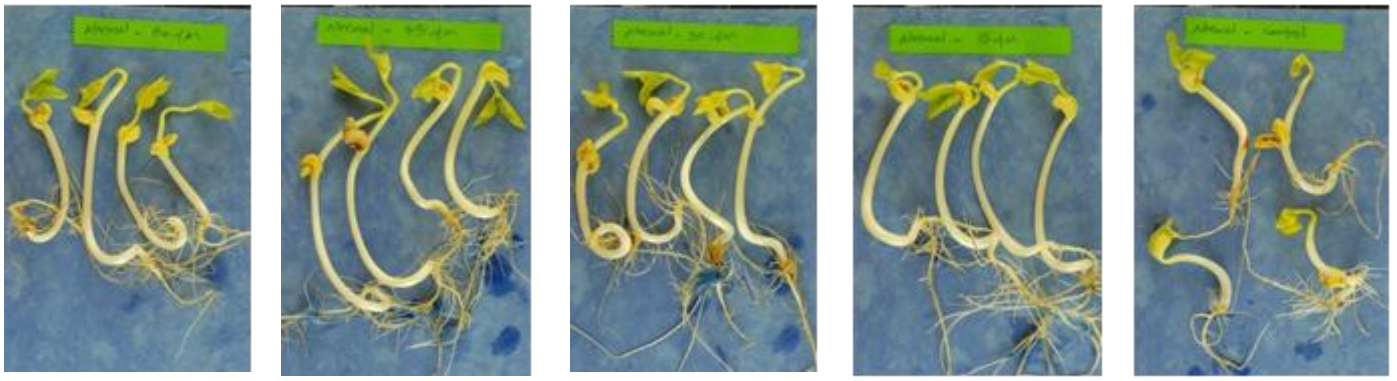
۴-۱-۲- درصد گیاه‌چه‌های نرمال

بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار با اسید سینامیک و برهم کنش آن ها بر درصد گیاه‌چه‌های نرمال در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول پیوست ۱). واکنش‌های مرتبط با زوال منجر به کاهش ۶۰ درصدی در درصد گیاه‌چه‌های نرمال حاصل از بذرهای فرسوده در مقایسه با گیاه‌چه‌های حاصل از بذرهای غیرفرسوده در سطح صفر پیش‌تیمار شد. از سوی‌دیگر، پیش تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در مقایسه با شاهد تأثیر معنی‌داری بر درصد گیاه‌چه‌های نرمال حاصل از بذرهای غیرفرسوده نداشت ولی کاربرد غلظت‌های ۴۵ و ۶۰ میکرومولار اسید سینامیک سبب افزایشی معادل به‌ترتیب ۴۵ و ۵۵/۵ درصد در گیاه‌چه‌های نرمال حاصل از بذرهای فرسوده در مقایسه با بذرهای فرسوده پیش‌تیمار نشده گردید. به‌طوری که با کاربرد بالاترین غلظت اسید سینامیک درصد گیاه‌چه‌های نرمال حاصل از بذرهای فرسوده به مقدار آن در تیمار شاهد رسید (شکل ۴-۳). در شکل ۴-۴ نمونه‌ای از گیاه‌چه‌های به‌دست‌آمده از تیمارهای مختلف قابل مشاهده و مقایسه می‌باشد.

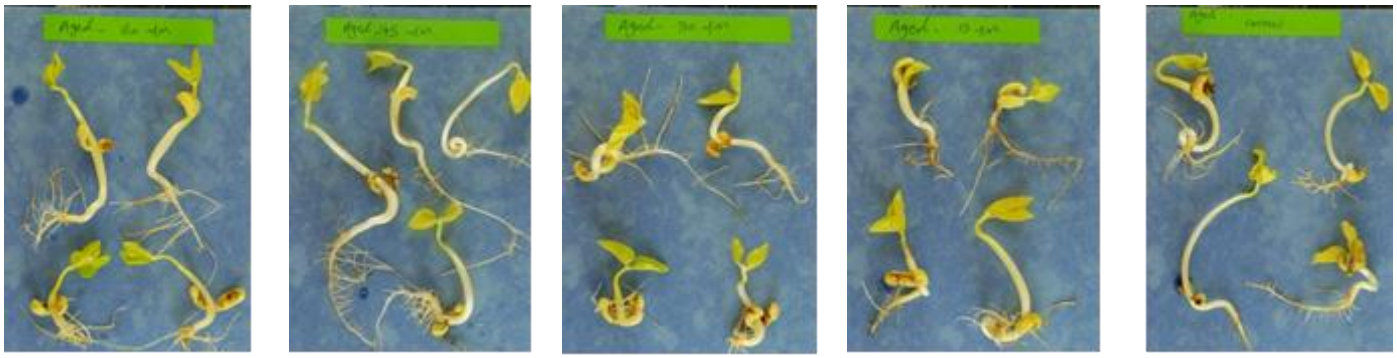
نتایج برخی مطالعات نشان داده است که اسید سینامیک دارای خواص آللوپاتیک و حتی آتوتوکسیک است (سینگ و همکاران، ۲۰۱۳). به‌طوری که از طریق تحریک بیوسنتز لیگنین می‌تواند سبب توقف جوانه‌زنی و رشد ریشه گردد (سالوادور و همکاران، ۲۰۱۳). این پاسخ را می‌توان به‌عنوان یک استراتژی مهم برای بذرهای تحت تنش دانست. به‌طوری که با توقف فرآیند جوانه‌زنی بقای بذر در شرایط تنش تضمین می‌گردد. نتایج بررسی ما حاکی از آن است که کاربرد اسید سینامیک در بذرهای زوال‌یافته لوبیا چشم بلبلی قادر است سبب بهبود درصد جوانه‌زنی، بنیه بذر و نیز درصد گیاهچه‌های نرمال حاصل از بذرهای فرسوده گردد. اما همان‌طور که در شکل‌ها نشان داده شده است پیش‌تیمار بذری با اسید سینامیک در بذرهای غیرفرسوده تأثیر چندانی بر این صفات نداشته است که می‌تواند نشان دهد این متابولیت در شرایط تنش در مقایسه با شرایط غیرتنش مفیدتر است.



شکل ۴-۳: درصد گیاهچه‌های نرمال. تاثیر پیش‌تیمار بذر با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر درصد گیاهچه‌های نرمال بذرهای غیرفرسوده و فرسوده. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



بذر غیرفرسوده. پیش‌تیمار با آب مقطر | بذر غیرفرسوده. ۱۵ میکرومولار اسید سینامیک | بذر غیرفرسوده. ۳۰ میکرومولار اسید سینامیک | بذر غیرفرسوده. ۴۵ میکرومولار اسید سینامیک | بذر غیرفرسوده. ۶۰ میکرومولار اسید سینامیک



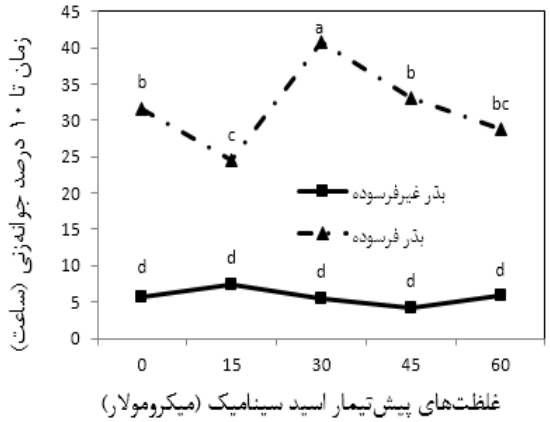
بذر فرسوده. پیش تیمار با آب مقطر | بذر فرسوده. ۱۵ میکرولار اسید سینامیک | بذر فرسوده. ۳۰ میکرولار اسید سینامیک | بذر فرسوده. ۴۵ میکرولار اسید سینامیک | بذر فرسوده. ۶۰ میکرولار اسید سینامیک

شکل ۴-۴. گیاه‌چه‌های نرمال و غیرنرمال. تأثیر پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر ظهور گیاه‌چه از بذرهای غیرفرسوده و فرسوده.

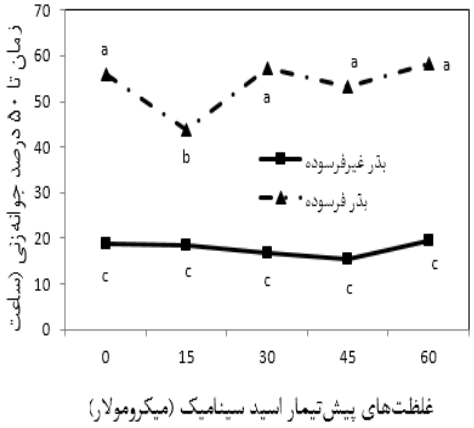
۴-۱-۳- زمان تا ۱۰ و ۵۰ درصد جوانه زنی

اثر کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک و برهم‌کنش آن‌ها بر مدت زمان لازم برای ۱۰ درصد و ۵۰ درصد جوانه‌زنی معنی‌دار بود (جدول پیوست۱). تیمار بذرهای غیرفرسوده با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک تأثیری بر مدت زمان لازم برای رخ‌دادن ۱۰ درصد و ۵۰ درصد جوانه‌زنی نداشت. در بذرهای فرسوده فرآیندهای دخیل در فرسودگی بذر منجر به تأخیر زمان لازم برای ۱۰ درصد و ۵۰ درصد جوانه‌زنی بذرها گردیدند. به‌طوری که توده بذرهای زوال یافته

در مقایسه با بذرهای غیرفرسوده حدود ۳ برابر زمان بیشتری لازم داشتند تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی انجام دهند. از میان غلظت‌های مختلف اسید سینامیک، غلظت ۱۵ میکرومولار به صورتی معنی‌دار توانست زمان ۱۰ درصد و ۵۰ درصد جوانه‌زنی را در بذرهای فرسوده در مقایسه با بذرهای فرسوده پیش‌تیمار نشده کاهش دهد. در این بین، غلظت ۳۰ میکرومولار زمان تا ۱۰ درصد جوانه‌زنی را تا حدود ۱۰ ساعت در مقایسه با بذرهای فرسوده پیش‌تیمار نشده افزایش داد (شکل‌های ۴-۵ و ۴-۶).



شکل ۴-۵. زمان تا ۱۰ درصد جوانه‌زنی. تأثیر پیش‌تیمار بذر با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر زمان تا ۱۰ درصد جوانه‌زنی در بذرهای غیرفرسوده و فرسوده. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴-۶. زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی. تأثیر پیش‌تیمار بذر با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی در بذرهای غیرفرسوده و فرسوده. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

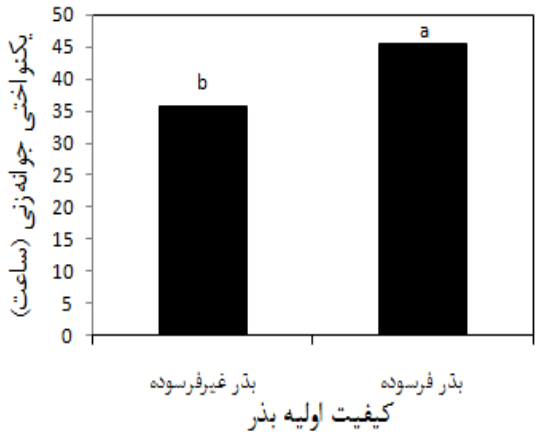
۴-۱-۴- سرعت جوانه‌زنی

سرعت جوانه‌زنی (عکس مدت زمان لازم تا رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی) فقط تحت تأثیر کیفیت اولیه بذر (در سطح احتمال یک درصد) قرار گرفت (جدول پیوست ۱) به طوری که فرسودگی بذر سبب کاهش قابل ملاحظه سرعت جوانه‌زنی بذرهای فرسوده در مقایسه با بذرهای غیرفرسوده گردید (شکل ۴-۷). کاهش سرعت جوانه‌زنی احتمالا به‌دلیل وقفه‌ای است که در آغاز فرآیند جوانه‌زنی در بذرهای فرسوده ایجاد می‌شود. علت این وقفه وقوع فرآیندهای تعمیری در غشاء و سایر قسمت‌ها برای رفع آسیب‌های ناشی از فرسودگی می‌باشد.

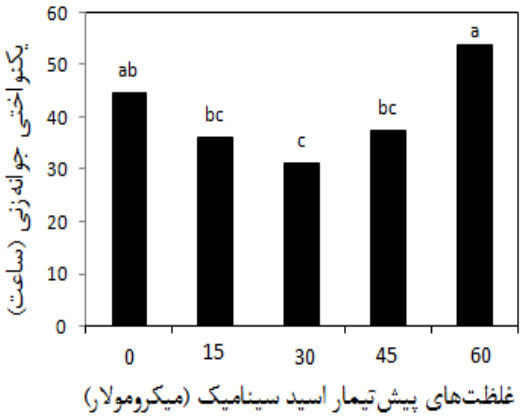
شکل ۴-۷. سرعت جوانه‌زنی. تأثیر کیفیت اولیه بذر بر سرعت جوانه‌زنی بذرهای فرسوده و غیرفرسوده. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارها می‌باشد.

۴-۱-۵- یکنواختی جوانه‌زنی

U۸۴۱۶ به معنای وقفه زمانی بین جوانه‌زنی ۱۶ درصد تا زمانی است که درصد جوانه‌زنی به ۸۴ می‌رسد و در واقع بیانگر یکنواختی جوانه‌زنی می‌باشد. نتایج تجزیه واریانس حاکی از آن بود که اثرات اصلی کیفیت اولیه بذر در سطح احتمال ۵ درصد و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در سطح احتمال یک درصد بر یکنواختی جوانه‌زنی تأثیرگذار می‌باشند (جدول پیوست ۲). به‌طوری که بذرهای غیرفرسوده در مقایسه با بذرهای فرسوده به‌طور معنی‌داری جوانه‌زنی یکنواخت‌تری داشتند (شکل ۴-۸). در این میان، پیش‌تیمار بذر با غلظت ۳۰ میکرومولار اسید سینامیک یکنواختی جوانه‌زنی را در مقایسه با بذرهای فرسوده پیش‌تیمار نشده بهبود بخشید که البته اختلاف معنی‌داری با غلظت های ۱۵ و ۴۵ میکرومولار نداشت. به‌جز غلظت ۳۰ میکرومولار، سایر غلظت‌ها اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشتند (شکل ۴-۹).



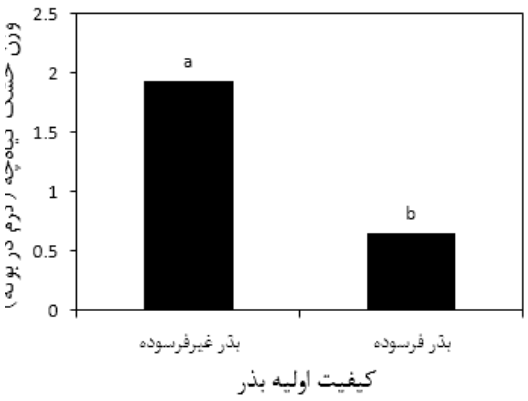
شکل ۴-۸. یکنواختی جوانه‌زنی. تأثیر کیفیت اولیه بذر بر یکنواختی جوانه‌زنی بذرهای غیرفرسوده و فرسوده. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



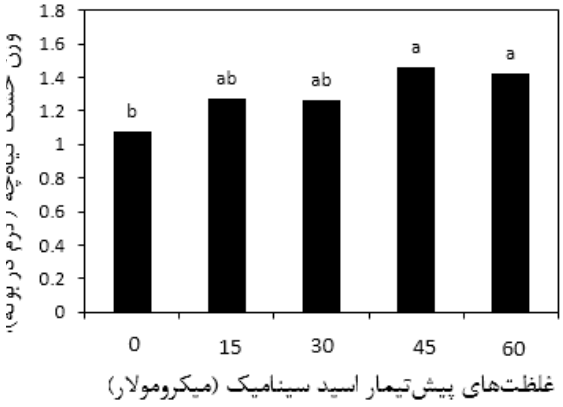
شکل ۴-۹. یکنواختی جوانه زنی. تأثیر پیش‌تیمار بذر با غلظت های مختلف اسید سینامیک بر یکنواختی جوانه‌زنی. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

۴-۱-۶- وزن خشک گیاه‌چه

برای صفت وزن خشک گیاه‌چه، از میان اثرات اصلی اثر کیفیت اولیه بذر در سطح احتمال یک درصد و نیز اثر پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بودند (جدول پیوست ۲). همان‌طور که در شکل ۴-۱۰ نشان داده شده است وقوع فرسودگی در بذر سبب کاهش قابل ملاحظه و معنی‌دار وزن خشک گیاه‌چه (حدود ۶۶ درصد) در گیاه‌چه‌های حاصل از بذرهای فرسوده در مقایسه با گیاه‌چه‌های حاصل از بذرهای غیرفرسوده گردید. از سوی دیگر، پیش‌تیمار بذر با غلظت‌های ۴۵ و ۶۰ میکرومولار سبب بهبود ۳۳/۵ درصدی این صفت در مقایسه با شاهد گردیدند. اگرچه بین دو غلظت یادشده با غلظت‌های ۱۵ و ۳۰ میکرومولار اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ولی اختلاف آن‌ها با شاهد معنی‌دار بود (شکل ۴-۱۱).



شکل ۴-۱۰. وزن خشک گیاه‌چه. تأثیر کیفیت اولیه بذر بر وزن خشک گیاه‌چه. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

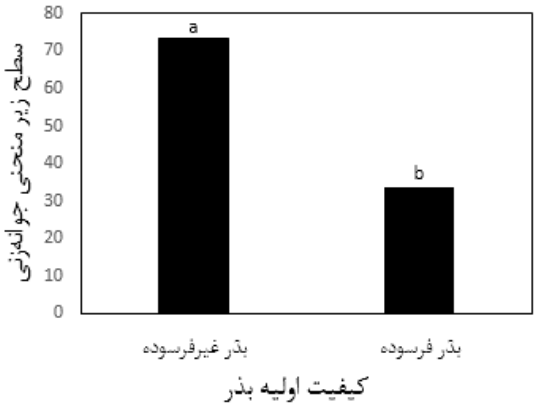


شکل ۴-۱۱. وزن خشک گیاه‌چه. تأثیر پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر وزن خشک گیاه‌چه. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

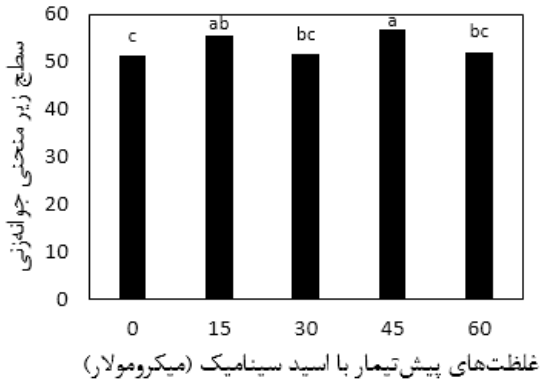
۴-۱-۷- سطح زیر منحنی جوانه‌زنی (AUC)

AUC[۱] که معادل سطح زیر منحنی برازش شده بین t=۰ و پایان جوانه‌زنی (۱۰۰ ساعت) می باشد پارامتری است که از تلفیق داده‌های مربوط به حداکثر جوانه‌زنی، زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه زنی (t۵۰) و یکنواختی جوانه‌زنی (U۸۴۱۶) حاصل می‌گردد و برآیندی از تیمار به‌کار گرفته شده را نشان می‌دهد. آنالیز داده‌های AUC حاکی از آن بود که اثر کیفیت اولیه بذر (در سطح احتمال ۱ درصد) و پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (در سطح احتمال ۵ درصد) معنی‌دار می‌باشد (جدول پیوست ۲). در شکل ۴-۱۲ نشان داده شده است که کیفیت اولیه بذر به شدت بر AUC تأثیرگذار است. این صفت تحت تأثیر فرسودگی بذر حدود ۵۵ درصد کاهش یافت. همچنین پیش‌تیمار بذر با غلظت‌های ۱۵ و ۴۵ میکرومولار سبب بهبود معنی‌دار AUC گردید (شکل ۴-۱۳).

[۱] - Area under curve



شکل ۴-۱۲. سطح زیر منحنی جوانه‌زنی. تأثیر کیفیت اولیه بذر بر سطح زیر منحنی جوانه‌زنی. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴-۱۳. سطح زیر منحنی جوانه‌زنی. تأثیر پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر سطح زیر منحنی جوانه زنی. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

۴-۱-۸- رشد هتروتروفیک و میزان ذخایر منتقل شده طی جوانه‌زنی بذر

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، همه منابع تغییر برای صفات مورد بررسی در رابطه با تحرک ذخایر بذر در سطح یک درصد معنی‌دار شدند (جدول پیوست ۲). ارزیابی رشد هتروتروفیک گیاه‌چه‌های لوبیا چشم بلبلی حاصل از بذرهای غیرفرسوده و فرسوده نشان داد که برخلاف کارآیی ذخایر (شکل ۴-۱۵) و نیز کسر ذخایر منتقل‌شده (شکل ۴-۱۶)، فرآیندهای فرسودگی مقدار استفاده از ذخایر (شکل ۴-۱۴) بذرهای فرسوده را در مقایسه با مقدار آن در بذرهای غیرفرسوده به طور معنی‌دار کاهش دادند. همان‌طور که در شکل ۴-۱۴ نشان داده شده است، پیش‌تیمار بذر با غلظت‌های ۱۵، ۳۰ و ۴۵ میکرومولار اسید سینامیک سبب افزایش قابل‌توجه در مقدار استفاده از ذخایر در بذرهای غیرفرسوده گردید در حالی که غلظت ۶۰ میکرومولار تأثیر معنی‌داری نداشت. بذرهای فرسوده به پیش‌تیمار غلظت های مختلف اسید سینامیک از نظر این صفت واکنش‌های متفاوتی نشان دادند. به‌طوری که غلظت ۱۵ میکرومولار اسید سینامیک تأثیری بر مقدار استفاده از ذخایر نداشت ولی غلظت‌های ۳۰ و ۶۰ میکرومولار سبب افزایش و غلظت ۴۵ میکرومولار سبب کاهش معنی‌دار آن در مقایسه با شاهد گردیدند.

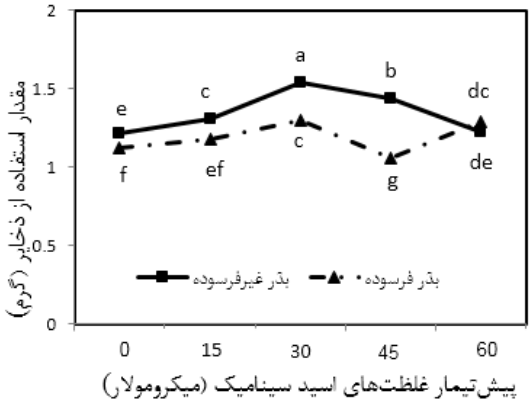
شکل ۴-۱۵ نشان می‌دهد کاربرد غلظت‌های مختلف اسید سینامیک تأثیر معنی‌داری بر کارایی استفاده از ذخایر در بذرهای غیرفرسوده نداشت هرچند غلظت ۳۰ میکرومولار در گروه برتر آماری قرار

گرفت. این در حالی است که پیش‌تیمار بذر با اسید سینامیک میزان این صفت را در بذرهای فرسوده تا حدود ۴۵ درصد بهبود بخشید. در این راستا برتری سه غلظت ۱۵، ۴۵ و ۶۰ میکرومولار کاملا مشهود بود.

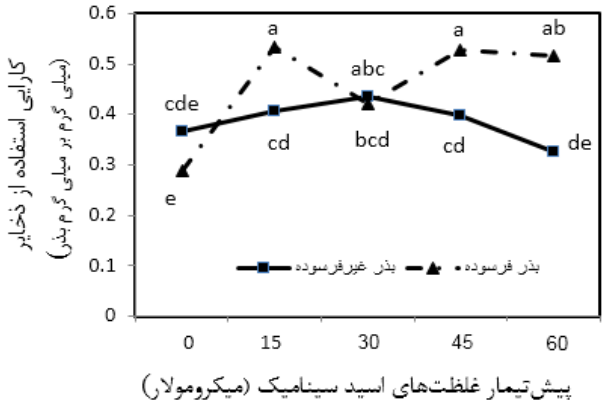
نتایج حاکی از آن بود که پیش‌تیمار بذرهای غیرفرسوده با غلظت‌های ۳۰ و ۴۵ میکرومولار اسید سینامیک کسر ذخایر مصرف‌شده را بهبود بخشید. در بذرهای فرسوده نظیر آنچه در مورد کارایی استفاده از ذخایر مشاهده گردید، تمامی غلظت‌های اسید سینامیک مقدار این صفت را بین ۴۶/۶۱ تا ۵۵/۳۲ درصد در مقایسه با بذرهای پیش‌تیمار نشده افزایش دادند. در این بین بیشترین اثر مربوط به غلظت ۶۰ میکرومولار بود به‌طوری که مقدار ثبت‌شده برای کسر ذخایر منتقل‌شده در این غلظت با مقدار به‌دست‌آمده برای غلظت ۳۰ میکرومولار در بذور غیرفرسوده در گروه آماری برتر قرار گرفت (شکل ۴-۱۶). در مجموع می‌توان نتیجه‌گیری کرد پیش‌تیمار بذرهای فرسوده با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک از طریق بهبود کارایی استفاده از ذخایر و کسر ذخایر منتقل‌شده و تا حدی مقدار ذخایر منتقل‌شده سبب تقویت بنیه بذر و بهبود جوانه‌زنی و در نهایت تقویت گیاه‌چه‌های حاصل از بذرهای فرسوده گردیده است. شایان ذکر است که مقدار استفاده از ذخایر جزء حساس به تنش فرسودگی می باشد که سبب کاهش معنی‌دار وزن خشک گیاه‌چه‌های حاصل از بذرهای فرسوده در مقایسه با گیاه‌چه های حاصل از بذرهای غیرفرسوده گردیده است.

تحرک ذخایر بذر طی آبنوشی فرآیندی حیاتی برای تأمین انرژی مورد نیاز جهت انجام فرآیند جوانه زنی و استقرار مناسب گیاه‌چه می‌باشد (ویتبریخت و همکاران، ۲۰۱۱). رشد هتروتروفیک شامل ۳ جزء اصلی ۱) مقدار استفاده از ذخایر. ۲) کارایی استفاده از ذخایر. ۳) کسر ذخایر منتقل‌شده می‌باشد (سلطانی و همکاران، ۲۰۰۶). از سوی دیگر، رشد گیاه‌چه‌های حاصل از بذرهای فرسوده ممکن است در اثر کاهش این اجزاء تحت تأثیر قرار گیرد. بنابراین، آگاهی از حساسیت نسبی این اجزاء به فرسودگی و واکنش‌های ناشی از آن می‌تواند در تشخیص و تعیین جزء حساس رشد گیاه‌چه به پیری و در نهایت تصمیم‌گیری در مورد تیمار مناسب برای بهبود بذرهای فرسوده بسیار مفید باشد.

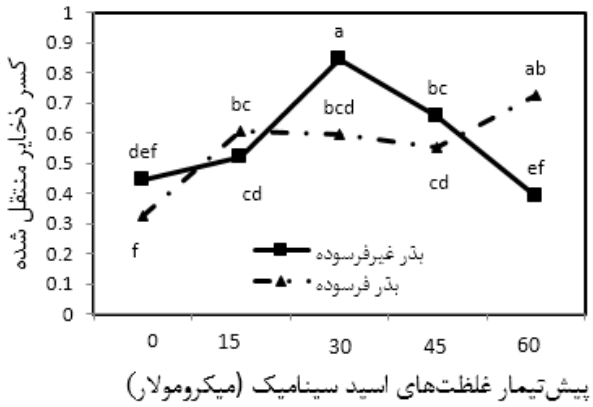
کاهش مقدار استفاده از ذخایر بذر و کسر ذخایر انتقال یافته بذر به گیاهچه در شرایط تنش می تواند به دلیل کاهش فعالیت هورمون جیبرلین و کاهش سنتز آنزیم‌های هیدرولیز کننده آلفا و بتاآمیلاز در فرآیند جوانه‌زنی باشد که درنتیجه کاهش قدرت بذر را به‌همراه دارد (مک دونالد، ۱۹۹۹). کم شدن جذب آب توسط بذر در شرایط تنش منجر به کاهش ترشح هورمون‌ها و فعالیت آنزیم‌ها و در نتیجه اختلال در تحرک ذخایر بذر می‌شود (کافی و رستمی، ۲۰۰۹). کاهش فعالیت آمیلاز در بذر گیاهان تحت تنش به کاهش تشکیل گلوکز از نشاسته منجر می‌شود که حاصل آن کاهش سنتز ساکارز می باشد که در نهایت کاهش کارایی ذخایر بذر را در پی دارد (محرابی و همکاران، ۲۰۰۷). گزارش‌ها حاکی از آن است که در ارقام مختلف عدس با افزایش تنش خشکی مقدار ذخایر بذری پویا شده و درصد تخلیه ذخایر کاهش می‌یابد. کاهش در این پارامترها سبب کاهش وزن خشک گیاه‌چه گردید (رسام و دادخواه، ۲۰۱۳). نتایج مطالعه گنجه و همکاران (۱۳۹۶) حاکی از آن بود که کاربرد اسید سالیسیلیک در بذرهای گندم سبب بهبود جوانه‌زنی و کارایی استفاده از ذخایر در شرایط تنش خشکی می‌گردد.



شکل ۴-۱۴. مقدار استفاده از ذخایر بذر. تأثیر پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر مقدار استفاده از ذخایر بذرهای غیرفرسوده و فرسوده. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می باشد.



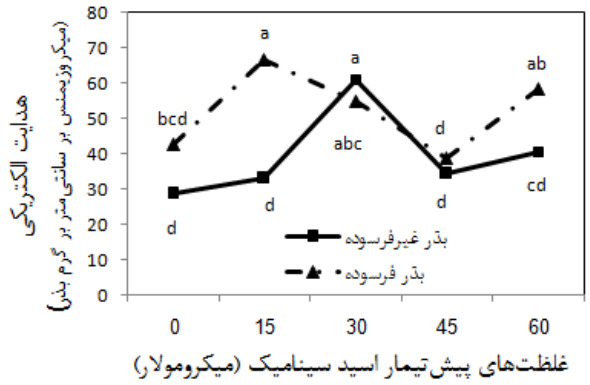
شکل ۴-۱۵. کارایی استفاده از ذخایر. تأثیر پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر کارایی استفاده از ذخایر بذرهای غیرفرسوده و فرسوده. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می باشد.



شکل ۴-۱۶. کسر ذخایر منتقل شده بذر. تاثیر پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر کسر ذخایر مصرف شده بذر. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

۴-۱-۹- نشت الکترولیت‌ها

در خلال فرآیندهای منجر به فرسودگی بذر، میزان تراوش الکترولیت‌ها از بذر در اثر آسیب به غشاهای پلاسمایی افزایش می‌یابد. این افزایش از طریق افزایش میزان هدایت الکتریکی مشخص می گردد. بررسی نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به این صفت نشان داد اثر کیفیت اولیه بذر، پیش تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک و برهم‌کنش آن‌ها بر میزان هدایت الکتریکی بذر در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول پیوست ۲). بر این اساس مشخص گردید فرسودگی بذر منجر به نشت شدیدتر الکترولیت‌ها از بذر گردید. به‌طوری که در سطح صفر پیش‌تیمار، هدایت الکتریکی بذرهای فرسوده ۴۱ درصد بیشتر از بذرهای غیرفرسوده بود. پیش‌تیمار بذر با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک تأثیر مثبتی بر کاهش نشت الکترولیتی در بذرهای غیرفرسوده نداشت. حتی در این شرایط کاربرد غلظت ۳۰ میکرومولار نشت الکترولیت‌ها را تا حدود ۵۶ درصد افزایش داد. از سوی دیگر، کاربرد اسید سینامیک در بذرهای فرسوده سبب بروز پاسخ‌های متفاوتی شد. به‌طوری که پیش‌تیمار با غلظت ۱۵ میکرومولار سبب افزایش هدایت الکتریکی شد اما پیش‌تیمار با غلظت ۴۵ میکرومولار در مقایسه با سایر غلظت‌ها به‌طور معنی‌دار و مؤثری مقدار نشت را کاهش داد و هدایت الکتریکی این بذرها به مقدار آن در بذرهای پیش‌تیمار نشده رسید (شکل ۴- ۱۷).



شکل ۴-۱۷. نشت الکترولیت‌ها. تأثیر پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر نشت الکترولیت‌ها در بذرهای غیرفرسوده و فرسوده. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

نتایج مطالعه بازیراماکنگا و همکاران (۱۹۹۵) روی اثرات اسید سینامیک و اسید بنزوئیک بر تمامیت غشاءهای پلاسمایی ریشه سویا در شرایط بدون تنش حاکی از افزایش نشت الکترولیت‌ها ناشی از اکسیداسیون پیوندهای جانبی سولفیدریل در غشاءهای پلاسمایی و در نتیجه تولید ROS، افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و از بین رفتن تمامیت غشاء می‌باشد. از سوی دیگر، الطیب و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند کاربرد اسید سالیسیلیک (به‌عنوان یکی از مشتقات اسید سینامیک) در شرایط تنش شوری سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و در نتیجه کاهش نشت الکترولیت‌ها می‌گردد.

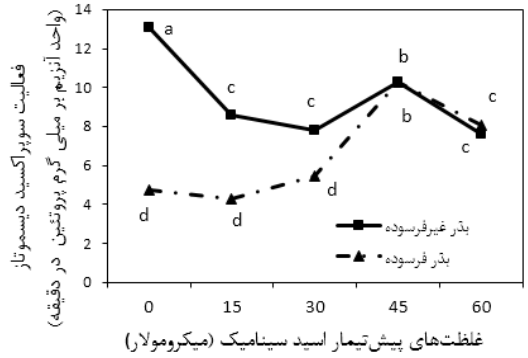
۴-۱-۱۰- فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

۴-۱-۱۰-۱- سوپر اکسید دیسموتاز

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به فعالیت این آنزیم حاکی از آن بود که اثر همه منابع تغییر شامل کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک و برهم‌کنش آن‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول پیوست ۳). در شرایط عدم پیش‌تیمار با اسید سینامیک، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بذور غیرفرسوده حدود ۱۳ واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه و در بذور فرسوده با ۶۴ درصد کاهش معادل ۴/۷ واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه بود. کاربرد اسید سینامیک در بذرهای غیرفرسوده سبب کاهش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز شد.

البته مقدار این کاهش در شرایط پیش‌تیمار با غلظت ۴۵ میکرومولار در مقایسه با سایر غلظت‌ها کمتر بود. فعالیت آنزیم در بذرهای فرسوده در غلظت‌های ۱۵ و ۳۰ میکرومولار اسید سینامیک تفاوت معنی داری با شاهد نداشت. ولی پیش‌تیمار بذرهای فرسوده با غلظت‌های ۴۵ و ۶۰ میکرومولار اسید سینامیک فعالیت آن را تا حد فعالیت آنزیم در بذرهای غیرفرسوده بالا برد به‌طوری که بیشترین فعالیت آنزیم در بذور فرسوده معادل ۱۰/۲۶ واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه در سطح ۴۵ میکرومولار اسید سینامیک مشاهده شد که حدود ۵۴ درصد بیشتر از بذور فرسوده تیمارنشده بود (شکل ۴-۱۸).

سوپراکسید دیسموتاز اولین آنزیم دخیل در دفاع آنتی‌اکسیدانی در موجودات زنده می‌باشد. این متالوپروتئین هم در سلول‌های یوکاریوت و هم در پروکاریوت‌ها یافت می‌گردد و عمل دیسموتاز کردن رادیکال سوپراکسید به پراکسیدهیدروژن را انجام می‌دهد. این آنزیم در اتصال با آنزیم کاتالاز می‌تواند به‌عنوان یک سیستم سمیت‌زدایی بسیار کارآمد عمل کند (گووینداراج و همکاران، ۲۰۱۷).



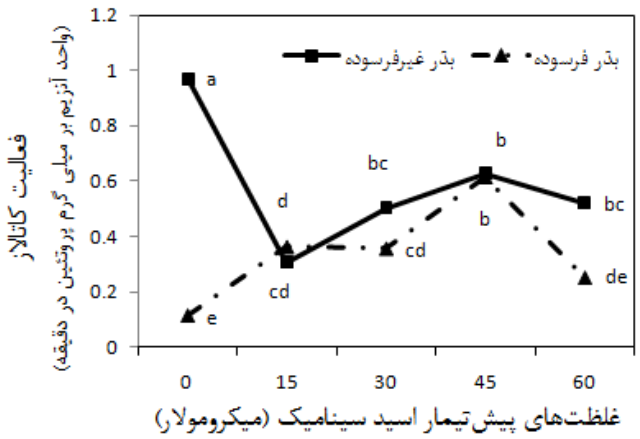
شکل ۴-۱۸. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز. تأثیر پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بذرهای غیرفرسوده و فرسوده. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

۴-۱-۱۰-۲- کاتالاز

فعالیت آنزیم کاتالاز از کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک و برهم‌کنش آن‌ها در سطح احتمال یک درصد به‌طور معنی‌دار تاثیر پذیرفت (جدول پیوست ۳).

فعالیت آنزیم کاتالاز در بذرهای فرسوده پیش‌تیمار شده با آب مقطر (غلظت صفر اسید سینامیک) در مقایسه با بذرهای غیرفرسوده در شرایط مشابه به‌طور قابل ملاحظه‌ای کمتر بود. به‌طوری که افتی معادل ۸۸/۵ درصد ثبت گردید. البته میزان این کاهش در بین غلظت‌های مختلف اسید سینامیک با شدت کمتری مشاهده گردید. کاربرد غلظت‌های مختلف اسید سینامیک سبب کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاتالاز در بذرهای غیرفرسوده در مقایسه با تیمار شاهد گردید. بیشترین کاهش مربوط به غلظت ۱۵ میکرومولار بود. در بذرهای فرسوده، پیش‌تیمار بذر با غلظت‌های ۱۵، ۳۰ و ۴۵ میکرومولار سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم شد. افزایش مشاهده شده در غلظت ۴۵ میکرومولار بیشتر از دو غلظت دیگر بود. به‌طوری که فعالیت آنزیم در بذرهای فرسوده را به حد فعالیت آن در بذرهای غیرفرسوده در همین غلظت رساند (شکل ۴-۱۹).

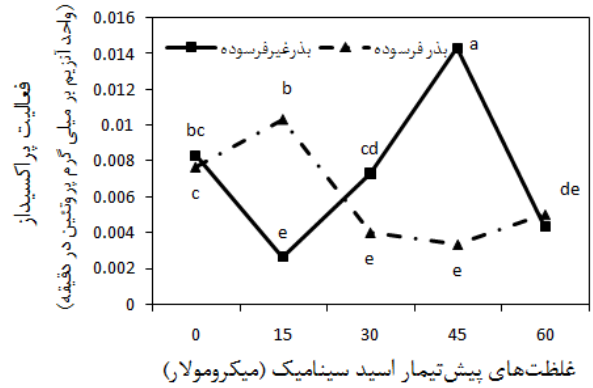
کاتالاز یکی از مهمترین کاتالیزورهای پروتئینی است که واکنش‌های اکسایش-کاهش را بهبود می‌بخشد و در پراکسی‌زوم‌ها و میکروپراکسی‌زوم‌ها قرار دارد و سبب تجزیه پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن و در نتیجه محافظت از سلول در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از تجمع پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل می‌گردد. این متابولیت ثانویه یک آنزیم جاروب کننده می‌باشد که در حفاظت از اجزای میتوکندری در مواجهه با آسیب اکسیداتیو نقش اساس دارد و سبب جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود (گووینداراج، ۲۰۱۷). به‌طوری که بر اساس گزارش‌ها، به‌دنبال کاهش فعالیت آن در بذرهای فرسوده، افزایش معنی‌دار پراکسیداسیون لیپیدی و نیز کاهش بنیه و قابلیت حیات در بذرهای آفتابگردان ثبت گردیده است (بیلی و همکاران، ۲۰۰۲). به‌علاوه، تحریک تولید آن در خلال فرآیند جوانه‌زنی بذر نیز گزارش شده است (گوان و اسکاندالیوس، ۲۰۰۲). در نتیجه، کمبود آن در بذر می‌تواند یک نشانگر مهم در بروز آسیب اکسیداتیو باشد (گووینداراج، ۲۰۱۷).



شکل ۴-۱۹. آنزیم کاتالاز. تأثیر پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر فعالیت آنزیم کاتالاز در بذرهای غیرفرسوده و فرسوده. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

۴-۱-۱۰-۳- پراکسیداز

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر کیفیت اولیه بذر ($P<۰/۰۵$) و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک و برهم‌کنش آن‌ها ($P<۰/۰۱$) بر فعالیت آنزیم پراکسیداز معنی‌دار بود (جدول پیوست ۳). در شرایط عدم حضور اسید سینامیک، بذرهای غیرفرسوده و فرسوده از نظر فعالیت این آنزیم با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند. در مجموع روند فعالیت آنزیم پراکسیداز در بذرهای غیرفرسوده و فرسوده برعکس بود. به‌طوری‌که کاربرد غلظت‌های ۱۵ و ۴۵ میکرومولار اسید سینامیک به ترتیب سبب کاهش و افزایش فعالیت پراکسیداز در بذرهای غیرفرسوده گردید. در حالی که در بذرهای فرسوده ابتدا در غلظت ۱۵ میکرومولار فعالیت این آنزیم به‌طور معنی‌داری افزایش و سپس در غلظت‌های بیشتر به شدت کاهش یافت (شکل ۴-۲۰).

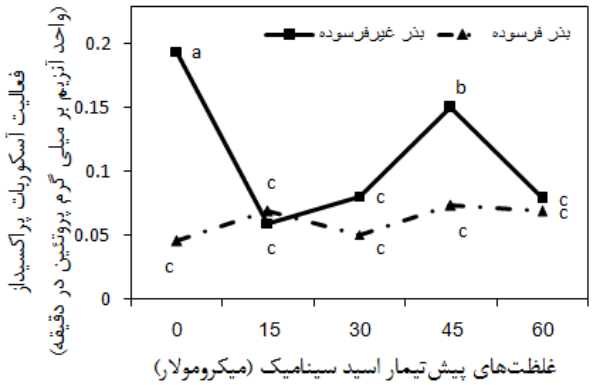


شکل ۴-۲۰. آنزیم پراکسیداز. تأثیر پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در بذرهای غیرفرسوده و فرسوده. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

۴-۱-۱۰-۴- آسکوربات پراکسیداز

اثر تمامی اثرات اصلی و متقابل برای این صفت در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شدند (جدول پیوست ۳). روند تغییرات مشاهده‌شده برای این آنزیم تحت تاثیر تیمارهای آزمایش تقریباً مشابه آنزیم کاتالاز بود. به‌گونه‌ای که فرسودگی بذر موجب شد که فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در بذرهای فرسوده پیش‌تیمار شده با آب مقطر (غلظت صفر اسید سینامیک) در مقایسه با بذرهای شاهد غیرفرسوده حدود ۷۷ درصد کمتر باشد. فعالیت این آنزیم در بذرهای فرسوده در پاسخ به غلظت‌های مختلف اسید سینامیک تغییر معنی‌داری نداشت. که می‌تواند حاکی از عدم تأثیر اسید سینامیک بر چرخه گلوتاتیون آسکوربات باشد. ولی پیش‌تیمار بذرهای غیرفرسوده با اسید سینامیک فعالیت این آنزیم را به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش داد به‌طوری که فعالیت ثبت‌شده برای این آنزیم در حد بذور فرسوده بود و با آن‌ها در پایین‌ترین گروه آماری قرار گرفت. البته پاسخ فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در بذر به پیش‌تیمار با غلظت ۴۵ میکرومولار متفاوت بود زیرا کاهش رخ داده در فعالیت آنزیم در این غلظت به‌طور قابل توجهی کمتر بود (شکل ۴-۲۱). آنزیم پراکسیداز اکسیداسیون طیف وسیعی از الکترون‌دهندگان را به کمک مولکول هیدروژن کاتالیز می‌نماید و نقش مهمی در جاروب

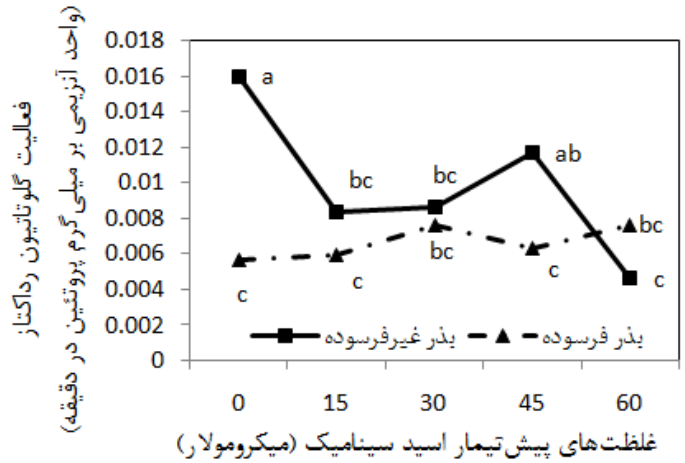
کردن پراکسید هیدروژن داخلی دارد. فعالیت این آنزیم همبستگی زیادی با درصد جوانه‌زنی بذرهای ذرت داشت (رضوانی و همکاران، ۲۰۱۷)



شکل ۴-۲۱. آنزیم آسکوربات پراکسیداز. تأثیر پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در بذرهای غیرفرسوده و فرسوده. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

۴-۱-۱۰-۵- گلوتاتیون رداکتاز

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به فعالیت این آنزیم حاکی از آن بود که اثر کیفیت بذر در سطح احتمال یک درصد و اثر متقابل کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شدند (جدول پیوست ۳). در سطح صفر پیش‌تیمار با اسید سینامیک فعالیت آنزیم گلوتاتیون رداکتاز در بذرهای فرسوده ۰/۰۰۵ واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه بود که به‌طور معنی‌دار و قابل ملاحظه‌ای کمتر از فعالیت آنزیم در بذرهای غیرفرسوده (۰/۰۱۶ واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) بود. میزان فعالیت این آنزیم در بذور فرسوده تحت تأثیر کاربرد غلظت‌های مختلف اسید سینامیک قرار نگرفت. ولی در بذرهای غیرفرسوده سطوح مختلف اسید سینامیک فعالیت آنزیم را در مقایسه با شاهد کاهش دادند. البته کاهش رخ داده در غلظت ۴۵ میکرومولار از نظر آماری معنی‌دار نبود (شکل ۴-۲۲).



شکل ۴-۲۲. آنزیم گلوتاتیون رداکتاز. تأثیر پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون رداکتاز در بذرهای غیرفرسوده و فرسوده. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

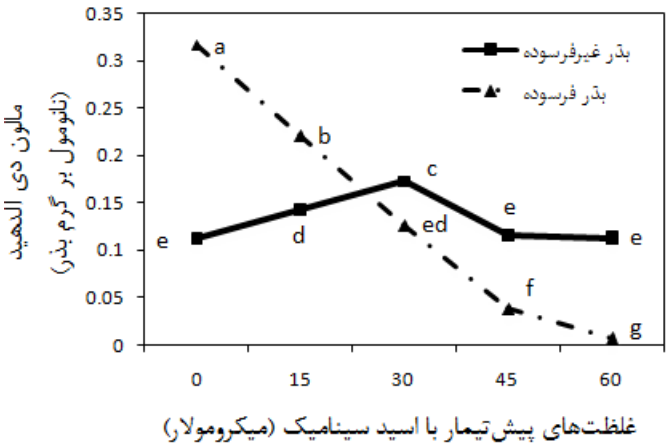
بذر مجهز به سیستم آنتی‌اکسیدان آنزیمی می‌باشد که سبب دفاع همه جانبه از آن در شرایط وقوع انواع تنش‌های زنده و غیرزنده می‌گردد. وظیفه این آنزیم‌ها حذف مولکول‌های ROS از سلول‌ها برای تضمین رشد و استقرار مناسب گیاه در مزرعه و نیز حصول عملکرد نهایی می‌باشد (یائو و همکاران، ۲۰۱۲). اسید سینامیک در پاسخ به تنش در بذرها و گیاهان تولید می‌شود (سینگ و همکاران، ۲۰۱۳). این متابولیت به دلیل داشتن خواص آللوپاتیک سبب بروز تنش خفیف در گیاهان می‌شود و از طریق به‌جای گذاشتن نوعی حافظه تنش در آن‌ها موجب تحریک فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌گردد (یی و همکاران، ۲۰۰۶) (چن و آرورا، ۲۰۱۳).

در این مطالعه، ظاهراً پس از انجام پیش‌تیمار غلظت‌های اسید سینامیک (به‌ویژه غلظت ۴۵ میکرومولار) در بذرهای فرسوده آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (به‌عنوان خط مقدم دفاعی) و کاتالاز به‌صورتی کارآمد عمل کرده‌اند، به‌طوری که دیگر نیازی به فعالیت سایر آنزیم‌ها نبوده است. به‌علاوه، قابل ذکر است که فعالیت بالای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش همیشه مزیت محسوب نمی گردد. زیرا در بعضی موارد عدم کارآمدی یک سیستم دفاعی سبب افزایش فعالیت یک آنزیم آنتی اکسیدان می‌گردد و در نتیجه هزینه انرژی سیستم بیولوژیک را افزایش می‌دهد. در مقابل، در صورتی

که در این سیستم بیولوژیک از ترکیبات دارای خواص آنتی‌اکسیدانی به‌صورت خارجی (پیش‌تیمار بذری یا محلول‌پاشی برگی) استفاده شده باشد احتمالاً دیگر نیازی به فعال کردن سیستم‌های آنزیمی ندارد.

۴-۱-۱۱- پراکسیداسیون لیپیدها

اثر کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک و برهم کنش آن‌ها در سطح احتمال یک درصد بر مقدار مالون دی آلدهید معنی‌دار شد (جدول پیوست ۳). در این مطالعه، برای بررسی میزان پراکسیداسیون لیپیدها در بذرهایی با کیفیت اولیه متفاوت تحت تیمار غلظت‌های مختلف اسید سینامیک، محتوای مالون دی‌آلدهید به‌عنوان نشانگر وقوع پراکسیداسیون لیپیدی اندازه‌گیری شد. بر اساس نتایج حاصل، فرسودگی بذر سبب افزایش ۲/۸ برابری محتوای مالون دی آلدهید در بذرهای فرسوده در مقایسه با بذرهای غیرفرسوده در سطح صفر اسید سینامیک گردید. اثر پیش‌تیمار بذرهای فرسوده با اسید سینامیک و افزایش غلظت آن میزان مالون دی‌آلدهید به‌طور پیوسته و معنی دار کاهش یافت. طوری که پیش‌تیمار بذرهای فرسوده با غلظت ۶۰ میکرومولار میزان مالون دی‌آلدهید را تا ۹۸ درصد کاهش داد. در بذرهای غیرفرسوده کاربرد غلظت‌های ۱۵ و ۳۰ میکرومولار منجر به افزایش پراکسیداسیون لیپیدی شد ولی دو غلظت بالاتر (۴۵ و ۶۰ میکرومولار) اثری بر این صفت نداشتند (شکل ۴-۲۳).

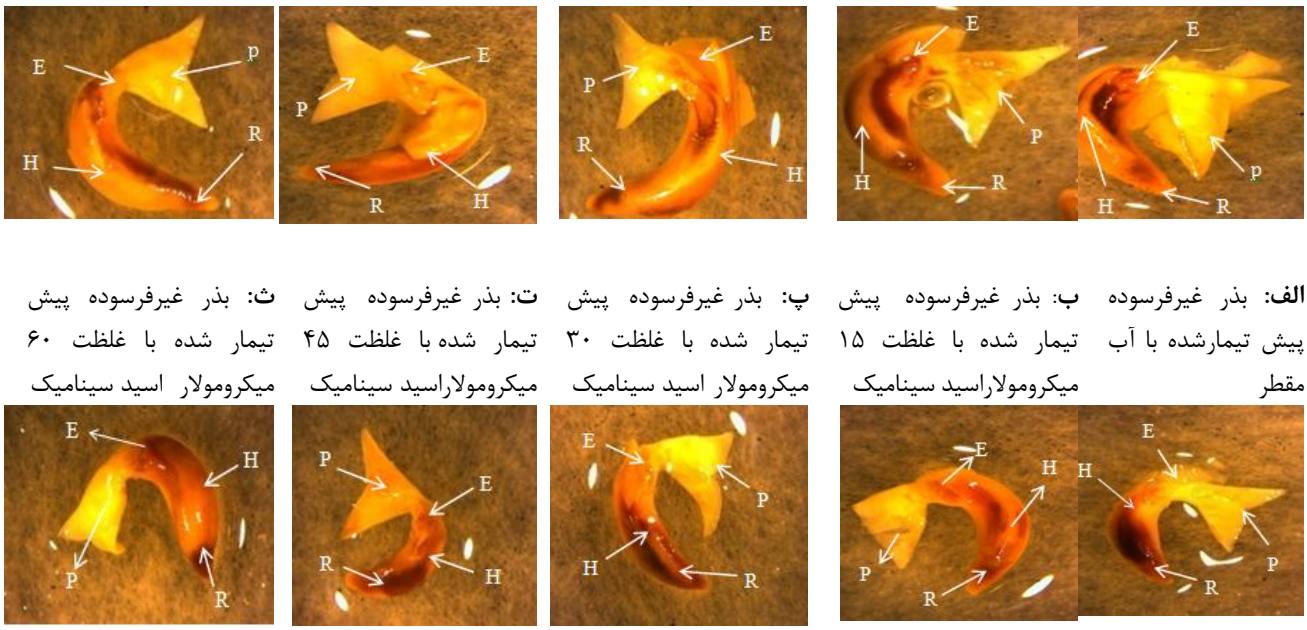


شکل ۴-۲۳. محتوای مالون دی آلدهید. تأثیر پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر محتوای مالون دی‌آلدهید در بذرهای غیرفرسوده و فرسوده. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

۴-۱-۱۲- مکان‌یابی تجمع گونه‌های فعال اکسیژن در جنین بذرهای غیرفرسوده و فرسوده

۴-۱-۱۲- ۱- مکان‌یابی مولکول‌های پراکسید هیدروژن

در شکل ۴-۲۴ محل تجمع پراکسید هیدروژن در جنین‌های به‌دست آمده از بذور فرسوده و غیرفرسوده تیمارشده با سطوح مختلف اسید سینامیک به رنگ قهوه‌ای مایل به قرمز قابل رؤیت می باشد تصاویر گویای تجمع بیشتر این گونه فعال اکسیژن در هیپوکوتیل و ریشه‌چه بذور فرسوده نسبت به بذور عادی است. در بین بذور فرسوده، بذرهای پیش‌تیمارشده با غلظت ۱۵ میکرومولار (شکل ۴-۲۴، چ) از وضعیت بهتری برخوردار بودند. شاید بتوان دلیل آن را فعالیت بیشتر آنزیم پراکسیداز در این ترکیب تیماری و اثر مثبت آن در مهار پراکسید هیدروژن عنوان کرد (شکل ۴-۲۰) . این در حالی است که در بذور غیرفرسوده بیشترین تجمع در همین تیمار (۱۵ میکرومولار اسید سینامیک) مشاهده می شود (شکل ۴-۲۴، ب). بررسی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز (شکل‌های ۴-۱۹ تا ۴-۲۱) نشان می‌دهد که کمترین فعالیت این آنزیم‌ها در بذور غیرفرسوده در این تیمار بوده است. در مقابل، فعالیت آنزیم پراکسیداز در بذور غیرفرسوده تیمارشده با غلظت ۴۵ میکرومولار بسیار بالا بود (شکل ۴-۲۰). به‌همین دلیل وضعیت مناسبی از لحاظ تجمع H_2O_2 در جنین این بذور مشاهده گردید (شکل ۴-۲۴، ت).



الف: بذر غیرفرسوده پیش تیمارشده با آب مقطر

ب: بذر غیرفرسوده پیش تیمار شده با غلظت ۱۵ میکرومولاراسید سینامیک

پ: بذر غیرفرسوده پیش تیمار شده با غلظت ۳۰ میکرومولار اسید سینامیک

ت: بذر غیرفرسوده پیش تیمار شده با غلظت ۴۵ میکرومولاراسید سینامیک

ث: بذر غیرفرسوده پیش تیمار شده با غلظت ۶۰ میکرومولار اسید سینامیک

ج: بذر فرسوده پیش تیمارشده با آب مقطر

چ: بذر فرسوده پیش‌تیمار شده با غلظت ۱۵ میکرومولار اسید سینامیک

ح: بذر فرسوده پیش‌تیمار شده با غلظت ۳۰ میکرومولار اسید سینامیک

خ: بذر فرسوده پیش تیمار شده با غلظت ۴۵ میکرومولار اسید سینامیک

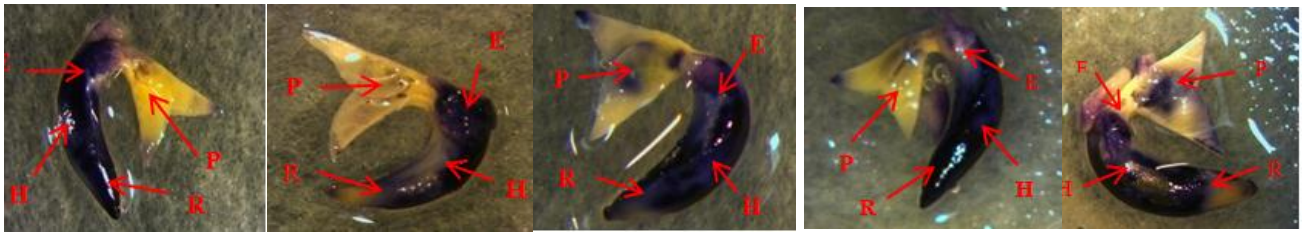
د: بذر فرسوده پیش تیمار شده با غلظت ۶۰ میکرومولار اسید سینامیک

شکل۴-۲۴. مکان‌یابی تجمع مولکول‌های پراکسید هیدروژن به روش هیستوکیمیکال .تأثیر پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر مکان تجمع مولکول‌های پراکسید هیدروژن در جنین بذرهای غیرفرسوده و فرسوده .رنگ قهوه‌ای تیره مایل به قرمز بیانگر تجمع پراکسید هیدروژن می‌باشد :P .پلومول ، E : اپی کوتیل، H: هیپوکوتیل، R: ریشه‌چه

۴-۱-۱۲- ۲- مکان‌یابی رادیکال‌های آزاد سوپراکسید ($O_2^{\cdot-}$)

مقایسه سطوح مختلف پیش‌تیمار با اسید سینامیک در بذرهای غیرفرسوده نشان داد که در بذرهایی که با این غلظت ۴۵ میکرومولار پیش‌تیمار شده بودند (شکل ۴-۲۵، ت)، میزان تجمع رادیکال آزاد $O^{\cdot 2-}$ در برگچه‌ها، هیپوکوتیل و ریشه‌چه کمتر بود. پس از آن غلظت ۶۰ میکرومولار قرار داشت که برگچه‌های جنین تقریباً فاقد تجمع رادیکال سوپراکسید بودند (شکل ۴-۲۵، ث). بررسی مجدد شکل ۴-۱۸ نشان می‌دهد به جز گیاهان شاهد که دارای فعالیت بالایی از آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بودند، در بین چهار غلظت دیگر اسید سینامیک، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در غلظت ۴۵ میکرومولار از بقیه بالاتر بود. البته با توجه به نتایج به‌دست آمده از اثر مستقیم خود اسید سینامیک در غلظت مناسب به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان نباید غافل شد. چرا که در گیاهان شاهد فعالیت آنزیم یادشده بالا بود ولی به‌دلیل فقدان اسید سینامیک تجمع رادیکال سوپراکسید در نقاط مختلف جنین مشاهده گردید. بنابراین

تلفیق فعالیت بالای آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و حضور اسید سینامیک را می‌توان در رقم خوردن این نتیجه مؤثر دانست. در بخش‌های مختلف بافت‌های جنینی بذرهای فرسوده (به استثنای بخش‌هایی از برگ‌چه‌ها) تجمع مقادیر زیادی رادیکال آزاد $O^{\cdot 2-}$ مشاهده گردید. مقایسه تیمارها نشان داد که در بذور فرسوده نیز در شرایط پیش‌تیمار با غلظت۴۵ میکرومولار اسید سینامیک (شکل ۴-۲۵، خ) مقدار تجمع این رادیکال در برگچه‌ها کمتر بود. پس از آن غلظت ۱۵ میکرومولار قرار داشت (شکل ۴-۲۵،چ). شایان ذکر است که در بذور فرسوده بالاترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در پیش‌تیمار با غلظت ۴۵ میکرومولار اسید سینامیک ثبت گردید (شکل ۴-۱)



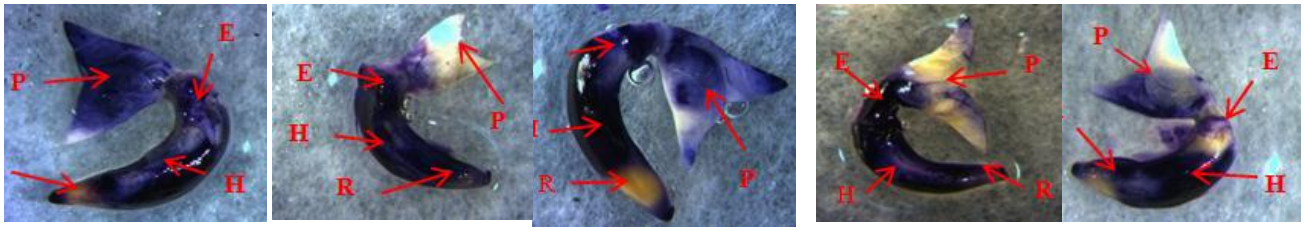
الف: بذر غیرفرسوده پیش تیمارشده با آب مقطر

ب: بذر غیرفرسوده پیش تیمار شده با غلظت ۱۵ میکرومولاراسید سینامیک

پ: بذر غیرفرسوده پیش تیمار شده با غلظت ۳۰ میکرومولار اسید سینامیک

ت: بذر غیرفرسوده پیش تیمار شده با غلظت ۴۵ میکرومولاراسید سینامیک

ث: بذر غیرفرسوده پیش تیمار شده با غلظت ۶۰ میکرومولار اسید سینامیک



ج: بذر فرسوده پیش تیمار شده با آب مقطر

چ: بذر فرسوده پیش‌تیمار شده با غلظت ۱۵ میکرومولار اسید سینامیک

ح: بذر فرسوده پیش‌تیمار شده با غلظت ۳۰ میکرومولار اسید سینامیک

خ: بذر فرسوده پیش تیمار شده با غلظت ۴۵ میکرومولاراسید سینامیک

د: بذر فرسوده پیش تیمار شده با غلظت ۶۰ میکرومولار اسید سینامیک

شکل ۴-۲۵. مکان‌یابی تجمع رادیکال‌های آزاد $O_2^{\cdot -}$ به روش هیستوکیمیکال. تأثیر پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر مکان تجمع رادیکال‌های آزاد $O_2^{\cdot -}$ در جنین بذرهای غیرفرسوده و فرسوده. رنگ آبی تیره بیانگر تجمع رادیکال سوپراکسید می‌باشد. P: پلومول، E : اپی کوتیل، H: هیپوکوتیل R: ریشه چه

۴-۲- صفات بررسی شده در بخش مزرعه‌ای

۴-۲-۱- ماده خشک اندام‌های هوایی

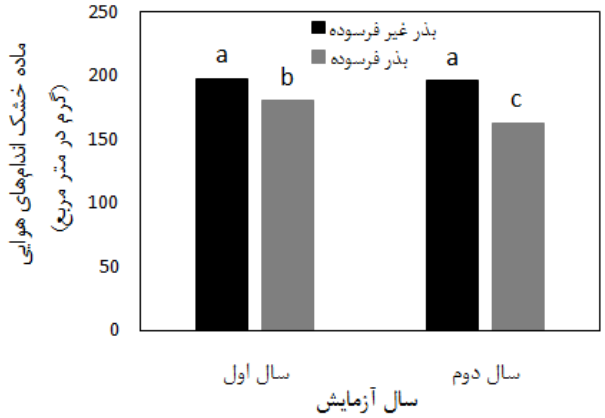
تجزیه مرکب داده‌های تجمع ماده خشک نشان داد که از میان منابع تغییر، اثر سال در سطح احتمال ۵ درصد، کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار با اسید سینامیک و نیز محلول‌پاشی آن در سطح احتمال یک درصد، اثرات متقابل سال و کیفیت اولیه بذر، سال و پیش‌تیمار بذر و نیز اثر چهارجانبه سال، کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی اسید سینامیک در سطح احتمال ۵ درصد، همچنین برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با اسید سینامیک، کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی اسید سینامیک، پیش تیمار و محلول‌پاشی این ماده و نیز اثر سه‌جانبه کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی همگی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شدند. اثر سه‌جانبه پیش‌تیمار، محلول‌پاشی و سال در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول پیوست ۴).

در هر دو سال تجمع ماده خشک در اندام‌های هوایی گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده در مقایسه با گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. این تفاوت در سال اول معادل ۸ درصد و در سال دوم معادل ۱۸ درصد بود (شکل ۴-۲۶).

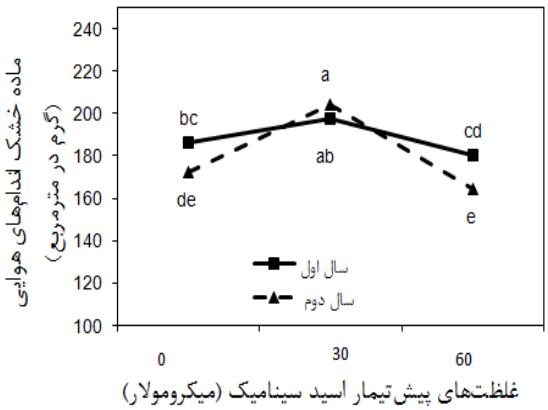
در سال اول، گیاهان حاصل از بذرهای پیش‌تیمار شده با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک از نظر این صفت تفاوت معنی‌داری با سطح صفر نداشتند. البته بین غلظت‌های ۳۰ و ۶۰ میکرومولار اسید سینامیک پیش‌تیمار شده در این سال اختلاف معنی‌دار وجود داشت. طوری که گیاهان حاصل از بذرهای پیش‌تیمار شده با غلظت ۳۰ میکرومولار ماده خشک بیشتری در مقایسه با غلظت بالاتر داشتند. در سال دوم نیز پیش‌تیمار با غلظت پایین‌تر اسید سینامیک به تولید ماده خشک بیشتری انجامید که این مقدار افزایش در مقایسه با دو سطح دیگر معنی‌دار بود (شکل ۴-۲۷). گیاهان حاصل از بذرهایی با کیفیت اولیه متفاوت که با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک پیش‌تیمار شده بودند، واکنش متفاوتی به این متابولیت از نظر تجمع ماده خشک نشان دادند. طوری که در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده پیش‌تیمار اسید سینامیک موجب افت شدید تجمع ماده خشک به‌ترتیب معادل ۱۲/۲۵ درصد و ۳۷/۱۳ درصد در غلظت های ۳۰ و ۶۰ میکرومولار گردید. اما در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده پیش تیمار این ترکیب به افزایش قابل ملاحظه ۴۰ و ۲۴ درصدی برای غلظت‌های ۳۰ و ۶۰ میکرومولار منتهی شد (شکل ۴-۲۸). در شکل ۴-۲۹ ملاحظه می‌گردد که اگرچه اختلافی بین ماده خشک گیاهان حاصل از بذور فرسوده و غیرفرسوده در سطح صفر محلول‌پاشی با اسید سینامیک وجود نداشت، ولی محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار اسید سینامیک و دو برابر شدن غلظت آن به‌طور معنی‌داری ماده

خشک کل گیاهان حاصل از بذور فرسوده را کاهش داد. از این رو، کمترین ماده خشک در ترکیب تیماری بذور فرسوده و محلول‌پاشی با غلظت ۶۰ میکرومولار اسید سینامیک ثبت گردید. در مقابل، انجام محلول‌پاشی در گیاهان حاصل از بذور غیرفرسوده اثر معنی‌داری نداشت. البته ماده خشک گیاهان دریافت‌کننده غلظت ۶۰ میکرومولار کمتر از غلظت ۳۰ میکرومولار بود.

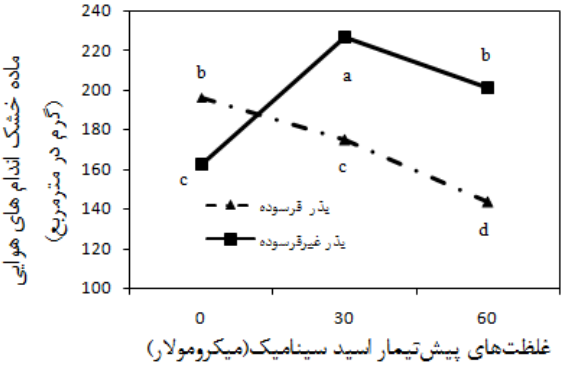
در شکل ۴-۳۰ نشان داده شده است که بیشترین مقدار تجمع ماده خشک از تیمار شاهد و نیز پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار به‌دست آمد. سایر ترکیبات تیماری این صفت را به طور معنی‌داری کاهش دادند. کمترین مقدار ماده خشک نیز از پیش‌تیمار با غلظت ۳۰ میکرومولار به تنهایی و نیز پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۶۰ میکرومولار به‌دست آمد. در واقع بالا رفتن غلظت داخلی این متابولیت با اعمال هر دو تیمار بر این صفت اثر کاهشی داشته است. از بررسی اثرات سه‌گانه کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی اسید سینامیک مشخص گردید بیشترین میزان تجمع ماده خشک در تیمار عدم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی اسید سینامیک در بذرهای فرسوده و پیش‌تیمار و محلول پاشی توأم با غلظت ۳۰ میکرومولار در بذرهای غیرفرسوده مشاهده شد. به طور کلی کاربرد اسید سینامیک در بذرهای فرسوده و گیاهان حاصل از آن‌ها موجب کاهش معنی دار تجمع ماده خشک در مقایسه با سطح صفر این ماده گردید. در بذرهای غیرفرسوده ترکیبات تیماری پیش‌تیمار با غلظت ۳۰ و محلول‌پاشی غلظت ۶۰ میکرومولار، پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ بدون محلول‌پاشی و نیز پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار مرتبه بعدی را در میزان این صفت در مقایسه با شاهد به خود اختصاص دادند (جدول پیوست ۵). بررسی اثر سه‌گانه سال، پیش‌تیمار و محلول پاشی نیز نشان داد بیشترین مقدار این صفت در سال اول از شرایط عدم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی اسید سینامیک و در سال دوم از پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار به‌دست آمد (جدول پیوست ۶). بررسی اثرات چهارگانه حاکی از آن بود که نظیر آنچه در بررسی اثرات سه‌گانه مشاهده گردید، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های بالاتر اسید سینامیک سبب کاهش تجمع ماده خشک گردید. این در حالی بود که بیشترین میزان این صفت از تیمار شاهد در سال اول و نیز پیش‌تیمار و محلول‌پاشی بذرهای غیرفرسوده با غلظت پایین‌تر در سال دوم حاصل شد (جدول پیوست ۷).



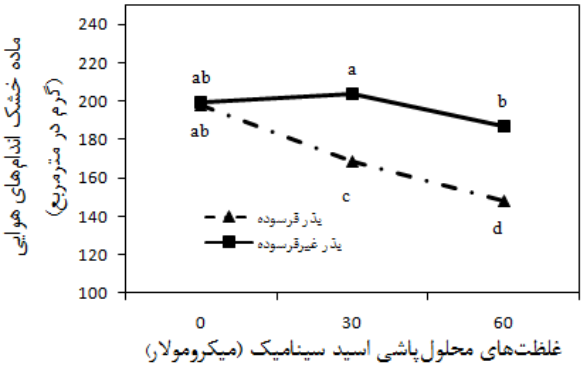
شکل ۴-۲۶. تجمع ماده خشک. تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و سال بر تجمع ماده خشک. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



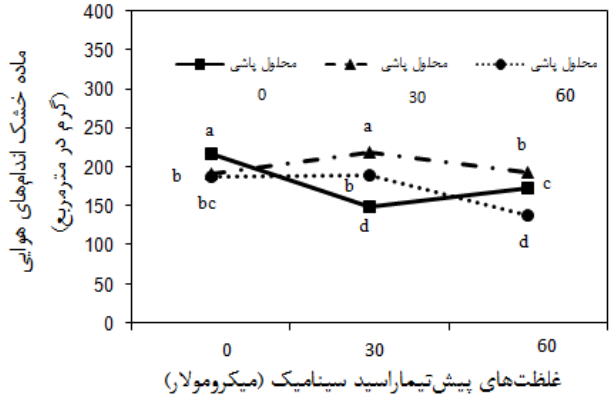
شکل ۴-۲۷. تجمع ماده خشک. تاثیر برهم‌کنش پیش‌تیمار بذر و سال بر تجمع ماده خشک. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴-۲۸. تجمع ماده خشک. تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر تجمع ماده خشک. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴-۲۹. تجمع ماده خشک. تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر تجمع ماده خشک. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴-۳۰. تجمع ماده خشک. تأثیر برهم‌کنش پیش‌تیمار و محلول پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر تجمع ماده خشک. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

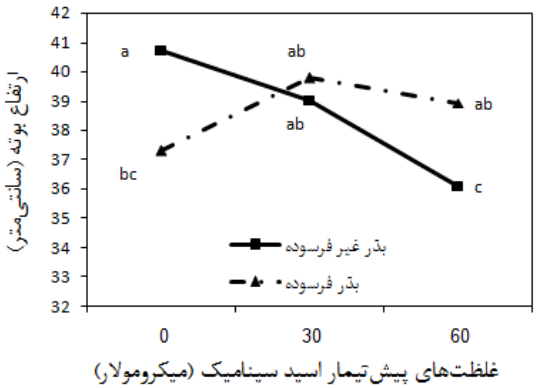
۴-۲-۲- ارتفاع بوته

آنالیز داده‌های این صفت نشان داد که از بین اثرات اصلی فقط اثر محلول‌پاشی با اسید سینامیک در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. همچنین اثر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در سطح احتمال یک درصد، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در سطح احتمال ۵ درصد و نیز اثر سه‌جانبه کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار با غلظت‌های اسید سینامیک و محلول‌پاشی آن در سطح احتمال یک درصد بر ارتفاع بوته معنی‌دار شدند. (جدول پیوست ۴).

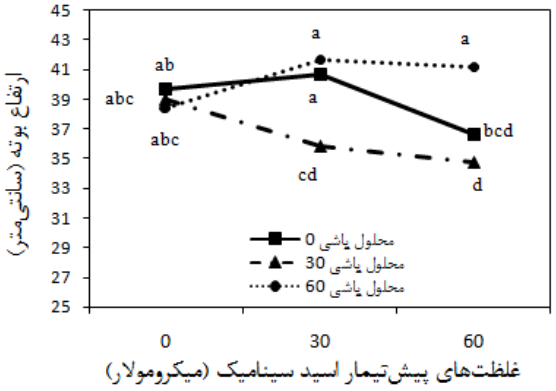
در شکل ۴-۳۱ مشاهده می‌شود که در شرایط عدم پیش‌تیمار اسید سینامیک متوسط ارتفاع گیاهان حاصل از بذور غیرفرسوده ۴۰/۷۳ سانتی‌متر بود که در اثر فرسودگی بذر با ۸/۳۹ درصد کاهش به ۳۷/۳۱ سانتی‌متر رسید. پیش‌تیمار بذرهای فرسوده با اسید سینامیک ارتفاع بوته‌های حاصل را بهبود بخشید. هرچند این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود ولی با توجه به اینکه ارتفاع بوته‌ها به حد گیاهان شاهد رسید و با آن در یک گروه آماری برتر قرار گرفت، قابل‌توجه بود. در بوته‌های حاصل از بذرهای غیرفرسوده غلظت ۳۰ میکرومولار بی‌تأثیر بود. ولی غلظت ۶۰ میکرومولار موجب کاهش بیش از ۱۱ درصدی این صفت گردید (شکل ۴- ۳۱). همان‌طور که در شکل ۴-۳۲ قابل مشاهده می‌باشد در

شرایطی که بذرها با اسید سینامیک پیش‌تیمار نشده بودند، محلول‌پاشی غلظت‌های این ترکیب تغییری در ارتفاع بوته ایجاد نکرد. در وضعیتی که بذرها قبل از کاشت با غلظت ۳۰ میکرومولار پیش‌تیمار شده بودند، عدم محلول‌پاشی و محلول‌پاشی با بالاترین غلظت اسید سینامیک سبب تولید بوته‌هایی با ارتفاع بیشتر گردید. در پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار نیز بیشترین ارتفاع در بوته‌های محلول‌پاشی شده با غلظت ۶۰ میکرومولار مشاهده گردید. در مجموع، هیچ‌کدام از ترکیبات تیماری اثر مثبتی بر ارتفاع بوته نسبت به شاهد نداشتند ولی محلول‌پاشی غلظت ۳۰ میکرومولار روی گیاهان حاصل از بذور پیش تیمارشده با اسید سینامیک اثر منفی و معنی‌دار بر این صفت داشت. بررسی اثر سه جانبه کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک نیز حاکی از آن بود که بیشترین تعداد شاخه فرعی در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده در مقایسه با گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده پیش‌تیمار نشده در شرایط عدم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار و کمترین تعداد در شرایط پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار و محلول‌پاشی غلظت ۳۰ میکرومولار به‌دست آمد. در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده کمترین مقدار این صفت در ترکیبات تیماری عدم پیش‌تیمار و محلول پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار، عدم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۶۰ میکرومولار، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار و نیز پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار و عدم محلول‌پاشی مشاهده گردید. سایر ترکیبات تیماری با شاهد اختلاف معنی‌داری نداشتند (جدول پیوست ۵).

بررسی گیاه کاهو توسط افتخار حسین و همکاران (۲۰۱۱) نشان داد که کاربرد اسید سینامیک سبب کاهش ارتفاع بوته می‌گردد. این نتیجه می‌تواند در اثر خاصیت آللوپاتی این ترکیب باشد.



شکل ۴-۳۱. ارتفاع بوته. تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر ارتفاع بوته. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴-۳۲. ارتفاع بوته. تاثیر برهم‌کنش پیش‌تیمار و محلول پاشی غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر ارتفاع بوته. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

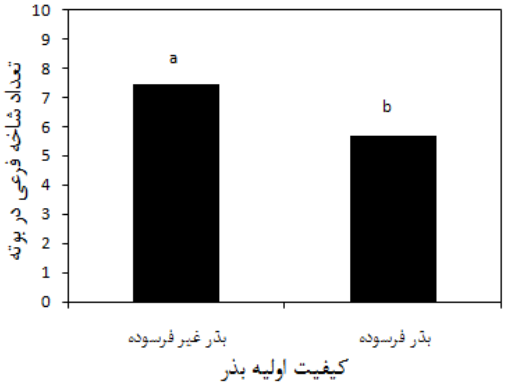
۴-۲-۳- تعداد شاخه فرعی

اثر کیفیت اولیه بذر ($P<۰/۰۱$)، پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک و نیز اثرات متقابل پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک ($P<۰/۰۵$) و نیز برهم‌کنش پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک و محلول‌پاشی این غلظت‌ها ($P<۰/۰۱$) و اثر سه‌جانبه تیمارها ($P<۰/۰۱$) بر تعداد شاخه فرعی در بوته معنی‌دار شدند. اثر سال بر این صفت معنی‌دار نبود (جدول پیوست ۴).

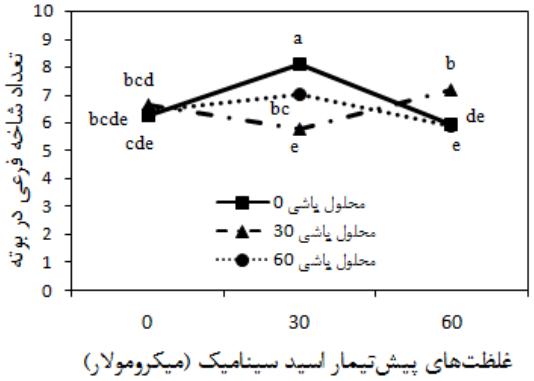
تعداد شاخه فرعی در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده حدود ۲۴ درصد کمتر از گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده بود (شکل ۴-۳۳). همین امر سبب شد تا تعداد غلاف در بوته در این گیاهان کمتر شود که در نهایت میزان عملکرد نهایی در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده اثر منفی داشت. در بررسی ترکیبات تیماری حاصل از پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک و محلول‌پاشی این غلظت‌ها مشخص گردید که بیشترین تعداد شاخه فرعی از ترکیب تیماری پیش‌تیمار با غلظت ۳۰ میکرومولار بدون محلول‌پاشی اسید سینامیک حاصل گردید (شکل ۴-۳۴). از بررسی اثر سه جانبه کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک مشخص گردید بین ترکیبات تیماری مربوط به گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده از نظر تعداد شاخه فرعی تفاوت معنی‌داری با شاهد وجود نداشت. در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده بیشترین تعداد شاخه فرعی در ترکیب تیماری

پیش‌تیمار با غلظت ۳۰ میکرومولار و عدم محلول‌پاشی و کمترین تعداد در ترکیب تیماری پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار به‌دست آمد (جدول پیوست ۵).

به‌طور کلی نتایج نشان داد بالا رفتن غلظت داخلی اسید سینامیک در اثر انجام پیش‌تیمار و سپس محلول‌پاشی یکی از غلظت‌های این متابولیت بر تعداد شاخه جانبی گیاه لوبیا چشم بلبلی اثر بازدارندگی دارد. نتایج مطالعه مادی (۲۰۰۹) روی گیاه گوجه‌فرنگی پس از محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک به عنوان یکی از مشتقات اسید سینامیک نشان‌دهنده افزایش تعداد شاخه فرعی بود.



شکل ۴-۳۳. تعداد شاخه فرعی در بوته. تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر بر تعداد شاخه فرعی در بوته. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می باشد.



شکل ۴-۳۴. تعداد شاخه فرعی در بوته. تأثیر برهم‌کنش پیش تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک و محلول‌پاشی این غلظت‌ها. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

۴-۲-۴- اجزای عملکرد

مؤلفه‌های عملکرد نهایی در لوبیا چشم بلبلی شامل تعداد دانه در غلاف، تعداد غلاف در بوته و وزن هزاردانه می‌باشند.

۴-۲-۴-۱-تعداد غلاف در بوته

نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به تعداد غلاف در بوته نشان داد که اثر کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک و برهم‌کنش آن‌ها در سطح احتمال یک درصد، همچنین برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر با پیش تیمار و محلول پاشی محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف

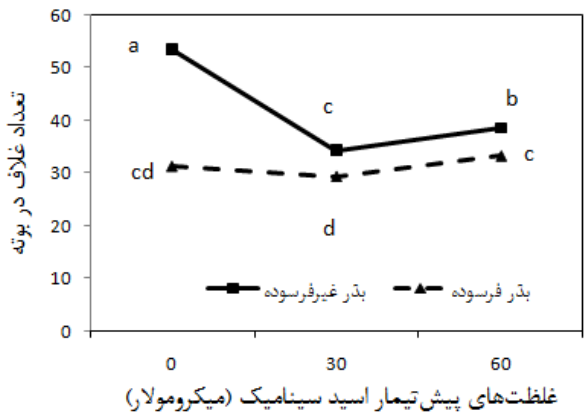
اسید سینامیک و اثر سه‌گانه تیمارها در سطح احتمال یک درصد بر این صفت معنی‌دار بود (جدول پیوست۴).

همان‌طور که در شکل‌های ۴-۳۵ و ۴-۳۶ نشان داده شده است، در شرایط عدم حضور اسید سینامیک تعداد غلاف در بوته گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده در مقایسه با گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده حدود ۴۳ درصد بیشتر بود. شکل۴-۳۵ نشان می‌دهد که پیش‌تیمار بذرهای فرسوده با اسید سینامیک تأثیری بر مقدار این صفت نداشته است. در حالی که پیش‌تیمار بذری اسید سینامیک سبب کاهش معنی‌دار این صفت در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده در مقایسه با شاهد گردید. به طوری که پیش تیمار با غلظت های ۳۰ و ۶۰ میکرومولار در بذرهای غیرفرسوده موجب کاهش تعداد غلاف در بوته به میزان به ترتیب ۳۶ و ۲۸ درصد گردید. محلول‌پاشی اسید سینامیک نیز با دو غلظت یادشده در این گیاهان منجر به کاهش به‌ترتیب ۱۳ و ۲۴ درصدی این صفت گردید (شکل ۴-۳۶). احتمالاً با اعمال این تیمارها مقادیر داخلی این متابولیت افزایش یافته و سبب بروز تنش اکسیداتیو منتهی به کاهش این صفت گردیده است.

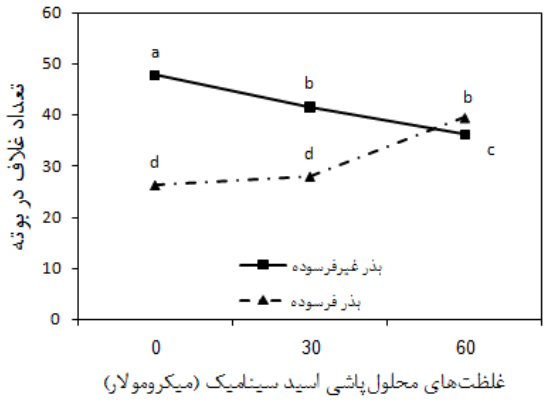
نتایج نشان داد که محلول‌پاشی گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده با غلظت ۶۰ میکرومولار اسید سینامیک تا حدی اثر منفی ناشی از فرسودگی را خنثی و افزایش معنی‌دار این صفت را در پی داشت در حالی که اثر غلظت پایین‌تر معنی‌دار نبود. از بررسی برهم‌کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت های مختلف اسید سینامیک مشخص گردید که بیشترین تعداد غلاف در بوته معادل حدوداً ۴۷ غلاف در گیاهان محلول‌پاشی شده با غلظت ۳۰ میکرومولار بدون پیش‌تیمار بذری با اسید سینامیک مشاهده شد. در حالی که این تعداد در گیاهان شاهد حدوداً ۳۸ غلاف در بوته بود و پایین‌ترین مقدار ثبت‌شده در بوته‌های پیش‌تیمار و محلول‌پاشی‌شده با غلظت ۳۰ میکرومولار معادل ۲۶ غلاف بود (شکل۴-۳۷). نتایج بررسی اثر سه‌جانبه کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی اسید سینامیک با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک نشان داد در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده بیشترین تعداد غلاف در بوته در ترکیب تیماری عدم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار و کمترین تعداد در ترکیب

تیماری پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار و نیز پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۶۰ میکرومولار به‌دست آمد. در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده، ترکیب تیماری پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۶۰ میکرومولار دارای بیشترین تعداد غلاف در بوته بود. در حالی که سایر ترکیبات تیماری به جز عدم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۶۰ میکرومولار در مقایسه با تیمار عدم کاربرد اسید سینامیک دارای کمترین تعداد غلاف در بوته بودند (جدول پیوست ۵).

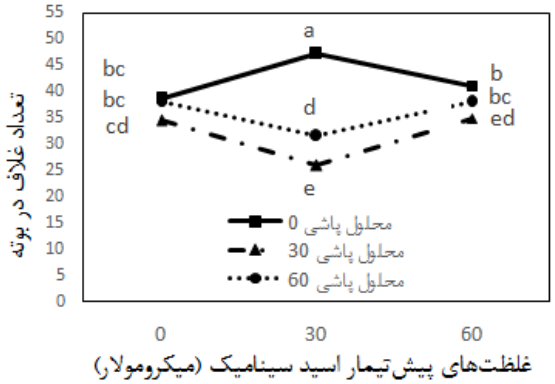
بررسی اثرات سه‌گانه کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسید سینامیک حاکی از آن بود که ترکیب تیماری عدم پیش‌تیمار با اسید سینامیک و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده بیشترین تعداد غلاف در بوته را دارد (جدول پیوست ۵).



شکل ۴-۳۵. تعداد غلاف در بوته. تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر تعداد غلاف در بوته. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴-۳۶. تعداد غلاف در بوته. تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر تعداد غلاف در بوته. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴-۳۷. **تعداد غلاف در بوته**. تأثیر برهم کنش پیش‌تیمار و محلول پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر تعداد غلاف در بوته. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

۴ – ۲-۴-۲-تعداد دانه در غلاف

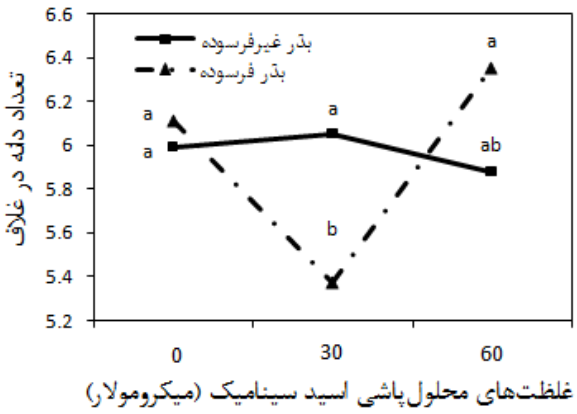
اثرات متقابل کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی اسید سینامیک در سطح احتمال ۵ درصد، پیش‌تیمار با اسید سینامیک و محلول‌پاشی آن در سطح احتمال یک درصد و نیز اثر سه‌جانبه کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در سطح احتمال یک درصد بر تعداد دانه در غلاف معنی‌دار بود. همچنین اثر سال بر این صفت معنی‌دارگردید (جدول پیوست ۴).

فرسودگی بذر تأثیری بر تعداد دانه در غلاف گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده در مقایسه با بذرهای غیرفرسوده نداشت (شکل ۴-۳۸). گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده به محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسید سینامیک واکنش متفاوتی نشان دادند. طوری که کاربرد غلظت پائین‌تر موجب افت حدود ۱۲ درصدی در این صفت شد در حالی که محلول‌پاشی با غلظت بالاتر اثر معنی‌داری نداشت و تعداد غلاف در بوته در حد تعداد آن در گیاهان تیمارنشده یعنی حدود ۶ بذر در غلاف بود. این جزء عملکردی در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده تحت تأثیر محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک قرار نگرفت (شکل ۴-۳۸).

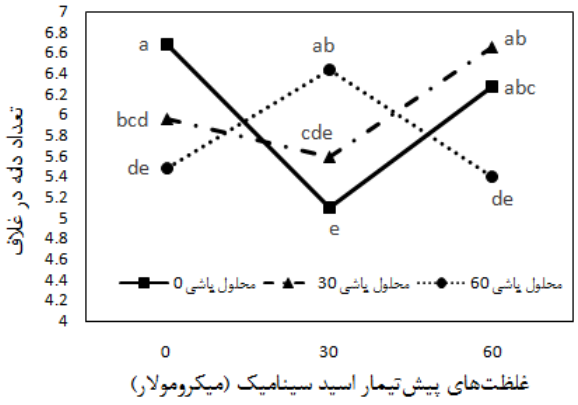
همانطور که در شکل ۴-۳۹ نشان داده شده است هیچ‌یک از ترکیبات تیماری مورد مطالعه نتوانست تعداد دانه در غلاف را نسبت به شاهد بهبود دهد. گیاهان شاهد (عدم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با اسید

سینامیک)، همراه با ترکیبات تیماری عدم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی اسید سینامیک با غلظت ۶۰ میکرومولار، پیش‌تیمار با غلظت ۳۰ و محلول‌پاشی غلظت ۶۰ میکرومولار و نیز پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ و محلول‌پاشی با ۳۰ میکرومولار از نظر تولید بیشترین تعداد دانه در غلاف در یک گروه آماری قرار گرفتند.

همچنین مقایسه میانگین اثرات سه‌گانه کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با اسید سینامیک برای این صفت نشان داد در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده کمترین تعداد دانه در غلاف از ترکیب تیماری پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با بالاترین غلظت اسید سینامیک به‌دست آمد. سایر ترکیبات تیماری با شاهد اختلاف معنی‌داری نداشتند. در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده بیشترین تعداد از ترکیب تیماری عدم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار و کمترین مقدار این صفت از ترکیب تیماری پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار حاصل شد (جدول پیوست ۵).



شکل ۴-۳۸. تعداد دانه در غلاف. تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر تعداد دانه در غلاف. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



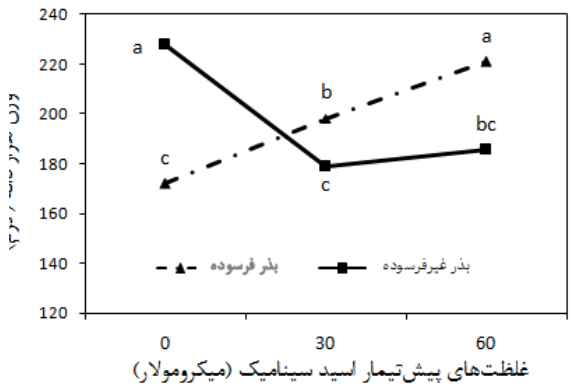
شکل ۴-۳۹. تعداد دانه در غلاف. تأثیر برهم‌کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر تعداد دانه در غلاف. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

۴ – ۲-۴-۳- وزن هزاردانه

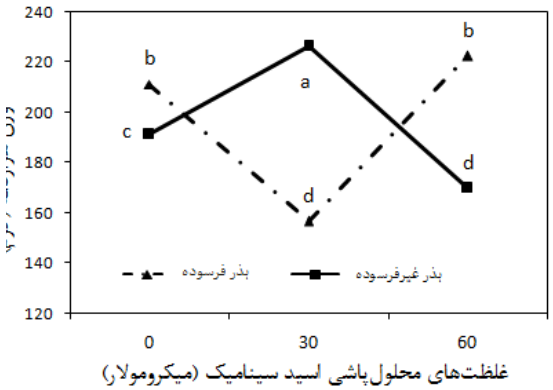
از میان منابع تغییر، تنها اثرات دوجانبه و سه‌جانبه تیمارهای آزمایش شامل کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار و محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در سطح احتمال یک درصد بر صفت وزن هزاردانه معنی‌دار بودند (جدول پیوست ۴).

همان‌طور که در شکل ۴-۴۰ مشخص می‌باشد در سطح صفر اسید سینامیک، وزن هزاردانه در گیاهان حاصل از بذور غیرفرسوده ۲۲۷/۶۹ گرم و در گیاهان رشد یافته از بذور فرسوده ۱۷۱/۹۳ گرم بود که اختلافی حدود ۵۶ گرم را نشان می‌دهد. پیش‌تیمار با دو غلظت‌اسید سینامیک سبب افزایش معنی‌دار وزن هزاردانه گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده گردید. طوری که کاربرد و افزایش غلظت پیش تیمار اسید سینامیک از صفر تا ۳۰ و سپس ۶۰ میکرومولار افزایشی به‌ترتیب ۱۳/۲۴ و ۲۲/۱۸ درصد را در این صفت در پی داشت. در مقابل پیش‌تیمار بذرهای غیرفرسوده با غلظت‌های اسید سینامیک موجب کاهش قابل‌ملاحظه و معنی‌دار وزن هزاردانه این گیاهان در مقایسه با شاهد گردید. البته بین دو غلظت اسید سینامیک از این لحاظ اختلافی وجود نداشت. محلول‌پاشی این ترکیب با غلظت‌های مورد مطالعه نیز سبب بروز پاسخ‌های متفاوتی در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده و فرسوده گردید، به‌طوری که کاربرد برگی غلظت ۳۰ میکرومولار این متابولیت در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده منجر به کاهش شدید وزن هزاردانه گردید. اما غلظت بالاتر آن بی‌تأثیر بود. در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده محلول‌پاشی با همین غلظت (۳۰ میکرومولار) افزایش معنی‌دار و غلظت بالاتر (۶۰ میکرومولار) کاهش معنی‌دار در مقایسه با سطح صفر را در پی داشت (شکل ۴-۴۱). همچنین بررسی ترکیبات تیماری حاصل از پیش‌تیمار و محلول‌پاشی غلظت‌های اسید سینامیک نشان داد که بیشترین مقدار وزن هزاردانه از ترکیب تیماری عدم پیش‌تیمار اسید سینامیک و محلول‌پاشی غلظت ۳۰ میکرومولار و نیز پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار و عدم محلول‌پاشی به‌دست آمد. دو ترکیب تیماری یادشده به همراه ترکیب تیماری پیش‌تیمار با غلظت ۳۰ و محلول‌پاشی با غلظت ۶۰ میکرومولار توانستند این صفت را به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد ارتقاء بخشند (شکل ۴- ۴۲). مطالعه اثرات سه‌گانه نشان داد

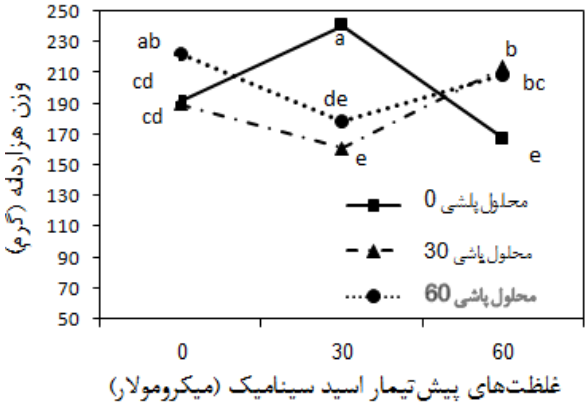
که ترکیب تیماری عدم پیش‌تیمار با اسید سینامیک و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار این ماده در بذرهای غیرفرسوده بیشترین وزن هزاردانه را رقم زد (جدول پیوست ۵).



شکل ۴-۴۰. وزن هزاردانه. تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر وزن هزار دانه. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴-۴۱. وزن هزاردانه. تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر وزن هزار دانه. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴-۴۲. وزن هزاردانه. تأثیر برهم‌کنش پیش‌تیمار و محلول پاشی غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر وزن هزاردانه. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

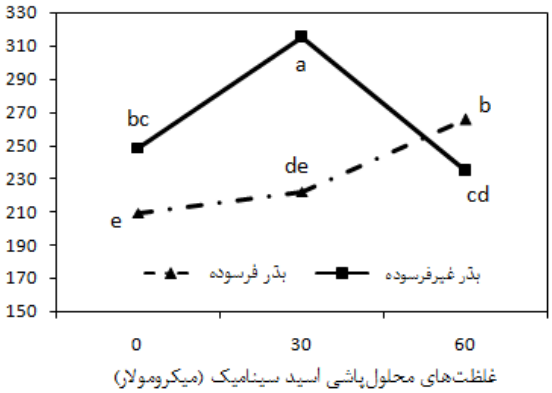
۴-۲-۵- عملکرد

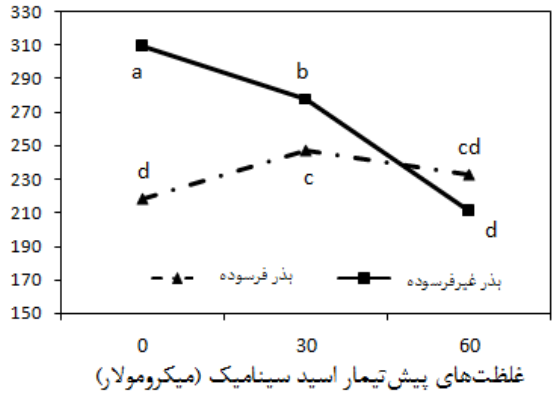
عملکرد دانه به‌طور معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار بذری اسید سینامیک، محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک و اثر دوجانبه و سه‌جانبه این تیمارها قرار گرفت. همچنین اثر سال و برهم‌کنش آن با سایر تیمارها بر این صفت معنی‌دار نگردید (جدول پیوست ۴). میزان عملکرد نهایی گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده در شرایط عدم پیش تیمار با اسید سینامیک به‌طور قابل ملاحظه‌ای (حدود ۳۰ درصد) بالاتر از مقدار آن در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده در شرایط مشابه بود و در گروه برتر آماری قرار گرفت. سایر ترکیبات تیماری مورد مطالعه این صفت را به‌طور معنی‌داری کاهش دادند (شکل ۴-۴۳). نتیجه پیش‌تیمار بذرهای فرسوده با غلظت ۳۰ میکرومولار اسید سینامیک افزایش ۱۲ درصدی در میزان عملکرد نهایی در مقایسه با بوته های حاصل از بذور فرسوده تیمارنشده با اسید سینامیک بود که فقط بخش کوچکی از کاهش رخ داده ناشی از فرسودگی را جبران نمود. بالا بردن غلظت اسید سینامیک در این شرایط بی‌تأثیر بود. در بوته های حاصل از بذرهای غیرفرسوده پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف این متابولیت سبب کاهش قابل توجه عملکرد نهایی گردید. این بدان معناست که پیش‌تیمار بذرهای غیرفرسوده با این ترکیب احتمالاً سبب افزایش مقادیر داخلی و در نتیجه تحریک بروز سطوحی از تنش اکسیداتیو گردیده که در نهایت کاهش عملکرد را در پی داشته است.

در بررسی پاسخ گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده به محلول‌پاشی اسید سینامیک مشخص گردید که غلظت ۶۰ میکرومولار سبب افزایش ۲۱ درصدی این صفت در مقایسه با عدم محلول‌پاشی شد و کاهش ناشی از فرسودگی را جبران نمود. این در حالی بود که در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده محلول‌پاشی با غلظت پایین(۳۰ میکرومولار) مؤثر واقع شد و افزایش ۲۶/۵ درصدی عملکرد را در مقایسه با عدم محلول‌پاشی در پی داشت. شایان ذکر است این ترکیب تیماری در مجموع بالاترین میزان عملکرد را معادل تقریباً ۳۱۵ گرم در مترمربع تولید کرد (شکل ۴-۴۴). این افزایش عملکرد ناشی از

برآیند تأثیرپذیری اجزای عملکرد از این ترکیب تیماری بود. زیرا مقادیر هر سه جزء عملکرد در این ترکیب تیماری بالا بود. بررسی اثر متقابل پیش‌تیمار و محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسید سینامیک حاکی از آن بود که به جز دو ترکیب تیماری حاصل از پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار با محلول پاشی با همین غلظت و بدون محلول‌پاشی، سایر ترکیبات تیماری عملکرد دانه را بین ۲۰ تا ۵۷ درصد افزایش دادند. در این بین پیش‌تیمار اسید سینامیک با غلظت ۳۰ میکرومولار بدون انجام محلول‌پاشی این متابولیت و محلول‌پاشی با همین غلظت بدون پیش‌تیمار بیشترین عملکرد در واحد سطح را دارا بودند (شکل ۴-۴۵). مطالعه اثرات سه‌گانه کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسید سینامیک نشان داد که بیشترین میزان عملکرد از ترکیب تیماری عدم پیش‌تیمار و محلول پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار در بذرهای غیرفرسوده به‌دست آمد. ترکیبات تیماری عدم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۶۰ میکرومولار در بذرهای غیرفرسوده و نیز پیش‌تیمار بذرهای غیرفرسوده با غلظت ۳۰ میکرومولار و بدون محلول‌پاشی در رتبه بعدی از نظر تولید بیشترین عملکرد قرار داشتند (جدول پیوست ۵).

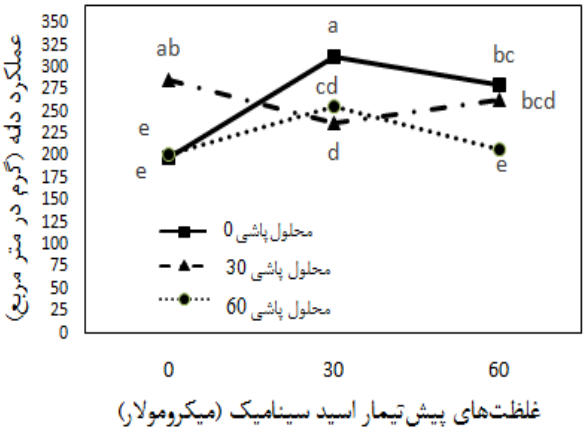
زالایی و همکاران (۲۰۱۶) در مطالعه‌ای روی گیاه ذرت در شرایط تنش سرما دریافتند که پیش تیمار بذری اسید سالیسیلیک به عنوان یکی از مشتقات مهم اسید سینامیک سبب افزایش سطوح داخلی اسید سینامیک و نیز برخی دیگر از اسمولیت‌ها و در نهایت افزایش عملکرد نهایی گیاه گردید. در بررسی دیگری که توسط عبدالله و همکاران (۲۰۱۵) روی گیاه کینوا انجام شد مشخص گردید محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و اسید بنزوئیک که از مشتقات اسید سینامیک می‌باشند سبب افزایش وزن هزاردانه و عملکرد این گیاه گردید.





شکل ۴-۴۳. عملکرد دانه. تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر عملکرد دانه. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

شکل ۴-۴۴. عملکرد دانه. تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر عملکرد دانه. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴-۴۵. عملکرد دانه. تأثیر برهم‌کنش پیش‌تیمار و محلول پاشی غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر عملکرد دانه. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

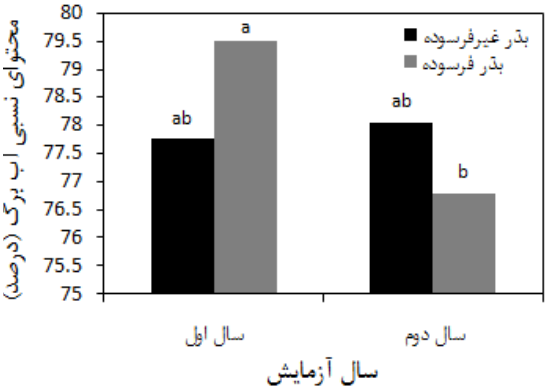
۴-۲-۶- محتوای نسبی آب برگ

بررسی نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به این صفت نشان داد که اثرات اصلی کیفیت اولیه بذر ($P<۰/۰۵$) ، پیش‌تیمار بذر و نیز محلول‌پاشی با غلظت‌های اسید سینامیک ($P<۰/۰۱$) همچنین همه اثرات دوجانبه و سه جانبه این تیمارها بر محتوای نسبی آب برگ معنی‌دار بودند. علاوه بر اثرات یاد شده اثر متقابل سال و کیفیت اولیه بذر نیز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول پیوست

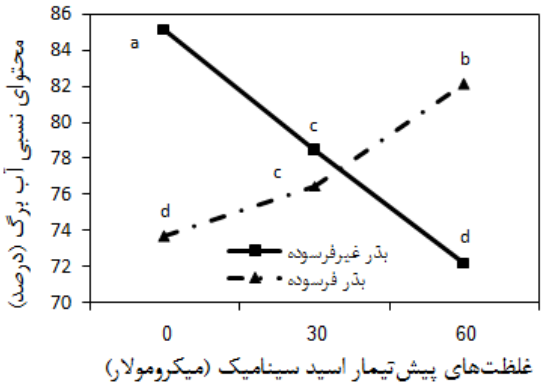
۸). در شکل ۴- ۴۶ دیده می‌شود که از نظر محتوای نسبی آب برگ بین گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده و فرسوده در هر دو سال اختلافی وجود نداشت. در شکل ۴- ۴۷ نشان داده شده است که در شرایط عدم پیش تیمار با اسید سینامیک محتوای نسبی آب برگ در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده حدود ۱۲ درصد بیشتر از گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده بود. از سوی دیگر، واکنش گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده و فرسوده به پیش‌تیمار بذر با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک از نظر محتوای نسبی آب برگ عکس یکدیگر بود.طوری که در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده، پیش‌تیمار با غلظت‌های ۳۰ و ۶۰ میکرومولار اسید سینامیک کاهش معنی‌دار و به ترتیب ۶/۷ و حدود ۱۳ درصدی این صفت را در پی داشت. در حالی که در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده، پیش‌تیمار این متابولیت سبب بهبود این صفت گردید و مقدار آن را از ۷۳/۶۷ درصد به ۷۶/۰۵ و سپس ۸۲ درصد رساند. همچنین، در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده و فرسوده انجام محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار منتهی به کاهش به ترتیب ۸ و ۲ درصدی این صفت گردید. اما بالابردن غلظت محلول‌پاشی سبب افزایش محتوای نسبی آب برگ هر دو گروه در مقایسه با سطح صفر گردید که میزان این افزایش در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده بیشتر بود. به گونه‌ای که مقدار این صفت را به حد گیاهان رشد یافته از بذور غیرفرسوده در شرایط عدم پیش‌تیمار رساند و با آن در یک گروه آماری قرار گرفت (شکل ۴- ۴۸). در شکل ۴-۴۹ اثرات برهم‌کنش دوگانه پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با اسید سینامیک نشان داده شده است که بر اساس آن بیشترین محتوای نسبی آب برگ مربوط به ترکیب تیماری پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با بالاترین غلظت اسید سینامیک بود که با شاهد در یک گروه آماری قرار گرفت. سایر ترکیبات تیماری این صفت را نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش دادند.

بررسی اثر متقابل سه‌گانه کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک حاکی از آن بود که کاربرد اسید سینامیک به هر دو شکل در بذرهای غیرفرسوده (به جز ترکیب تیماری عدم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار) موجب کاهش معنی‌دار محتوای نسبی آب برگ در مقایسه با شاهد گردید. در این بین پیش‌تیمار با بالاترین غلظت و محلول‌پاشی با غلظت کمتر بیشترین کاهش را نشان داد که احتمالاً به بالارفتن سطوح داخلی این متابولیت و ماهیت دوگانه اسید سینامیک در گیاه مربوط است که سبب کاهش محتوای نسبی آب در برگ‌گیاهان حاصل از بذر غیرفرسوده گردید. به‌طوری که مقدار این صفت از ۸۹/۵ درصد در گیاهان شاهد به ۵۷/۳۸ درصد

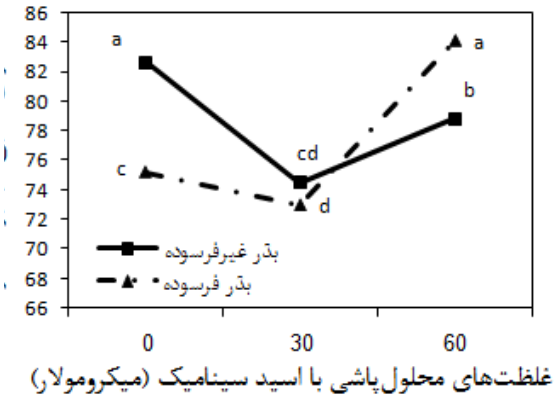
تنزل یافت. در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده همانند آنچه در برخی صفات دیگر مشاهده گردید عکس این نتیجه حاصل شد. به‌طوری که کاربرد بالاترین غلظت اسید سینامیک به‌صورت پیش‌تیمار و محلول‌پاشی و نیز عدم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با بالاترین غلظت اسید سینامیک به افزایش محتوای نسبی آب برگ تا حد مقدار آن در شاهد انجامید. این در حالی بود که در ترکیب تیماری عدم پیش تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار اسید سینامیک کمترین میزان محتوای نسبی آب برگ (۵۷/۲ درصد) ثبت گردید (جدول پیوست ۱۰). به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که کاربرد اسید سینامیک در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده نه‌تنها به افزایش این صفت کمکی نمی‌کند، بلکه می‌تواند سبب بروز تنش و کاهش محتوای نسبی آب برگ گردد. در حالی که به‌کارگیری این ترکیب در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده به بهبود این صفت می‌انجامد.



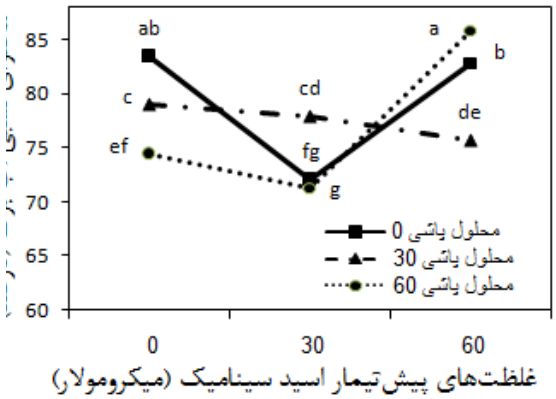
شکل ۴-۴۶. محتوای نسبی آب برگ. تأثیر برهم‌کنش سال و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر محتوای نسبی آب برگ. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴-۴۷. محتوای نسبی آب برگ. تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر محتوای نسبی آب برگ. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴-۴۸. محتوای نسبی آب برگ. تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر محتوای نسبی آب برگ. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



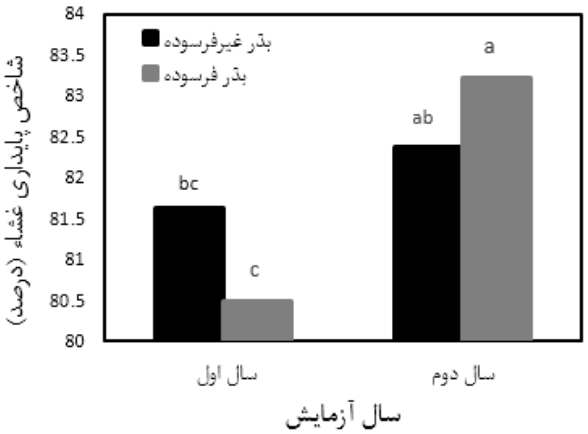
شکل ۴-۴۹. محتوای نسبی آب برگ. تأثیر برهم‌کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر محتوای نسبی آب برگ. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

۴-۲-۷- شاخص پایداری غشاء پلاسمایی

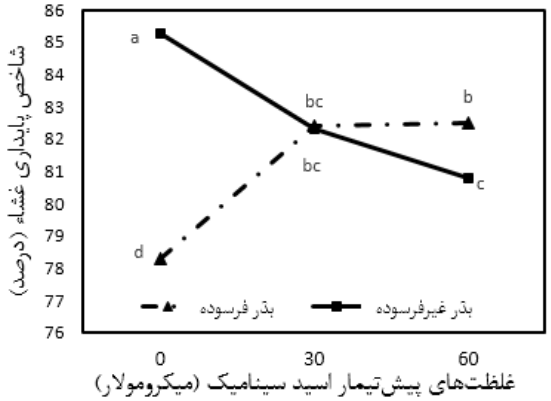
بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به این صفت، از میان منابع تغییر اثر کیفیت اولیه بذر در سطح احتمال ۱ درصد، برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک، کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی در سطح یک درصد و نیز اثر سه گانه کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک همگی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شدند (جدول پیوست ۸). شاخص پایداری غشاء در هر دو سال آزمایش در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده به‌طور معنی‌دار و قابل انتظاری بیشتر از گیاهان رشد یافته از بذرهای فرسوده بود که به‌طور بدیهی ناشی از اثرات مخرب واکنش‌های مربوط به فرسودگی بذر در تولید گیاه‌چه‌های ضعیف‌تر و آسیب‌پذیرتر می‌باشد (شکل ۴-۵۰). در شکل ۴-۵۱ نیز برتری شاخص پایداری غشاء در برگ گیاهان حاصل از بذور غیرفرسوده کاملا مشهود است. البته پیش‌تیمار بذرهای غیرفرسوده با غلظت های مختلف اسید سینامیک سبب کاهش معنی‌دار این صفت شد. درحالی که واکنش بذرهای فرسوده به پیش‌تیمار بذری برعکس بود. به‌گونه‌ای که کاربرد این ترکیب به‌طور قابل ملاحظه و معنی‌داری کاهش هدایت الکتریکی و در نتیجه افزایش پایداری غشاءهای زیستی را درپی

داشت. البته اختلافی بین دو غلظت اسید سینامیک در هیچ کدام از بذرهای فرسوده و غیرفرسوده وجود نداشت (شکل ۴-۵۱). همان‌طور که در شکل ۴- ۵۲ قابل مشاهده می‌باشد اثر محلول‌پاشی اسید سینامیک بر این صفت نسبت به پیش‌تیمار متفاوت بود، طوری که کاربرد اسید سینامیک به‌صورت محلول‌پاشی برگی در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده سبب کاهش معنی‌دار پایداری غشاء گردید. در صورتی که در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده منجر به افزایش این شاخص گردید.

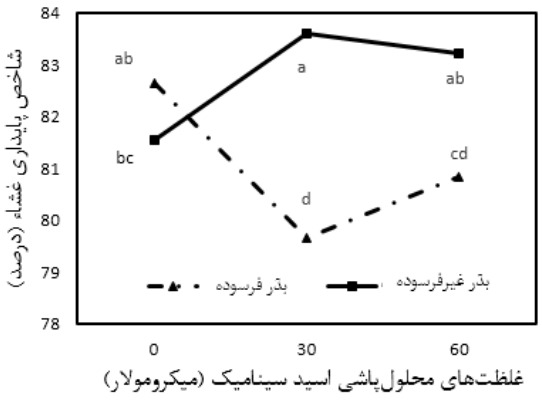
بررسی اثر متقابل پیش‌تیمار و محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسید سینامیک نشان داد که کمترین پایداری غشایی مربوط به گیاهان شاهد و ترکیبات تیماری پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار و نیز پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۶۰ میکرومولار اسید سینامیک می باشد که همگی در یک گروه آماری قرار داشتند. سایر ترکیبات تیماری سبب کاهش آسیب و افزایش پایداری غشاءهای زیستی و در نتیجه کاهش تراوش الکترولیت‌ها به خارج سلول گردیدند (شکل ۴-۵۳). همچنین در جدول پیوست ۱۱ نشان داده شده است که برگ گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده تیمار شده با ترکیب تیماری پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت های ۳۰ و ۶۰ میکرومولار اسید سینامیک به همراه گیاهان شاهد دارای کمترین شاخص پایداری غشاء بودند و در یک گروه آماری قرار گرفتند. در حالی که سه ترکیب تیماری پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار و عدم محلول‌پاشی، پیش‌تیمار با غلظت ۳۰ میکرومولار و محلول‌پاشی با غلظت ۶۰ میکرومولار و نیز پیش‌تیمار با غلظت ۳۰ میکرومولار و عدم محلول‌پاشی در گیاهان رشد یافته از بذرهای فرسوده منجر به افزایش پایداری غشاء گردیدند و در گروه آماری برتر قرار گرفتند. گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده در شرایط پیش‌تیمار با بالاترین غلظت و عدم محلول‌پاشی این متابولیت دارای کمترین پایداری غشاء بودند. ولی اعمال محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار بدون پیش تیمار با اسید سینامیک بالاترین مقدار شاخص پایداری غشاء را رقم زد (جدول پیوست ۱۱).



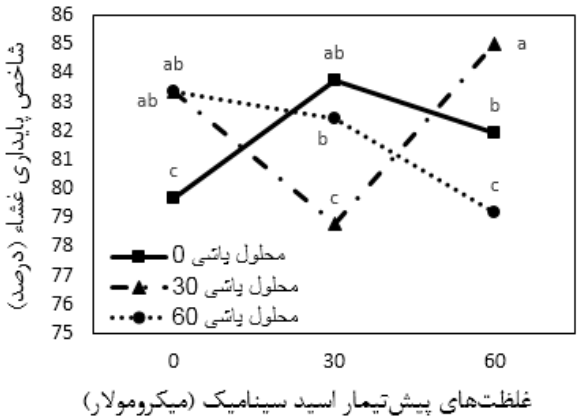
شکل ۴ -۵۰. شاخص پایداری غشاء پلاسمایی. تأثیر برهم‌کنش سال و کیفیت اولیه بذر. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴ -۵۱. شاخص پایداری غشاء پلاسمایی. تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر شاخص پایداری غشاء پلاسمایی. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



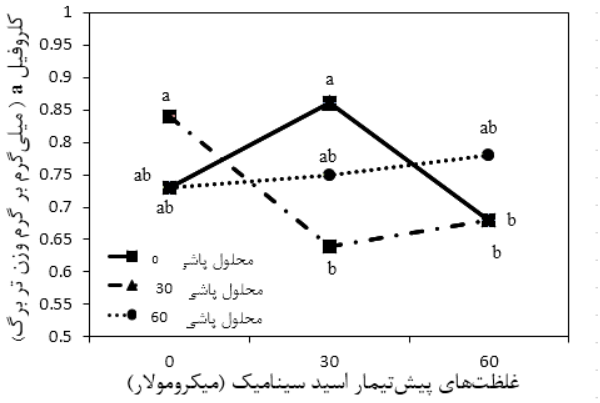
شکل ۴ -۵۲. شاخص پایداری غشاء پلاسمایی. تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر شاخص پایداری غشاء پلاسمایی. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴ -۵۳. شاخص پایداری غشاء پلاسمایی. تأثیر برهم‌کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر شاخص پایداری غشاء پلاسمایی. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها می‌باشد.

۴-۲-۸- محتوای کلروفیل و کاروتنوئید

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به کلروفیل a، b، محتوای کل کلروفیل و نیز محتوای کاروتنوئید نشان داد که اثر هیچ کدام از منابع تغییر بر صفات کلروفیل b، کل و کاروتنوئید معنی‌دار نبود. فقط اثر برهم‌کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در سطح احتمال ۵ درصد بر کلروفیل a معنی‌دار شد (جدول پیوست ۸). همان‌طور که در شکل ۴-۵۴ نشان داده شده است هیچ یک از ترکیبات تیماری با تیمار شاهد (عدم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی اسید سینامیک) اختلاف معنی داری نداشتند. در واقع می‌توان گفت کاربرد اسید سینامیک به‌صورت پیش‌تیمار بذری و یا محلول‌پاشی برگی تغییری در مقدار کلروفیل a ایجاد نکرد. اما مقدار کلروفیل a در ترکیبات تیماری عدم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با ۳۰ میکرومولار، همچنین پیش‌تیمار با غلظت ۳۰ میکرومولار بدون انجام محلول‌پاشی به‌طور معنی‌داری بیشتر از ترکیبات تیماری پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار بدون محلول‌پاشی، پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ و محلول‌پاشی غلظت ۳۰ میکرومولار و نیز پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار بود. مطالعه سینگ و همکاران (۲۰۱۳) روی گیاه کلم حاکی از کاهش مقدار رنگیزه‌های گیاه پس از کاربرد غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار اسید سینامیک بود. همچنین در بررسی انجام شده توسط موهارکار و همکاران (۲۰۰۳) مشخص گردید که کاربرد اسید سالیسیلیک به‌عنوان یکی از مشتقات اسید سینامیک نیز سبب کاهش محتوای کلروفیل برگ در گیاه‌چه‌های ماش می‌گردد. آنها نتیجه‌گیری کردند که احتمالاً اسید سالیسیلیک سبب ایجاد تنش اکسیداتیو گردیده است. با توجه به این واقعیت که غلظت‌های بالای ترکیبات اسمولیت نظیر اسید سینامیک و اسید سالیسیلیک سبب بروز تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌گردد، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که اسید سینامیک در غلظت‌های پایین مورد استفاده در مطالعه ما حداقل سبب بروز شرایط تنش و در نتیجه کاهش میزان رنگیزه‌ها نگردیده است.



شکل ۴- ۵۴. محتوای کلروفیل a. تأثیر برهم کنش پیش تیمار و محلول پاشی با غلظت های مختلف اسید سینامیک محتوای کلروفیل a. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد.

۴-۲-۹- محتوای فلاونوئید برگ

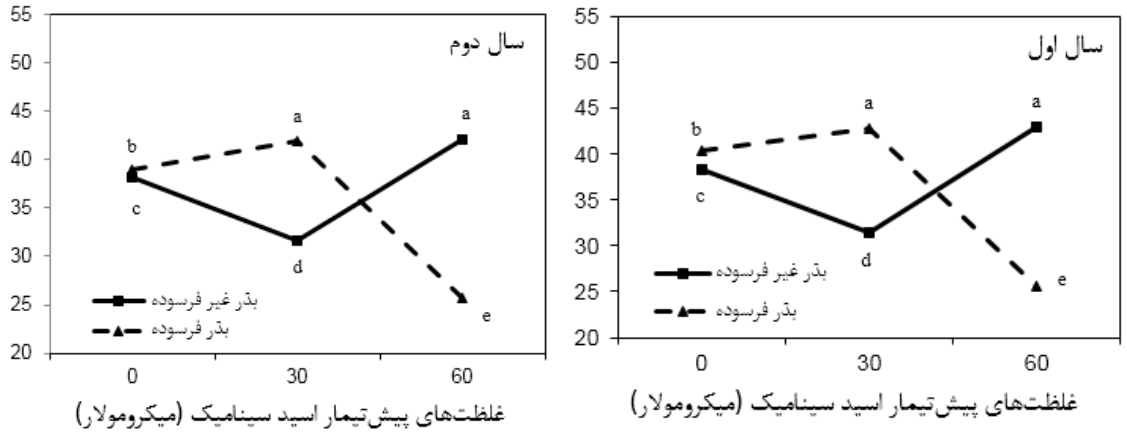
به‌دلیل معنی‌دار شدن آزمون بارتلت برای داده‌های این صفت، داده‌های مربوط به هر سال به‌طور جداگانه آنالیز شدند که بر آن اساس مشخص گردید که تمامی اثرات اصلی و متقابل برای این صفت در هر دو سال (به جز اثر پیش تیمار بذر در سال دوم) در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند (جدول پیوست ۹).

در هر دو سال گیاهان حاصل از بذرهای با کیفیت متفاوت نسبت به پیش‌تیمار بذر با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک از نظر محتوای فلاونوئیدبرگ واکنش یکسانی نشان دادند. از سوی دیگر، این پاسخ در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده عکس واکنش گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده بود. به طوری که در بذرهای غیرفرسوده محتوای فلاونوئید گیاهان حاصل از بذرهای پیش‌تیمار شده با غلظت پایین‌تر اسید سینامیک به‌طور معنی‌دار در مقایسه با شاهد کاهش یافت. ولی غلظت بالاتر سبب افزایش معنی‌دار آن در مقایسه با شاهد گردید. عکس این نتیجه در مورد گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده حاصل شد (شکل ۴-۵۵).

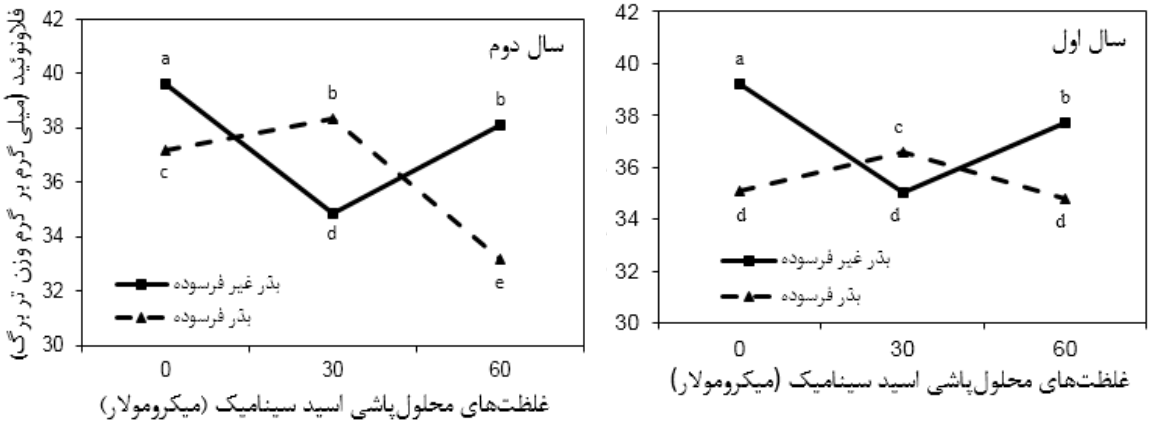
نتایج برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی نیز شبیه نتایج پیش‌تیمار بود به‌گونه‌ای که گیاهان حاصل از بذرهایی با کیفیت متفاوت از نظر محتوای فلاونوئید واکنش متفاوت و معکوسی به این تیمار نشان دادند. بیشترین فلاونوئید برگ در گیاهان حاصل از بذور غیرفرسوده بدون محلول‌پاشی اسید سینامیک ثبت شد که در اثر محلول‌پاشی با غلظت پایین اسید سینامیک به‌طور معنی‌داری کاهش و با افزایش غلظت محلول‌پاشی دوباره افزایش یافت که البته به مقدار اولیه نرسید. در بذرهای فرسوده محلول‌پاشی با غلظت پایین در هر دو سال این صفت را به‌طور معنی‌دار افزایش داد ولی غلظت بالای اسید سینامیک در سال اول بی‌تاثیر و در سال دوم عامل کاهش معنی‌دار در این صفت بود (شکل ۴-۵۶). همچنین، ترکیبات تیماری عدم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار، پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار و عدم محلول‌پاشی در هر دو سال دارای بیشترین میزان فلاونوئید در مقایسه با سایر ترکیبات تیماری و شاهد بودند (ترکیب تیماری عدم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۶۰ میکرومولار در سال اول نیز بیشترین میزان را داشت). این در حالی بود که برای ترکیب تیماری پیش تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار در هر دو سال کمترین میزان این صفت ثبت گردید (شکل ۴-۵۷).

بررسی اثرات سه‌گانه کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در سال اول و دوم منتهی به نتایج مشابهی گردید. طوری که بیشترین میزان فلاونوئید در برگ گیاهان رشد یافته از بذرهای غیرفرسوده در هر دو سال در ترکیب تیماری پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار و عدم محلول‌پاشی و کمترین میزان در دو ترکیب تیماری پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار و پیش‌تیمار با غلظت ۳۰ میکرومولار و محلول‌پاشی غلظت ۶۰ میکرومولار به دست آمد. در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده بیشترین و کمترین این مقادیر به‌ترتیب در ترکیبات تیماری پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار و پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار و محلول‌پاشی غلظت ۳۰ میکرومولار ثبت گردید (جدول پیوست ۱۲).

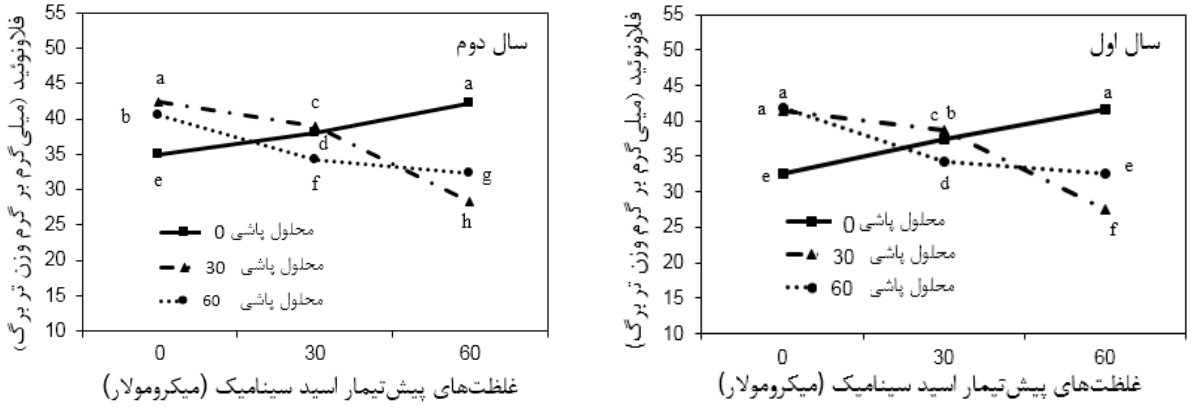
طی دهه‌های اخیر، ترکیبات فنلی بسیار مورد توجه محققین قرار گرفته‌اند. دلیل این توجه مربوط به اهمیت فیزیولوژیک آنها به‌ویژه به‌عنوان ترکیبات رنگ و طعم‌دهنده به گیاهان و نیز اخیراً به‌دلیل ظرفیت آن‌ها برای جاروب‌کردن رادیکال‌های آزاد، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و جلوگیری از اکسیداسیون سلولی می‌باشد (بالاسوندرام و همکاران، ۲۰۰۶).



شکل ۴ -۵۵. محتوای فلاونوئید. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و پیش تیمار با غلظت های مختلف اسید سینامیک در دو سال آزمایش بر محتوای فلاونوئید. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد..



شکل ۴-۵۶. محتوای فلاونوئید. تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در دو سال‌آزمایش بر محتوای فلاونوئید. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴-۵۷. محتوای فلاونوئید. تأثیر برهم‌کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در دو سال آزمایش بر محتوای فلاونوئید. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

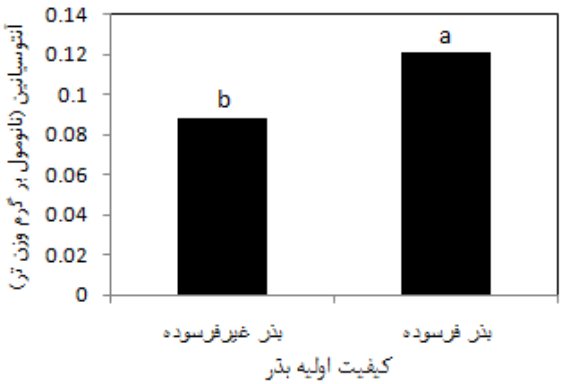
۴-۲-۱۰- محتوای آنتوسیانین برگ

از آنجایی که آزمون بارتلت برای آنتوسیانین برگ نیز معنی‌دار شد، داده‌های مربوط به هر سال به طور جداگانه مورد آنالیز قرار گرفتند. در سال اول، تنها اثر کیفیت اولیه بذر در سطح احتمال ۱ درصد بر این صفت معنی‌دار شد. در حالی که در سال دوم اثر هر سه تیمار آزمایش و برهم‌کنش آن‌ها بر این صفت در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول پیوست ۹). همان‌طور که در شکل‌های ۴-۵۸ و ۴-۵۹ و نیز جدول پیوست ۱۳ نشان داده شده است، گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده در هر دو سال دارای محتوای آنتوسیانین بیشتری نسبت به گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده بودند که می‌تواند به سبب فعال‌شدن مکانیسم‌های داخلی گیاه برای کاهش اثرات مخرب تنش فرسودگی باشد. در سال دوم، پیش‌تیمار بذرهای فرسوده با غلظت ۳۰ میکرومولار سبب افزایش معنی‌دار میزان آنتوسیانین در مقایسه با شاهد و نیز در مقایسه با بذرهای فرسوده پیش‌تیمار نشده گردید. به‌طوری که مقدار این متابولیت از ۰/۰۶۲ نانومول بر گرم وزن‌تر در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده پیش‌تیمارنشده با افزایش ۱۹/۳ درصدی به ۰/۰۷۴ نانومول بر گرم وزن تر رسید. این در حالی بود که پیش‌تیمار با غلظت بالاتر اسید سینامیک تأثیر منفی داشت هرچند این تأثیر معنی‌دار نبود. در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده، بر خلاف آنچه در بالا ذکر گردید پیش‌تیمار بذر با غلظت بالاتر افزایش معنی‌دار محتوای آنتوسیانین را

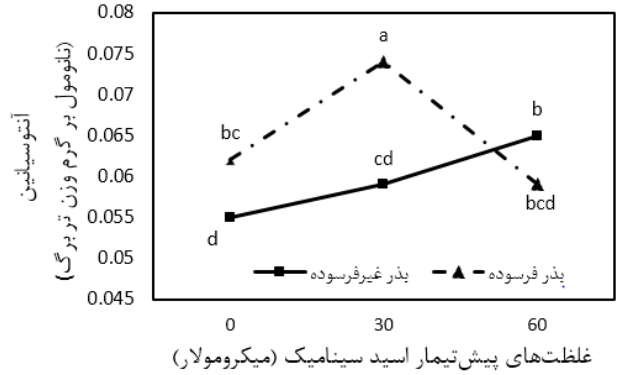
در مقایسه با شاهد در پی داشت. ولی اثر غلظت پایین‌تر از نظر آماری معنی‌دار نبود (شکل ۴-۵۹). محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک نتیجه متفاوتی داشت. بیشترین آنتوسیانین برگ در گیاهان رشد یافته از بذور فرسوده به مقدار ۰/۰۸۵ نانومول بر گرم وزن تر برگ به ثبت رسید. مقدار این صفت در سایر ترکیبات تیماری به‌طور قابل توجهی کمتر بود. در مجموع محلول‌پاشی اسید سینامیک منجر به کاهش معنی‌دار محتوای آنتوسیانین گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده در مقایسه با عدم محلول‌پاشی شد. در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده محلول‌پاشی غلظت ۳۰ میکرومولار موجب کاهش میزان این متابولیت در مقایسه با شاهد گردید. اما کاربرد غلظت بالاتر افزایش معنی‌دار در مقایسه با شاهد را در پی داشت (شکل ۴-۶۰). همچنین، بر اساس نتایج برهم‌کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی اسید سینامیک، بیشترین میزان آنتوسیانین در ترکیب تیماری شاهد و نیز عدم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار اسید سینامیک و کمترین میزان از پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار و عدم محلول‌پاشی و نیز پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار اسید سینامیک حاصل شد (شکل ۴-۶۱). در بررسی برهم‌کنش سه‌گانه کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک مشخص گردید از میان ترکیبات تیماری مربوط به گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده، به‌ترتیب بیشترین و کمترین میزان آنتوسیانین مربوط به ترکیبات تیماری پیش تیمار با غلظت ۳۰ میکرومولار و بدون محلول‌پاشی و پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار بود. اما از میان ترکیبات تیماری مربوط به گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده، بیشترین محتوای آنتوسیانین در شرایط عدم کاربرد اسید سینامیک چه به‌صورت پیش‌تیمار و چه به‌صورت محلول‌پاشی مشاهده گردید. لازم به ذکر است این ترکیب تیماری بالاترین محتوای آنتوسیانین را در بین تمامی ترکیبات تیماری مورد مطالعه داشت (جدول پیوست ۱۳).

آنتوسیانین‌ها بزرگترین گروه رنگدانه‌های فنولی می‌باشند. رنگ قرمز، آبی و بنفش بسیاری از گل ها، میوه‌ها و برگ‌ها به‌دلیل وجود آن‌هاست. فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها تا حد زیادی مربوط به ساختار شیمیایی، تعداد گروه‌های هیدروکسیل، تعداد پیوندهای دوگانه و نیز وجود گروه‌های دهنده الکترون

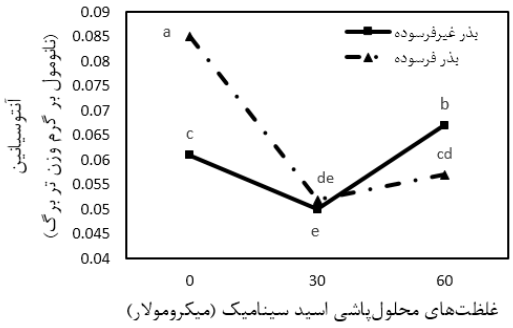
در ساختار حلقه‌ای آن‌ها می‌باشد. آنتوسیانین‌ها در پاسخ به انواع تنش‌های محیطی در گیاهان تجمع می‌یابند. در همین راستا، نقش‌های متعددی به این متابولیت‌های ثانویه نسبت داده شده است که می توان به نقش جاروب‌کنندگی رادیکال‌های آزاد، ایجاد کننده سیگنال و محافظت در برابر تنش نوری و نیز حفاظت از غشاءهای زیستی در مقابل پراکسیداسیون از طریق به دام انداختن رادیکال‌های پراکسیل اشاره نمود (مارتین و همکاران، ۲۰۱۷).



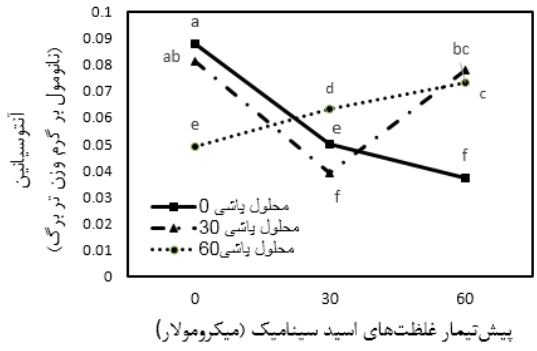
شکل ۴- ۵۸. محتوای آنتوسیانین. تأثیر کیفیت اولیه بذر بر محتوای آنتوسیانین در سال اول. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴-۵۹. محتوای آنتوسیانین. تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر محتوای آنتوسیانین در سال دوم. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴-۶۰. محتوای آنتوسیانین. تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر محتوای آنتوسیانین در سال دوم. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می باشد.



شکل ۴-۶۱. محتوای آنتوسیانین. تأثیر برهم‌کنش پیش‌تیمار و محلول پاشی با غلظت های مختلف اسید سینامیک بر محتوای آنتوسیانین در سال دوم. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

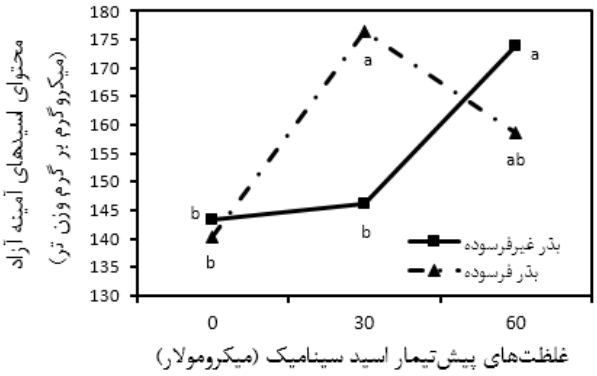
۴-۲-۱۱- پرولین و سایر اسیدهای آمینه آزاد

بر اساس نتایج تجزیه مرکب داده‌های مربوط به اسیدهای آمینه آزاد، اثر پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با اسید سینامیک در سطح احتمال ۱ درصد، برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار اسید سینامیک در سطح احتمال ۱ درصد، برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی اسید سینامیک در سطح احتمال ۵ درصد و نیز اثر سه‌گانه تیمارها در سطح احتمال ۱ درصد بر این صفت معنی‌دار بودند (جدول پیوست ۹). در شکل ۴-۶۲ مشاهده می‌شود که مقدار اسیدهای آمینه آزاد در برگ گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده و غیرفرسوده پایین و یکسان بود. پیش‌تیمار بذرهای غیرفرسوده با غلظت ۶۰ میکرومولار اسید سینامیک سبب افزایش میزان اسیدهای آمینه آزاد گردید. همین نتیجه در پیش‌تیمار بذرهای فرسوده با غلظت ۳۰ میکرومولار رخ داد که سبب افزایش ۲۰/۴۴ درصدی این صفت گردید که می‌تواند بیانگر وارد آمدن تنش به گیاه باشد. بررسی برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی اسید سینامیک حاکی از آن بود که در سطح صفر محلول‌پاشی محتوای اسید آمینه آزاد در برگ گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده بیشتر از بذرهای غیرفرسوده بود که می‌تواند حاصل تجمع بیشتر اسیدهای آمینه دارای خاصیت اسمولیت به‌منظور کاهش اثرات مخرب تنش فرسودگی باشد. محلول‌پاشی بوته‌های حاصل از بذرهای غیرفرسوده با غلظت ۳۰ و ۶۰ میکرومولار اسید سینامیک به‌ترتیب سبب افزایش ۲۹/۵ و ۱۹/۷۲ درصدی محتوای اسیدهای آمینه آزاد گردید. از سوی دیگر، محلول‌پاشی غلظت ۳۰ میکرومولار در بذرهای فرسوده سبب افزایش این صفت به میزان ۱۱/۶۹ درصد گردید. این در حالی بود که محلول پاشی غلظت بالاتر از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با تیمار عدم محلول‌پاشی بذر فرسوده نداشت. همچنین در سطح محلول پاشی با غلظت های ۳۰ و ۶۰ میکرومولار اختلاف معنی داری بین بذرهای فرسوده و غیرفرسوده از نظر این صفت مشاهده نشد (شکل ۴-۶۳). همچنین در بررسی اثر سه‌گانه کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی اسید سینامیک مشخص گردید که در مجموع تمامی ترکیبات تیماری در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده (به‌جز ترکیب تیماری پیش‌تیمار با غلظت ۳۰ میکرومولار و محلول‌پاشی غلظت ۶۰ میکرومولار) به‌طور معنی‌داری محتوای اسید آمینه آزاد بالاتری

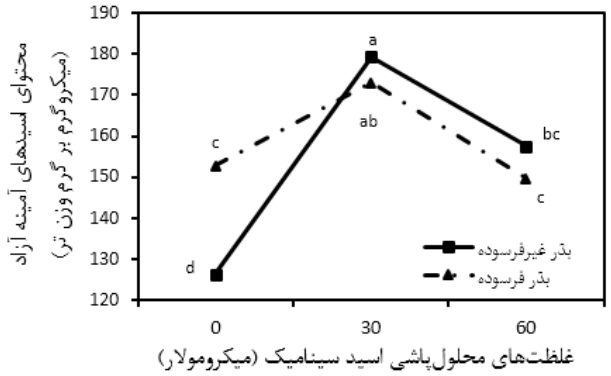
نسبت به تیمار شاهد داشتند. بیشترین میزان مربوط به ترکیب تیماری پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده بود. در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده، مقدار این صفت در شرایط پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار، پیش‌تیمار با غلظت ۳۰ و محلول‌پاشی با غلظت ۶۰ و نیز پیش‌تیمار با ۶۰ و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار بالا بود (جدول پیوست ۱۴). با توجه به ماهیت دوگانه اسید سینامیک در شرایط تنش و عدم‌تنش که در مطالعات بذری و نیز در بررسی برخی صفات فیزیولوژیک و زراعی در این مطالعه به‌دست آمد، می‌توان دلیل تجمع اسیدهای آمینه آزاد در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده را ویژگی اسمولیتی این ترکیبات به منظور جاروب کردن رادیکال‌های آزاد حاصل از واکنش‌های فرسودگی دانست. در حالی که در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده، بالا رفتن غلظت داخلی اسید سینامیک به‌عنوان عامل ایجاد تنش تلقی می‌شود و به‌همین منظور برای جلوگیری از ایجاد صدمات ناشی از آن اسیدهای آمینه آزاد تجمع یافته‌اند.

از آن‌جایی که آزمون بارتلت برای پرولین معنی‌دار شد داده‌های مربوط به هر سال به‌طور جداگانه آنالیز گردید. بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به پرولین در سال اول، اثرات متقابل کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار ($P<۰/۰۱$) و نیز پیش‌تیمار و محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسید سینامیک ($P<۰/۰۵$) و در سال دوم تنها اثر متقابل کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی ($P<۰/۰۵$) بر محتوای پرولین معنی‌دار بودند (جدول پیوست ۹). در هر دو سال پیش‌تیمار گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده تأثیر معنی‌داری بر محتوای پرولین نداشت. ولی پیش‌تیمار بذرهای فرسوده با غلظت ۶۰ میکرومولار سبب شد که در برگ گیاهان حاصل از این بذرها افزایش معنی‌داری در محتوای پرولین در مقایسه با تیمار ۳۰ میکرومولار و تیمار عدم کاربرد اسید سینامیک مشاهده شود (شکل ۴-۶۴). همچنین پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار و نیز پیش‌تیمار تنها با غلظت ۶۰ میکرومولار سبب تولید بیشترین میزان پرولین گردید. بین سایر ترکیبات تیماری از نظر تأثیرگذاری بر این صفت اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۴- ۶۵).

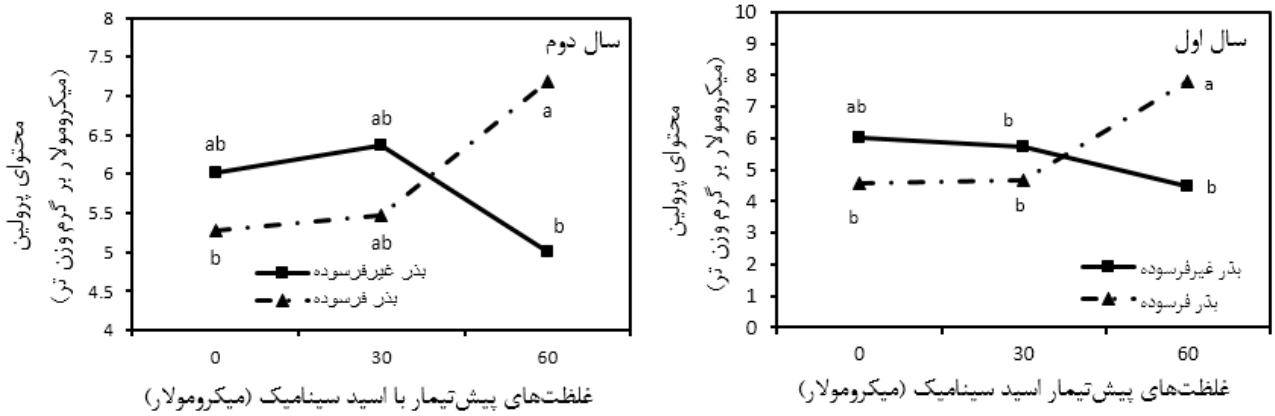
اسیدهای‌آمینه از طریق تقویت دیواره سلولی، افزایش تولید لیگنین و ترمیم سریع‌تر بافت‌های آسیب‌دیده موجب مقاومت گیاه در برابر تنش‌های محیطی به‌ویژه حمله آفات می‌گردند (بیتس و همکاران، ۱۹۷۳). یکی از مهمترین اسیدهای آمینه آزاد پرولین می‌باشد. پرولین تجمع‌یافته، نقش‌هایی مانند ایجاد ترکیب اسمزی، ترکیب ذخیره‌ای نیتروژن، جاروب کننده رادیکال‌های هیدروکسیل، تنظیم پتانسیل اکسیداسیون سلولی، تنظیم pH، حفظ تورژسانس و حجم سلول را به‌عهده دارد و در نهایت موجب تحمل به تنش می‌گردد (هاوو و همکاران، ۱۹۷۷). تغییر محتوای پرولین یکی از رایج‌ترین پاسخ های گیاهان به‌هنگام مواجهه با تنش می‌باشد (محمدخانی و حیدری، ۲۰۰۸). تجمع پرولین موجب کاهش آسیب به غشاء و پروتئین‌ها می‌گردد. پرولین علاوه بر تنظیم اسمزی منبع کربن و نیتروژن احیاء شده نیز به حساب می‌آید (محمدخانی و حیدری، ۲۰۰۸).



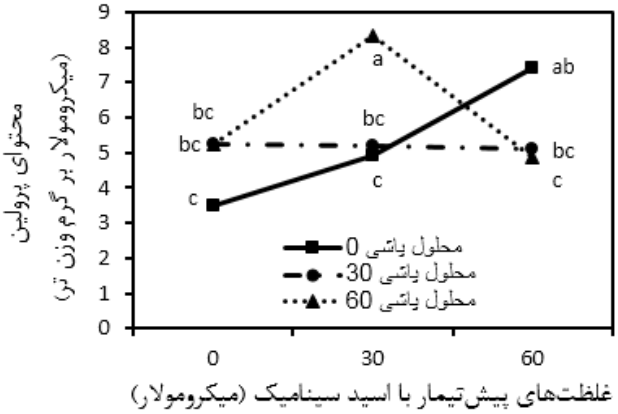
شکل ۴-۶۲. محتوای اسیدهای آمینه آزاد. تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر محتوای اسیدهای آمینه آزاد. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴-۶۳. محتوای اسیدهای آمینه آزاد. تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر محتوای اسیدهای آمینه آزاد. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴-۶۴. محتوای پرولین. تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در دو سال‌آزمایش بر محتوای پرولین. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴-۶۵. محتوای پرولین. تأثیر برهم‌کنش پیش‌تیمار و محلول پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در سال اول آزمایش بر محتوای پرولین. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می باشد.

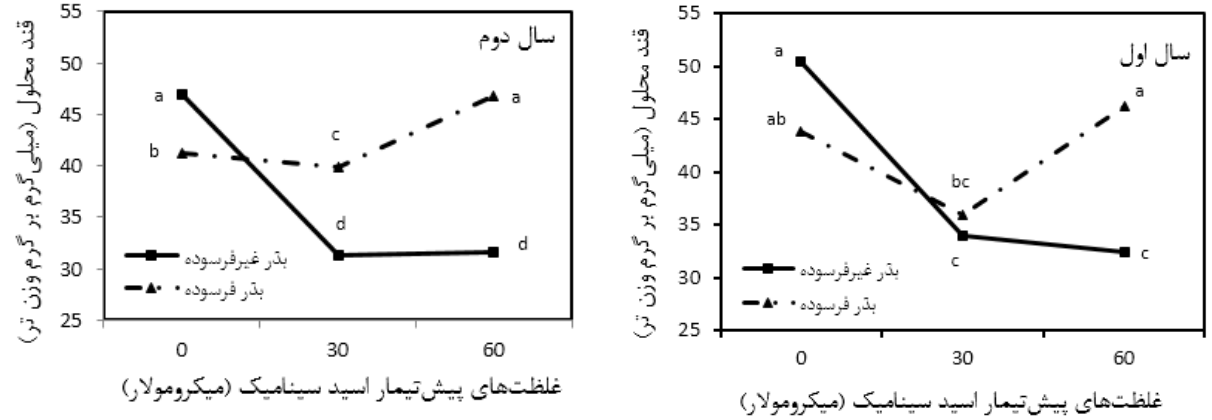
۴-۲-۱۲- محتوای قندهای محلول

نتیجه آزمون بارتلت برای داده‌های این صفت معنی‌دار بود، بنابراین داده‌های هر سال به‌صورت جداگانه آنالیز شدند. در سال اول، از میان اثرات اصلی اثر پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در سطح احتمال یک درصد و از میان اثرات متقابل، اثر کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در سطح احتمال یک درصد، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف

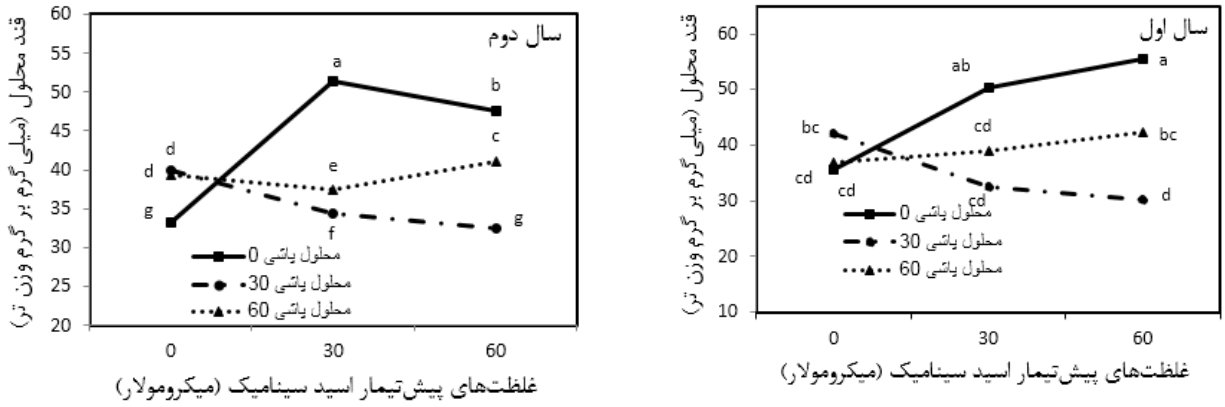
اسید سینامیک در سطح احتمال یک درصد و اثر سه‌گانه کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شدند. در سال دوم تمامی اثرات اصلی و متقابل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند (جدول پیوست ۹).

همان‌طور که در شکل ۴- ۶۶ مشخص می‌باشد در سال اول پیش‌تیمار بذرهای غیرفرسوده با اسید سینامیک موجب کاهش معنی‌دار محتوای قند محلول در برگ گیاهان حاصل گردید. در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده کاربرد این ترکیب به‌صورت پیش‌تیمار بذری میزان این صفت را ابتدا کاهش و سپس افزایش داد که البته اثر معنی‌دار نداشت. در سال دوم نیز پیش‌تیمار بذرهای غیرفرسوده با غلظت‌های اسید سینامیک سبب کاهش معنی‌دار محتوای قندهای محلول در برگ گیاهان حاصل گردید. در حالی که پیش‌تیمار بذرهای فرسوده با غلظت‌بالای اسید سینامیک افزایش محتوای قندهای محلول برگ گیاهان حاصل را در پی داشت (شکل ۴-۶۶). بررسی برهم‌کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک نشان داد که در سال اول بیشترین محتوای قند محلول مربوط به ترکیبات تیماری پیش‌تیمار با غلظت‌های ۳۰ و ۶۰ میکرومولار و عدم محلول‌پاشی بود. سایر ترکیبات تیماری مقادیر پایین‌تری داشتند و به‌جز ترکیب تیماری پیش‌تیمار با ۶۰ و محلول‌پاشی با ۳۰ میکرومولار بقیه ترکیبات تیماری با شاهد در یک گروه آماری قرار گرفتند. در سال دوم از پیش‌تیمار با غلظت ۳۰ میکرومولار این متابولیت بدون انجام محلول‌پاشی بیشترین مقدار قند محلول به‌دست آمد. در حالی که از انجام پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار و محلول‌پاشی غلظت ۳۰ میکرومولار کمترین مقدار این صفت حاصل شد که با تیمارشاهد در یک گروه آماری قرار گرفت. (شکل ۴- ۶۷). در شکل ۴-۶۸ مشاهده می‌شود که مقدار قند محلول ثبت شده در برگ گیاهان حاصل از بذور فرسوده در هر سه سطح اسید سینامیک به‌طور معنی‌داری بیشتر از بذور غیرفرسوده بود که احتمالاً در راستای تنظیم اسمزی و ایجاد تعادل در این گیاهان بوده است. محلول‌پاشی با اسید سینامیک ۳۰ میکرومولار در گیاهان رشد یافته از بذور فرسوده و هر دو غلظت در گیاهان حاصل از بذور غیرفرسوده سبب افزایش قند محلول گردید. همان‌طور که در جدول پیوست ۱۵ قابل مشاهده می‌باشد از میان ترکیبات تیماری

مربوط به گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده در سال اول بیشترین محتوای قند محلول در ترکیب تیماری عدم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با بالاترین غلظت اسید سینامیک و در سال دوم در ترکیب عدم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با هر دو غلظت اسید سینامیک در بذور غیرفرسوده مشاهده گردید و مقدار این صفت در گیاهان حاصل از بذور غیرفرسوده که ترکیب تیماری پیش‌تیمار با غلظت ۳۰ و محلول پاشی با غلظت ۶۰ میکرومولار را دریافت کرده بودند، بسیار پایین بود.



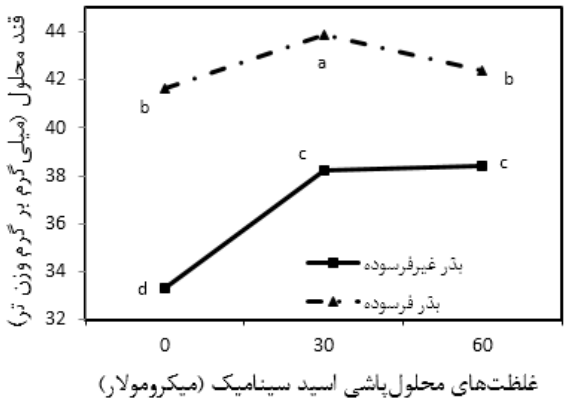
شکل ۴-۶۶. محتوای قندهای محلول. تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در دو سال آزمایش بر محتوای قندهای محلول. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴-۶۷. محتوای قندهای محلول. تأثیر برهم‌کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در دو سال آزمایش بر محتوای قندهای محلول. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

۴-۲-۱۳- پراکسیداسیون لیپیدها

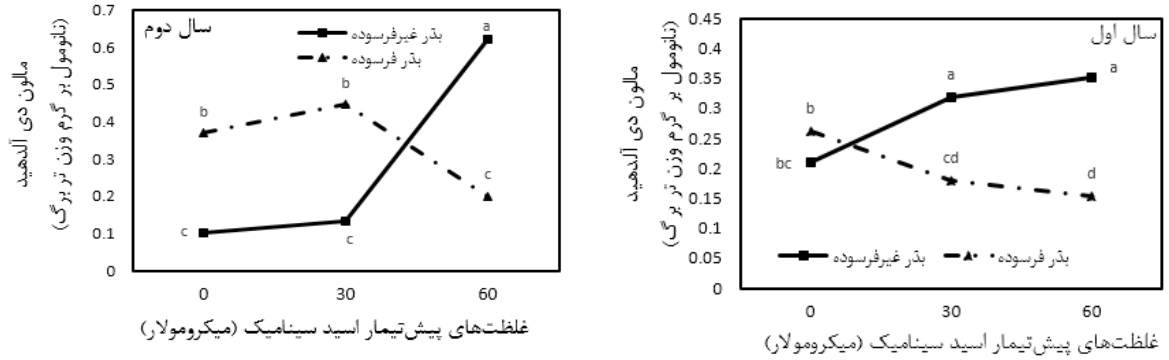
به دلیل معنی‌دار شدن آزمون بارتلت برای داده‌های دوساله مربوط به این صفت، داده‌های هر سال به‌طور جداگانه آنالیز شد که بر اساس آن سال اول به جز اثر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی



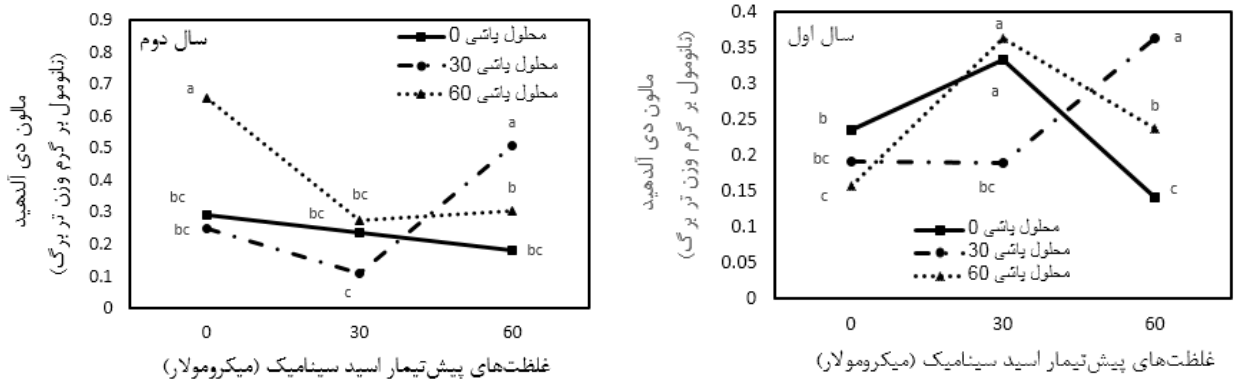
شکل ۴-۶۸. محتوای قندهای محلول. تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در دو سال آزمایش بر محتوای قندهای محلول. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

و در سال دوم به جز اثر اصلی کیفیت اولیه بذر بقیه اثرات اصلی و برهم‌کنش آن‌ها از نظر تأثیرگذاری بر محتوای مالون دی آلدهید در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شدند (جدول پیوست ۹). بر اساس آنچه در شکل ۴-۶۹ نشان داده شده است در سال اول، پیش‌تیمار بذرهای غیرفرسوده با هر دو غلظت اسید سینامیک سبب افزایش مقدار مالون دی آلدهید در برگ گیاهان گردید. در حالی که کاربرد این ترکیب به‌صورت پیش‌تیمار در بذرهای فرسوده اثر مثبت داشت و سبب کاهش معنی‌دار آن گردید. مقدار این کاهش در سطح پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار نسبت به سطح صفر ۴۲ درصد بود. در سال دوم بررسی نیز نتیجه‌ای تقریباً مشابه به‌دست آمد با این تفاوت که پیش‌تیمار با غلظت ۳۰ میکرومولار در هر دو گروه بذری با کیفیت‌های متفاوت اثر معنی‌داری نداشت. ولی پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار این صفت را درگیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده ۸۳ درصد افزایش و در بذرهای فرسوده ۴۵/۷۹ درصد کاهش داد (شکل ۴-۶۹). بررسی اثر متقابل پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت های مختلف اسید سینامیک در سال اول نشان داد دو ترکیب تیماری عدم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۶۰ میکرومولار و نیز پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار و عدم محلول‌پاشی اسید سینامیک کاهش محتوای مالون دی آلدهید را در مقایسه با شاهد در پی داشت. در حالی که پیش‌تیمار با غلظت ۳۰ میکرومولار و عدم محلول‌پاشی و یا محلول‌پاشی با غلظت ۶۰ میکرومولار و نیز پیش‌تیمار با غلظت

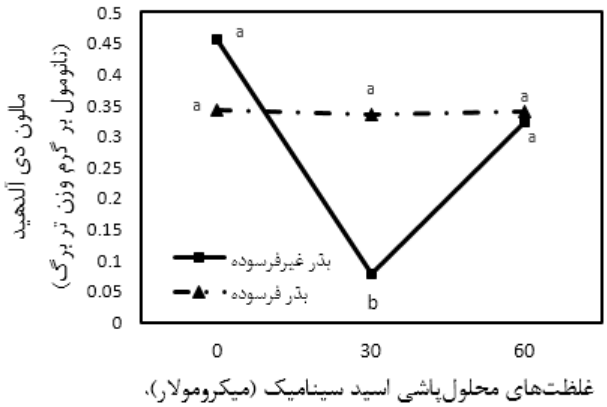
۶۰ میکرومولار و محلول‌پاشی غلظت ۳۰ میکرومولار موجب افزایش این صفت گردیدند. در سال دوم به جز ترکیب تیماری عدم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۶۰ میکرومولار و نیز ترکیب تیماری پیش تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار که مقدار مالون دی آلدهید را در برگ گیاهان افزایش دادند، سایر ترکیبات تیماری با شاهد در یک گروه آماری قرار گرفتند (شکل ۴- ۷۰). از سوی دیگر، در شکل ۴-۷۱ نشان داده شده است که در سال دوم فقط محلول‌پاشی برگی گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده با غلظت ۳۰ میکرومولار میزان مالون دی‌آلدهید در برگ‌ها را به طور معنی‌داری کاهش داد و سایر سطوح تأثیر معنی‌داری نداشتند. از بررسی برهم‌کنش سه‌گانه کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در سال اول مشخص گردید در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده، اکثر ترکیبات تیماری (به غیر از ترکیب تیماری عدم پیش تیمار و محلول‌پاشی با غلظت های ۳۰ و ۶۰ میکرومولار و نیز عدم محلول پاشی و پیش تیمار با غلظت ۳۰ میکرومولار که اختلاف معنی‌دار آماری با شاهد نداشتند) دارای محتوای مالون دی‌آلدهید بیشتری در مقایسه با شاهد بودند. در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده، ترکیب تیماری عدم پیش‌تیمار و محلول پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار منجر به ناپایداری غشاء و در نتیجه افزایش محتوای مالون دی‌آلدهید گردید. از سوی دیگر، تمامی ترکیبات تیماری به غیر از پیش‌تیمار با غلظت ۳۰ و محلول‌پاشی با غلظت ۶۰ میکرومولار و نیز پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ و محلول‌پاشی غلظت ۳۰ میکرومولار کاهش محتوای مالون دی‌آلدهید را در مقایسه با ترکیب تیماری عدم کاربرد اسید سینامیک در بذرهای فرسوده و گیاهان حاصل در پی داشتند. پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار اسید سینامیک در بذور غیرفرسوده و پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۶۰ میکرومولار در بذور فرسوده و گیاهان حاصل از آن نسبت به سایر ترکیبات تیماری در مهار پراکسیداسیون لیپید و کاهش مالون دی آلدهید موفق‌تر بودند، هرچند اختلافات غیرمعنی‌داری نیز بین ترکیبات تیماری یاد شده با سایر تیمارها وجود داشت (جدول پیوست ۱۶).



شکل ۴-۶۹. محتوای مالون دی‌آلدهید. تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در دو سال آزمایش بر محتوای مالون دی آلدهید. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴-۷۰. محتوای مالون دی‌آلدهید. تأثیر برهم‌کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در دو سال آزمایش بر محتوای مالون دی آلدهید. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴-۷۱. محتوای مالون دی‌آلدهید. تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در سال دوم. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

۴-۲-۱۴- فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

۴-۲-۱۴-۱- سوپراکسید دیسموتاز

بر اساس نتایج تجزیه مرکب داده‌های مربوط به فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، اثر سه تیمار مورد مطالعه، شامل کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک و برهم‌کنش دوگانه و سه‌گانه آنها در سطح احتمال ۱درصد معنی‌دار شدند. همچنین اثر سال و برهم کنش آن با کیفیت اولیه بذر بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز معنی‌دار شد (جدول پیوست ۱۷).

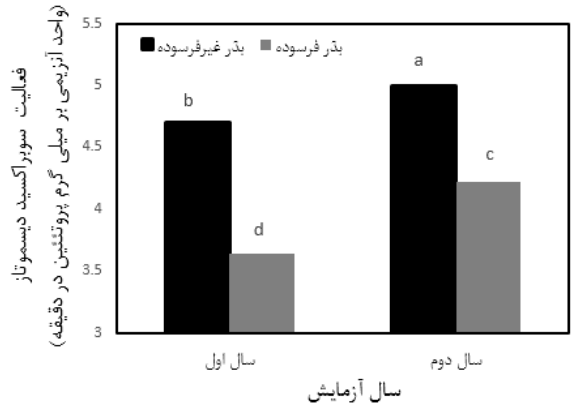
در شکل ۴-۷۲ نشان داده شده است که در هر دو سال فعالیت این آنزیم در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده بیشتر از گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده بوده است. در واقع فرسودگی بذر سبب شد که فعالیت این آنزیم در برگ گیاهان رشد یافته از این بذرها ۲۲/۶ و ۱۵/۴۳ درصد به ترتیب در سال های اول و دوم کاهش یابد. این نتیجه می‌تواند حاکی از آمادگی سیستم دفاعی گیاه برای مواجهه با شرایط تنش باشد. بررسی اثر متقابل کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک نیز نشان داد که فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده در مقایسه با شاهد به‌طور معنی‌داری کمتر است. در این گیاهان پیش‌تیمار بذر با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک توانست فعالیت آنزیم را به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گیاهان حاصل از بذرهای پیش‌تیمار نشده افزایش دهد. البته غلظت پایین‌تر از این نظر مؤثرتر بود. در مقابل در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده پیش‌تیمار با اسید سینامیک به‌ویژه غلظت ۳۰ میکرومولار فعالیت این آنزیم را در مقایسه با شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش داد (شکل ۴-۷۳). محلول‌پاشی گیاهان حاصل از بذرهایی با کیفیت اولیه متفاوت نیز تقریباً نتایجی مشابه پیش‌تیمار را درپی داشت. به‌گونه‌ای که هر دو غلظت محلول پاشی، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را به عنوان خط دفاعی آنتی‌اکسیدانی گیاه به‌طور معنی‌داری کاهش داد. ولی محلول‌پاشی برگی گیاهان رشد یافته از بذور فرسوده، به‌طور معنی‌داری سبب بهبود فعالیت آنزیم گردید که البته اثر غلظت ۳۰ میکرومولار به‌مراتب بیشتر بود و فعالیت آنزیم را از حدود ۳ (کمترین مقدار ثبت شده) به بیش از ۵ واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه رساند (شکل ۴-۷۴). همان‌طور که در شکل ۴-۷۵ نشان داده شده است تمامی ترکیبات تیماری حاصل از پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با اسید سینامیک فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در مقایسه با شاهد به‌طور معنی‌دار

و بین ۱۱ تا ۵۱ درصد کاهش دادند. در این بین نزدیکترین مقدار به شاهد مربوط به گیاهانی بود که ابتدا بذر آنها با غلظت ۳۰ میکرومولار پیش‌تیمار شده بودند و سپس با همین غلظت محلول‌پاشی شدند. بررسی برهم‌کنش سه‌گانه کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی اسید سینامیک نیز نشان داد که بیشترین فعالیت این آنزیم مربوط به گیاهان شاهد است. پس از شاهد، بیشترین فعالیت آنزیم در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده مربوط به ترکیبات تیماری بدون پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با هر دو غلظت اسید سینامیک بود. کمترین فعالیت آنزیم در برگ گیاهان حاصل از بذور غیرفرسوده مربوط به ترکیب تیماری پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار اسید سینامیک بود. این در حالی است که از بررسی ترکیبات تیماری مربوط به گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده عکس این نتیجه حاصل شد. به طوری که گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده بدون کاربرد اسید سینامیک دارای مقادیر پایینی از فعالیت این آنزیم بودند و گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده که با غلظت ۳۰ میکرومولار این متابولیت پیش تیمار و محلول‌پاشی شده بودند دارای بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بودند که در بین کلیه ترکیبات تیماری در مقام دوم پس از شاهد قرار داشت (جدول پیوست ۱۸).

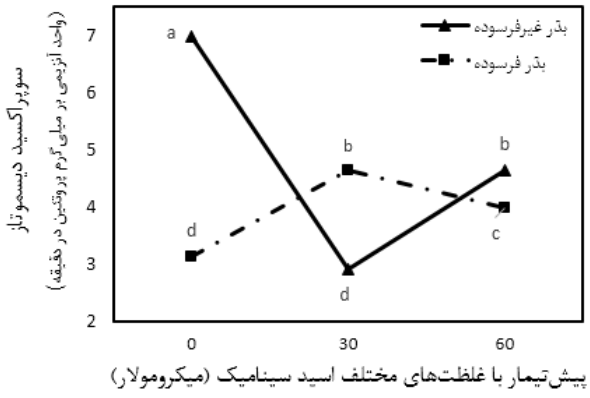
مولکول‌های دارای خاصیت آنتی‌اکسیدان در موجودات زنده در سطوح مختلفی فعالیت می‌کنند. این سطوح شامل بلوکه‌کردن رادیکال‌های آزاد، جاروب کردن آن‌ها و یا ترمیم خسارت‌های ناشی از حمله رادیکال‌های آزاد می‌باشند. بر این اساس می‌توان آنتی‌اکسیدان‌ها را به چهار گروه تقسیم کرد: آنتی‌اکسیدان‌های دفاعی سطح یک (خط مقدم دفاع)، آنتی‌اکسیدان‌های دفاعی سطح ۲، آنتی‌اکسیدان های دفاعی سطح ۳ و آنتی‌اکسیدان‌های دفاعی سطح ۴.

آنتی‌اکسیدان‌های سطح یک آن دسته از آنتی اکسیدان‌هایی هستند که در جهت توقف یا جلوگیری از تشکیل رادیکال‌های آزاد یا گونه‌های فعال عمل می‌کنند. این مولکول‌ها قادرند به‌سرعت مولکول های دارای پتانسیل تبدیل‌شدن به رادیکال‌های آزاد و یا رادیکال‌های آزاد دارای پتانسیل تبدیل‌شدن به سایر رادیکال‌های آزاد را خنثی نمایند. سه آنزیم کلیدی سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز در صدر لیست آنتی‌اکسیدان‌های این گروه قرار می‌گیرند. این آنزیم‌ها به‌ترتیب دیسموتاز کردن رادیکال سوپراکسید، تجزیه پراکسید هیدروژن و هیدروپراکسید به مولکول‌های بی‌خطر نظیر آب،

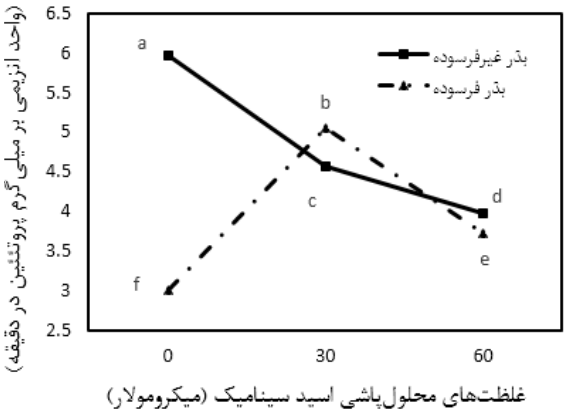
اکسیژن و الکل را بر عهده دارند (ایگودارو و اکینلوی، ۲۰۱۷). از بررسی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در این مطالعه می‌توان نتیجه‌گیری کرد که کاربرد اسید سینامیک در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده می‌تواند سبب افزایش فعالیت این آنزیم گردد. در حالی که کاربرد آن در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده کاهش فعالیت آن را در پی دارد. این نتیجه می‌تواند ناشی از ماهیت دوگانه اسید سینامیک در شرایط تنش و عدم‌تنش باشد. از سوی دیگر، همواره افزایش فعالیت یک آنزیم مفید نمی‌باشد. زیرا در شرایطی که نیاز فیزیولوژیکی به افزایش فعالیت وجود ندارد، روند افزایشی می‌تواند سبب اتلاف انرژی در سیستم بیولوژیک گردد و حتی آن را به سمت نابودی سوق دهد. در این مطالعه، در شرایط عدم تنش نیازی به افزایش فعالیت آنزیم نبوده است.



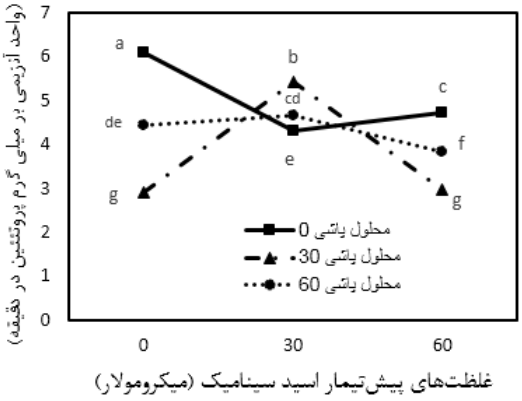
شکل ۴-۷۲. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و سال. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴-۷۳. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴-۷۴. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز. تغییرات فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تحت تاثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

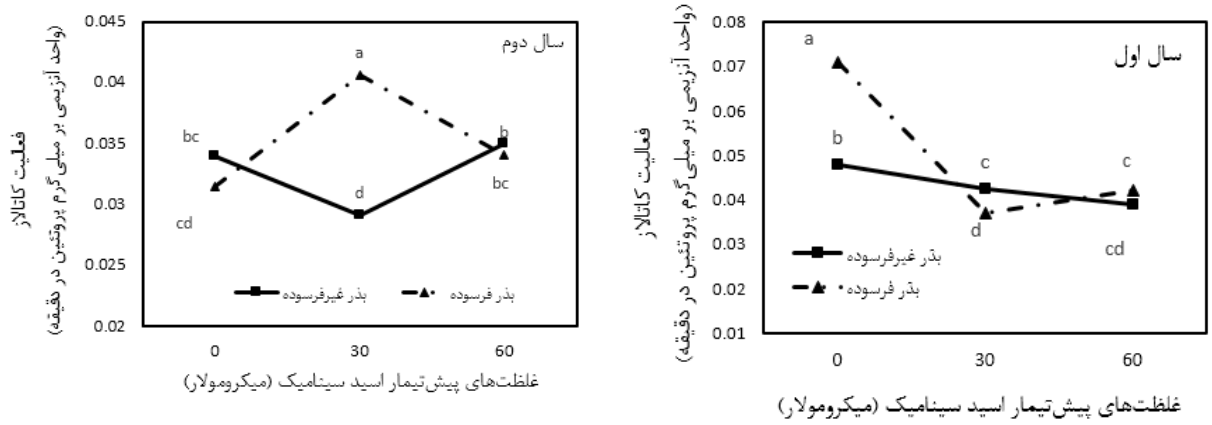


شکل ۴-۷۵. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز. تأثیر برهم‌کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها می‌باشد.

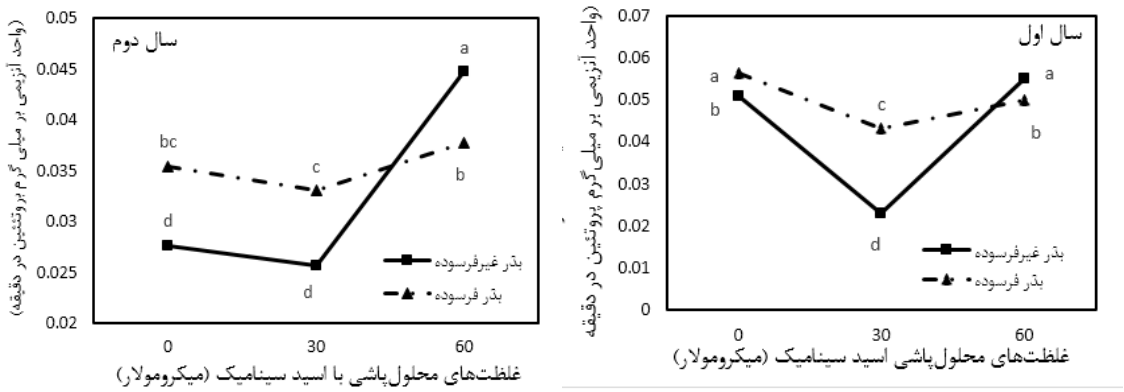
۴-۲-۱۴-۲-کاتالاز

آزمون بارتلت برای داده‌های مربوط به این آنزیم معنی‌دار شد. در نتیجه داده‌های هر سال به‌صورت جداگانه آنالیز شدند. در سال اول، تمامی اثرات اصلی و متقابل برای این صفت در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شدند. در سال دوم نیز به جز اثر اصلی پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک سایر اثرات اصلی و متقابل در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شدند (جدول پیوست ۱۷) . در سال اول فعالیت آنزیم کاتالاز در بذرهای فرسوده بدون پیش‌تیمار با اسید سینامیک در مقایسه با بذرهای غیرفرسوده و سایر تیمارها به‌صورتی معنی‌دار بیشتر بود. این نتیجه می‌تواند به‌سبب فعال‌شدن مکانیسم های داخلی بذر در شرایط مواجهه با تنش فرسودگی باشد. کاربرد اسید سینامیک با هر دو غلظت هم در بذرهای فرسوده و هم غیرفرسوده به‌صورت پیش‌تیمار سبب افت معنی‌دار فعالیت این آنزیم در مقایسه با بذرهای تیمار نشده با اسید سینامیک گردید. در سال دوم پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار تغییر معنی‌داری در میزان فعالیت این آنزیم در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده و غیرفرسوده ایجاد نکرد نداشت ولی پیش‌تیمار با غلظت ۳۰ میکرومولار موجب کاهش معنی‌دار در بذر غیرفرسوده و افزایش معنی دار در بذر فرسوده گردید (شکل ۴-۷۶). اگرچه در سال اول محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم را در گیاهان حاصل از هر دو کیفیت بذر درپی داشت ولی در سال دوم محلول‌پاشی با این غلظت تأثیری نداشت. کاربرد غلظت بالاتر به‌صورت محلول‌پاشی در هر دو

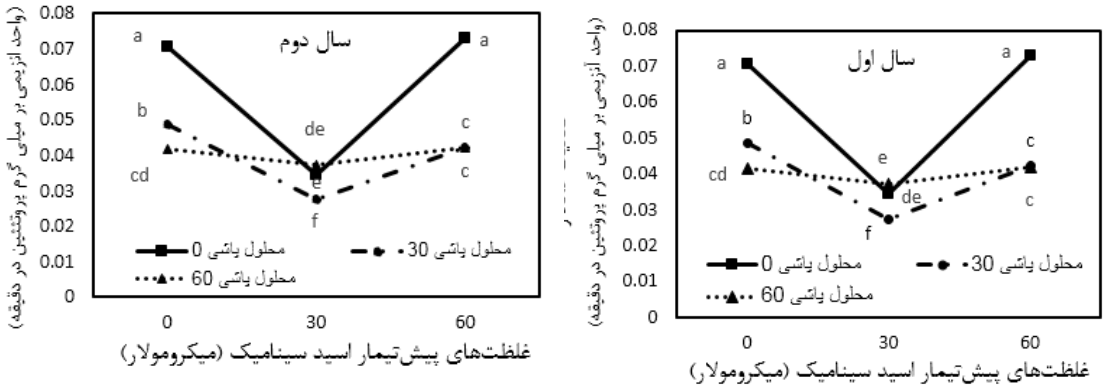
سال سبب افزایش معنی‌دار فعالیت کاتالاز در گیاهان رشد یافته از بذور غیرفرسوده در مقایسه با شاهد گردید. مقدار این افزایش نسبت به عدم محلول‌پاشی در سال‌های اول و دوم به‌ترتیب ۱۰ و ۶۳ درصد بود. به‌طور کلی محلول‌پاشی با هیچ کدام از غلظت‌های اسید سینامیک اثر مثبتی بر فعالیت این آنزیم در گیاهان حاصل از بذور فرسوده نداشت (شکل۴-۷۷). بررسی برهم‌کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی اسید سینامیک در هر دو سال آزمایش بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط عدم به‌کارگیری اسید سینامیک (شاهد) به همراه ترکیب پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار بدون انجام محلول‌پاشی مشاهده گردید سایر ترکیبات تیماری سبب کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم بین ۴۶ تا ۶۱/۴ درصد در سال اول و ۳۱/۴۲ و ۶۱/۴ درصد در سال دوم در مقایسه با شاهد شدند. کمترین فعالیت آنزیم در هر دو سال مربوط به شرایط پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت پایین اسید سینامیک بود (شکل ۴-۷۸). بررسی اثر سه‌گانه کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک نشان داد که در سال اول بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده مربوط به شرایط بدون کاربرد اسید سینامیک و در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده مربوط به گیاهان محلول‌پاشی شده با بالاترین غلظت اسید سینامیک بود. در مجموع، کاربرد اسید سینامیک در سال اول کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز را در پی داشت. در سال دوم در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده بیشترین و کمترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز عکس سال اول بود. در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده، بیشترین فعالیت در ترکیب تیماری عدم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۶۰ میکرومولار (نظیر سال اول) و کمترین فعالیت در تیمار شاهد مشاهده گردید (جدول پیوست ۱۹)



شکل ۴-۷۶. فعالیت آنزیم کاتالاز. تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در دو سال آزمایش بر فعالیت آنزیم کاتالاز. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴-۷۷. فعالیت آنزیم کاتالاز. تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در دو سال آزمایش بر فعالیت آنزیم کاتالاز. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



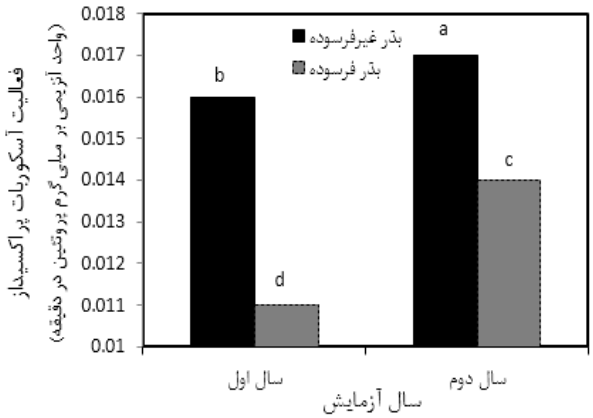
شکل ۴-۷۸. فعالیت آنزیم کاتالاز. تأثیر برهم کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در دو سال آزمایش بر فعالیت آنزیم کاتالاز. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می باشد.

۴-۲-۱۴-۳-آسکوربات پراکسیداز

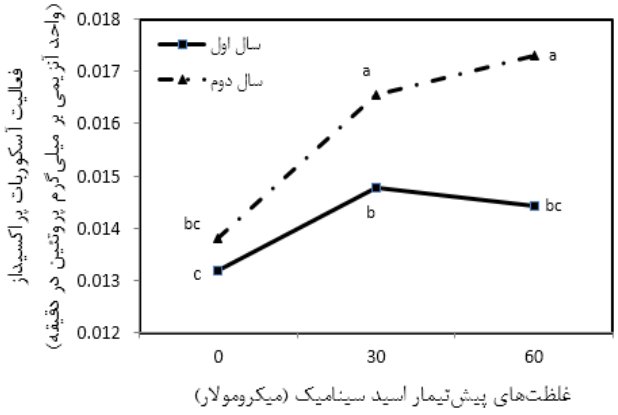
بر اساس نتایج تجزیه مرکب، تمامی اثرات اصلی و متقابل (به‌جز برهم‌کنش سال و محلول‌پاشی اسید سینامیک، سال و کیفیت اولیه بذر و پیش تیمار، همچنین سال و کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی و نیز اثر چهارگانه) معنی‌دار شدند (جدول پیوست ۱۷). فرسودگی بذر سبب کاهش ۳۱/۲۵ و۱۷/۶۴ درصدی در فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به‌ترتیب در سال‌های اول و دوم آزمایش در گیاهان حاصل از این بذور نسبت به بذرهای غیرفرسوده گردید (شکل ۴-۷۹). همچنین، در هر دو سال پیش تیمار با هر دو غلظت اسید سینامیک سبب افزایش معنی‌دار فعالیت این آنزیم در مقایسه با عدم پیش تیمار گردید. البته اختلاف بین دو غلظت از نظر آماری معنی‌دار نبود (شکل ۴-۸۰). بررسی برهم‌کنش

کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک حاکی از آن بود که گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده از نظر میزان فعالیت این آنزیم پاسخ معنی‌داری به پیش‌تیمار با اسید سینامیک ندادند. اما در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده پیش‌تیمار غلظت‌های اسید سینامیک سبب افزایش قابل ملاحظه فعالیت آسکوربات پراکسیداز (در حدود ۲۸/۵ درصد) در مقایسه با شاهد گردید (شکل ۴- ۸۱). همچنین، محلول‌پاشی گیاهان رشد یافته از بذرهای غیرفرسوده سبب کاهش معنی‌دار فعالیت این آنزیم گردید. میزان این کاهش در غلظت‌های ۳۰ و ۶۰ میکرومولار به ترتیب ۳۸ و ۱۹ درصد در مقایسه با شاهد بود. در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده نیز محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار سبب کاهش ۳۲ درصدی فعالیت این آنزیم گردید. ولی محلول‌پاشی غلظت بالاتر معنی‌دار نبود (شکل ۴- ۸۲). در شکل ۴-۸۳ که مربوط به اثر متقابل پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک می‌باشد، نشان داده شده است که هیچ کدام از ترکیبات تیماری مورد مطالعه نتوانستند فعالیت آسکوربات پراکسیداز را نسبت به شاهد بهبود بخشند. بیشترین فعالیت این آنزیم در شرایط شاهد و نیز در ترکیبات تیماری عدم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۶۰ میکرومولار و نیز پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار مشاهده شد. در حالی که کمترین فعالیت آنزیم از ترکیب تیماری پیش‌تیمار با غلظت ۳۰ میکرومولار و عدم محلول‌پاشی اسید سینامیک به‌دست آمد. بررسی اثرات سه‌گانه نشان داد که در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده بیشترین فعالیت آنزیم در ترکیب تیماری پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار و عدم محلول‌پاشی ثبت گردید (که در مقایسه با همه ترکیبات تیماری برتر بود) و کمترین فعالیت در ترکیب تیماری عدم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار مشاهده گردید. در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده، بیشترین میزان به طور مشترک در دو ترکیب تیماری پیش‌تیمار با غلظت ۳۰ میکرومولار و عدم محلول‌پاشی و نیز عدم پیش تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۶۰ میکرومولار ثبت گردید. کمترین فعالیت نیز در شرایط اعمال پیش تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار و نیز محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار بدون پیش تیمار اسید سینامیک به‌دست آمد (جدول پیوست ۲۰). در جدول پیوست ۲۱ نیز نشان داده شده است که بر اساس نتایج حاصل از بررسی اثر سه‌گانه سال، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک، بیشترین میزان فعالیت آنزیم در ترکیبات تیماری عدم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی در سال اول، پیش‌تیمار با غلظت ۳۰ میکرومولار و محلول‌پاشی با غلظت ۶۰ میکرومولار در سال اول، پیش

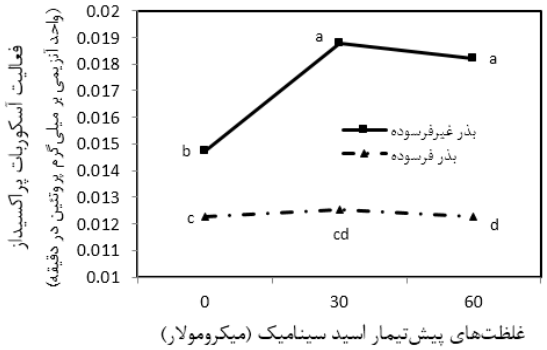
تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار و عدم محلول‌پاشی در سال اول، پیش‌تیمار با غلظت ۳۰ میکرومولار و عدم محلول‌پاشی در سال دوم، عدم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی در سال دوم، عدم پیش‌تیمار و محلول پاشی با غلظت ۶۰ میکرومولار در سال دوم و پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ و عدم محلول‌پاشی در سال دوم مشاهده شد که با هم در یک گروه آماری قرار گرفتند



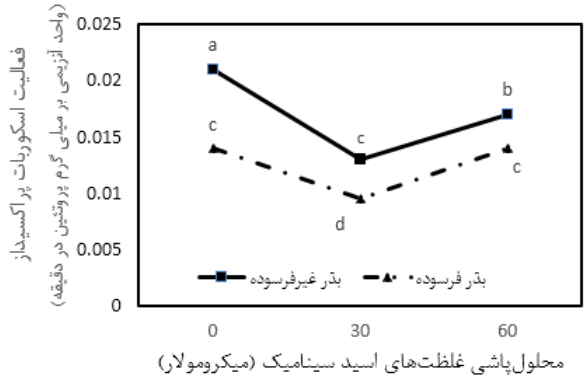
شکل ۴-۷۹. آنزیم آسکوربات پراکسیداز. تأثیر برهم‌کنش سال و کیفیت اولیه بذر بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می باشد.



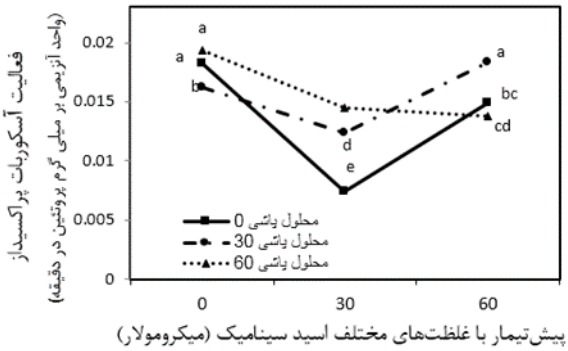
شکل ۴-۸۰. آنزیم آسکوربات پراکسیداز. تأثیر برهم‌کنش سال و پیش‌تیمار بذر با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴- ۸۱. آنزیم آسکوربات پراکسیداز. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های اسید سینامیک بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴- ۸۲. آنزیم آسکوربات پراکسیداز. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی با غلظت‌های اسید سینامیک بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴- ۸۳. آنزیم آسکوربات پراکسیداز. تأثیر برهم کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

۴-۲-۱۴-۴- پراکسیداز

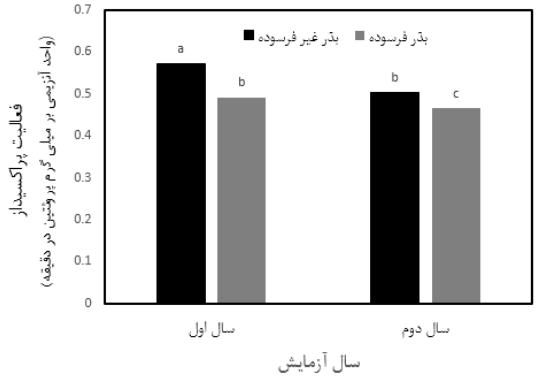
بررسی نتایج تجزیه مرکب داده‌های مربوط به آنزیم پراکسیداز حاکی از آن بود که اثر هر سه تیمار آزمایش و برهم‌کنش دوگانه و سه‌گانه آن‌ها، همچنین اثر سال و برهم‌کنش آن با کیفیت بذر، برهم کنش سال و کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار، برهم‌کنش سال و پیش‌تیمار و محلول‌پاشی و نیز برهم‌کنش چهارگانه بر این صفت معنی‌دار بود (جدول پیوست ۱۷).

در شکل ۴-۸۴ مشاهده می‌شود که در هر دو سال فعالیت آنزیم پراکسیداز در بذرهای غیرفرسوده به‌طور معنی‌داری بیشتر از بذرهای فرسوده بود. همچنین، پیش‌تیمار بذرهای غیرفرسوده و محلول‌پاشی گیاهان حاصل با غلظت ۳۰ میکرومولار اسید سینامیک تأثیری بر فعالیت این آنزیم نداشت. ولی پیش تیمار غلظت بالاتر موجب کاهش معنی‌دار و محلول‌پاشی این غلظت سبب افزایش فعالیت آن گردید. پیش‌تیمار بذرهای فرسوده با غلظت ۳۰ میکرومولار موجب کاهش فعالیت پراکسیداز گردید. این در حالی بود که کاربرد غلظت ۶۰ میکرومولار اسید سینامیک چه به‌صورت پیش‌تیمار و چه به‌صورت محلول‌پاشی افزایش معنی‌دار فعالیت این آنزیم در مقایسه با گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده بدون کاربرد اسید سینامیک را در پی داشت (شکل های ۴-۸۵ و ۴-۸۶). در بین ۹ ترکیب تیماری حاصل از پیش‌تیمار و محلول‌پاشی، بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگ گیاهانی مشاهده شد که ابتدا بذر آنها با بالاترین غلظت اسید سینامیک پیش‌تیمار و سپس با همین غلظت محلول‌پاشی شدند. تنها این ترکیب تیماری بود که موجب بهبود ۶ درصدی فعالیت آنزیم نسبت به شاهد گردید. کمترین فعالیت

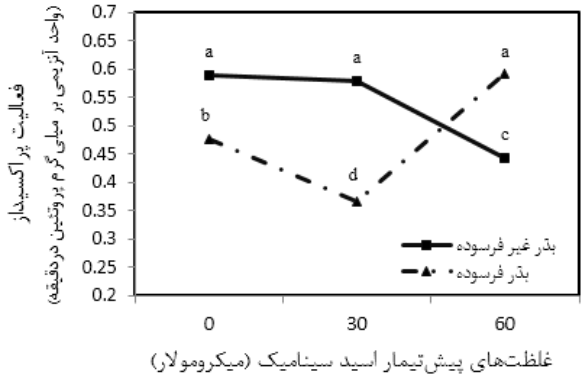
آنزیم با اختلاف قابل توجه در شرایط پیش‌تیمار با غلظت ۳۰ میکرومولار بدون انجام محلول‌پاشی ثبت گردید (شکل ۴-۸۷).

مطالعه برهم‌کنش سه‌گانه کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک حاکی از آن بود که در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده، فعالیت این آنزیم در گیاهان شاهد و ترکیبات تیماری پیش‌تیمار با غلظت ۳۰ میکرومولار و محلول‌پاشی همین غلظت و غلظت ۶۰ میکرومولار بالاتر از بقیه بود. در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده، بیشترین فعالیت مربوط به کاربرد بالاترین غلظت‌ها برای پیش‌تیمار و محلول‌پاشی بود (جدول پیوست ۲۲). نتایج بررسی اثرات سه‌گانه سال، کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک حاکی از آن بود که بیشترین میزان فعالیت پراکسیداز مربوط به ترکیبات تیماری بذرهای غیرفرسوده پیش‌تیمار شده با غلظت ۳۰ میکرومولار اسید سینامیک در سال اول و بذرهای فرسوده پیش‌تیمار شده با غلظت ۶۰ میکرومولار اسید سینامیک در سال اول بود که با شاهد در یک گروه آماری قرار گرفتند. این در حالی است که کمترین فعالیت در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده پیش‌تیمار شده با غلظت ۳۰ میکرومولار اسید سینامیک در سال اول و نیز سال دوم مشاهده گردید (جدول پیوست ۲۳). بر اساس نتایج اثرات متقابل سه‌گانه سال، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (جدول پیوست ۲۶) بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در ترکیبات تیماری عدم کاربرد اسید سینامیک و پیش‌تیمار و محلول پاشی با بالاترین غلظت آن در سال اول و کمترین آن در عدم کاربرد اسید سینامیک در سال دوم به دست آمد.

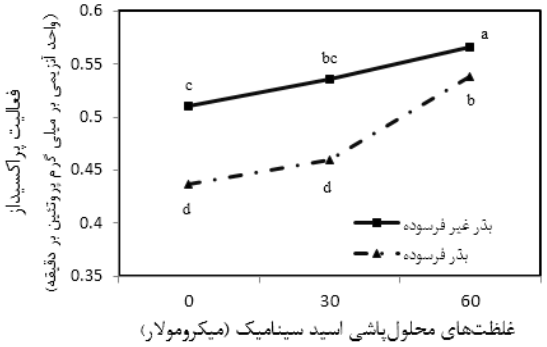
بررسی اثرات چهارگانه سال، کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک نشان داد که بیشترین فعالیت آنزیم در شرایط تیمار شاهد، پیش‌تیمار بذرهای فرسوده و محلول‌پاشی گیاهان حاصل از آن با بالاترین غلظت اسید سینامیک در سال اول و نیز پیش‌تیمار بذرهای غیرفرسوده و محلول‌پاشی گیاهان حاصل با غلظت ۳۰ میکرومولار اسید سینامیک در سال اول می‌باشد (جدول پیوست ۲۵). به‌طور کلی بر اساس نتایج به‌دست آمده، کاربرد اسید سینامیک در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده سبب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز می‌گردد.



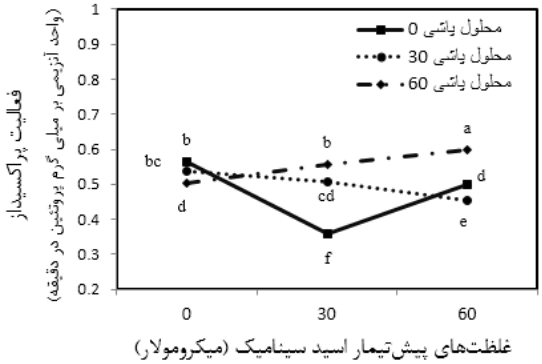
شکل ۴-۸۴. فعالیت آنزیم پراکسیداز. تأثیر برهم کنش سال و کیفیت اولیه بذر بر فعالیت آنزیم پراکسیداز. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد.



شکل ۴-۸۵. فعالیت آنزیم پراکسیداز. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و پیش تیمار با غلظت های مختلف اسید سینامیک بر فعالیت آنزیم پراکسیداز. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد.



شکل ۴-۸۶. فعالیت آنزیم پراکسیداز. تأثیر برهم کنش کیفیت اولیه بذر و محلول پاشی با غلظت های مختلف اسید سینامیک بر فعالیت آنزیم پراکسیداز. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد.



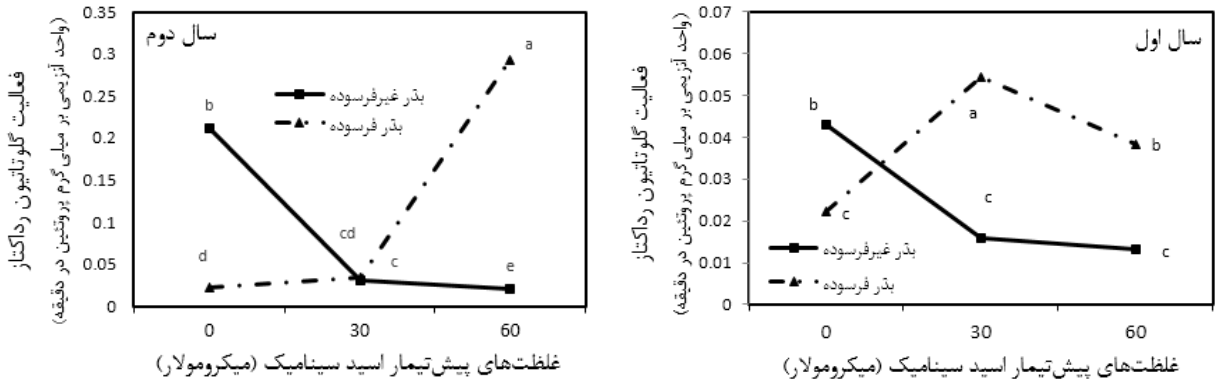
شکل ۴-۸۷. فعالیت آنزیم پراکسیداز. تأثیر برهم کنش کیفیت پیش تیمار و محلول پاشی با غلظت های مختلف اسید سینامیک بر فعالیت آنزیم پراکسیداز. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد.

۴-۲-۱۴-۵- گلوتاتیون رداکتاز

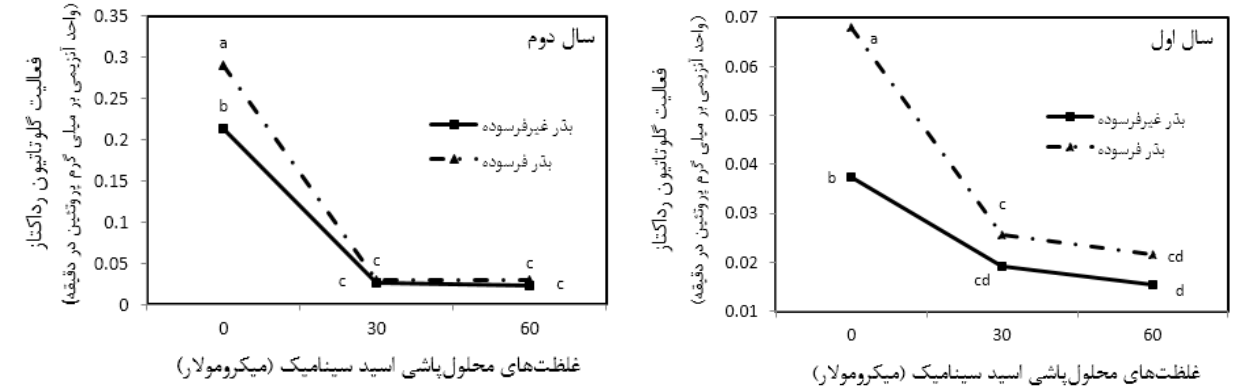
از آنجایی که آزمون بارتلت برای داده‌های این صفت معنی‌دار بود، داده‌های مربوط به هر سال به طور جداگانه آنالیز گردیدند. بر اساس نتایج تجزیه واریانس، تمامی اثرات اصلی و متقابل در هر دو سال در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شدند (جدول پیوست ۱۷). واکنش فعالیت آنزیم گلوتاتیون رداکتاز در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده و غیرفرسوده به پیش‌تیمار با غلظت‌های اسید سینامیک متفاوت بود. به‌گونه‌ای که در سال اول فعالیت گلوتاتیون رداکتاز در برگ گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده با انجام پیش‌تیمار غلظت‌های ۳۰ و ۶۰ میکرومولار اسید سینامیک در مقایسه با بذرهای فرسوده بدون

پیش‌تیمار به ترتیب ۵۹ و ۴۲ درصد افزایش داشت. اگرچه در سال اول پیش‌تیمار بذور فرسوده با غلظت ۳۰ میکرومولار مؤثرتر بود ولی در سال دوم این غلظت تأثیر معنی‌داری نداشت و در مقابل پیش‌تیمار بذور فرسوده با غلظت ۶۰ میکرومولار سبب افزایش قابل توجه ۹۲ درصدی فعالیت آنزیم گلوتاتیون رداکتاز شد و بیشترین فعالیت این آنزیم را در بین تیمارهای مورد مطالعه رقم زد (شکل ۴-۸۸). در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده در هر دو سال آزمایش، انجام پیش‌تیمار موجب کاهش معنی‌دار فعالیت گلوتاتیون رداکتاز در مقایسه با شاهد گردید. اثر هر دو غلظت پیش‌تیمار از این نظر یکسان و مقدار کاهش مشاهده شده در سال‌های اول و دوم به‌ترتیب ۶۷/۵ و ۸۸ درصد بود (شکل ۴-۸۸). بررسی اثر محلول‌پاشی برگی اسید سینامیک (شکل ۴-۸۹) نشان داد که در هر دو سال در سطح صفر محلول پاشی فعالیت آنزیم گلوتاتیون رداکتاز در برگ گیاهان حاصل از بذور فرسوده بیشتر از غیرفرسوده بود و این برتری به‌لحاظ آماری نیز نسبت به سایر ترکیبات تیماری وجود داشت. در هر دو کیفیت بذر، فعالیت آنزیم در اثر محلول‌پاشی با غلظت‌های ۳۰ و ۶۰ میکرومولار اسید سینامیک به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. اثر دو غلظت از این نظر یکسان بود. همچنین، بر اساس نتایج بررسی اثر برهم‌کنش پیش تیمار و محلول‌پاشی، فقط ترکیب تیماری عدم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ میکرومولار در سال اول و عدم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت ۶۰ میکرومولار در سال دوم به ترتیب با ۳۱/۵ و ۴۵ درصد افزایش توانستند فعالیت این آنزیم را به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد ارتقاء بخشند. در حالی که سایر ترکیبات تیماری در مقایسه با شاهد به‌طور معنی‌دار و قابل توجه از فعالیت کمتری در این آنزیم برخوردار بودند (شکل ۴-۹۰).

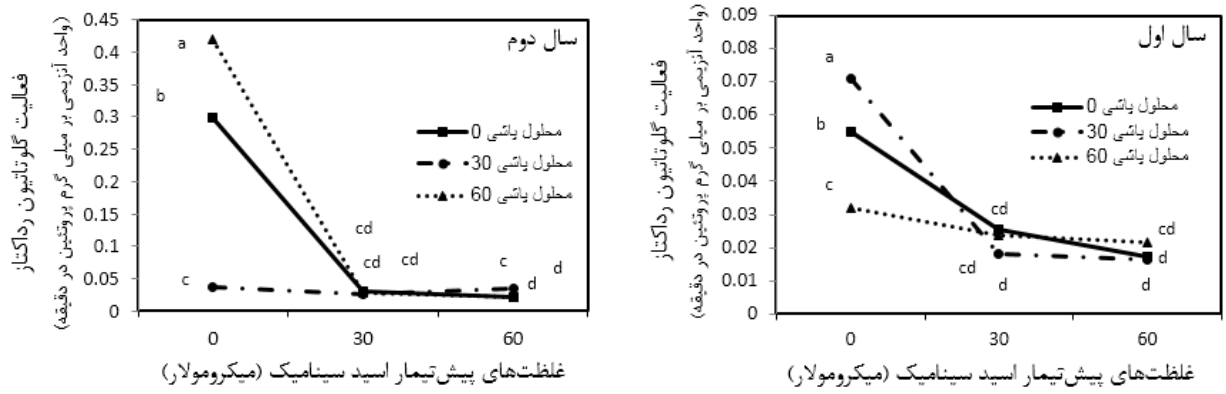
در مطالعه اثر برهم‌کنش سه‌گانه کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی غلظت‌های اسید سینامیک مشخص گردید که در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده در هر دو سال بیشترین میزان فعالیت آنزیم در گیاهان ثبت گردید. در حالی که در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده، بیشترین میزان در سال اول در ترکیب تیماری پیش‌تیمار با غلظت ۳۰ میکرومولار و عدم محلول‌پاشی و در سال دوم در پیش‌تیمار با غلظت ۶۰ میکرومولار و عدم محلول‌پاشی ثبت گردید (جدول پیوست ۲۶).



شکل ۴-۸۸. فعالیت آنزیم گلوتاتیون رداکتاز. تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در دو سال آزمایش بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون رداکتاز. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴-۸۹. فعالیت آنزیم گلوتاتیون رداکتاز. تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در دو سال آزمایش بر فعالیت گلوتاتیون رداکتاز. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۴-۹۰. فعالیت آنزیم گلوتاتیون رداکتاز. تأثیر برهم‌کنش پیش‌تیمار و محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسید سینامیک در دو سال آزمایش بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون رداکتاز. حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

۴-۳- نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد صفات مورد بررسی بر حسب کیفیت اولیه بذر لوبیا چشم بلبلی توده محلی بسطام واکنش متفاوتی به کاربرد اسید سینامیک داشتند. در مواردی که در گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده کاربرد اسید سینامیک سبب کاهش یک صفت گردید، بدان معناست که سیستم آنتی اکسیدانی گیاه به اندازه کافی کارآمد بود تا از اثرات مخرب تنش فرسودگی بکاهد و نیازی به صرف انرژی اضافی برای راه‌اندازی مکانیسم‌های دیگر نبوده است. در عین حال باید توجه داشت که بر اساس نتایج برخی مطالعات روی اسید سینامیک، این متابولیت ثانویه همانند شمشیر دو لبه عمل می‌کند. یعنی در عین حال که قادر است در شرایط مواجهه بذر یا گیاه با انواع تنش های محیطی به صورتی کارامد نقش آنتی‌اکسیدانی ایفا نماید ولی در مواقعی که غلظت درونی آن بالا می‌رود نه‌تنها به‌عنوان عامل آنتی‌اکسیدان عمل نمی‌نماید بلکه خود سبب وارد آمدن تنش به سیستم بیولوژیک می‌گردد و در نهایت موجب کاهش برخی صفات یا بلوکه‌شدن بعضی فرآیندها می‌شود. برای مثال، کاهش برخی صفات در گیاهان حاصل از بذرهای غیرفرسوده می‌تواند ناشی از افزایش غلظت درونی این ترکیب باشد. در مجموع می‌توان اسید سینامیک را به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی در شرایط فرسودگی بذر لوبیا چشم بلبلی برای کاهش برخی اثرات مخرب ناشی از واکنش‌های دخیل در فرسودگی معرفی کرد. ولی مکانیسم های دخیل در اثرات این متابولیت هنوز ناشناخته می‌باشند.

۴-۴- پیشنهادها

- از آنجایی که پیش‌تیمار بذر با غلظت ۴۵ میکرومولار اسید سینامیک به‌ویژه در بذرهای فرسوده سبب بهبود برخی صفات جوانه‌زنی و نیز صفات فیزیولوژیک بذر گردید، مطالعه طیف وسیع تری از غلظت‌های اسید سینامیک (غلظت‌های نزدیک به ۴۵ میکرومولار) برای تعیین بهترین غلظت و یا محدوده غلظت‌های مناسب این ترکیب و نیز تعیین غلظت‌های دارای اثرات اکسیدانی بر صفات فیزیولوژیک پیشنهاد می‌گردد.

- بررسی‌های اندکی در خصوص اسید سینامیک و پاسخ‌های آن موجود است. لذا شاید نتوان نتایج حاصل را به همه گیاهان تعمیم داد. توصیه می‌شود سایر گیاهان زراعی نیز مورد بررسی قرار گیرند.
- مطالعه متابلوم بذرهای فرسوده به‌ویژه در غلظت‌های مناسب.

پیوست

جدول پیوست ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات مرتبط با جوانه‌زنی، بنیه بذر و گیاهچه‌های نرمال تحت تأثر کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با اسید سینامیک

منابع تغییر	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی	شاخص بنیه بذر	درصد گیاه‌چه‌های نرمال	زمان تا ۱۰ درصد جوانه‌زنی	زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی
کیفیت اولیه بذر (A)	۱	۴۰۸۰/۴ **	۳۵۳۲۴۸۲/۷۷ **	۱۳۶۹۰ **	۶۷۲۸/۸۳۶۰ **	۱۲۸۷۷/۳۳۲۲ **	۰/۰۱۴۰۶ **
پیش تیمار اسید سینامیک (B)	۴	۱۳۶/۶ *	۹۲۶۱۴/۷ ns	۵۴۷/۴۰ **	۵۹/۵۹۹۰ **	۷۳/۰۹۹۷۵ *	۰/۰۰۰۰۹۱۲۵ ns
AB	۴	۱۰۵/۴ *	۲۵۰۶۹۳/۵ **	۹۱۷ **	۹۱/۳۴۱۷۵ **	۷۳/۲۸۲۲ **	۰/۰۰۰۱۰۶۲ ns
خطا	۲۷	۴۰۲۸۱۴۸۱	۹۸/۱۶	۹۸/۸۷	۱۳/۳۳	۱۷/۸۳	۰/۰۰۰۰۶
ضریب تغییرات (درصد)		۷/۱۸	۱۶/۵۸	۱۲/۲۳	۱۹/۵۱	۱۱/۸	۲۰/۷۸

*، ** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و غیر معنی‌دار است

جدول پیوست ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات یکنواختی جوانه‌زنی، وزن خشک گیاه‌چه، انتقال ذخایر طی جوانه‌زنی بذر و نشت الکترولیت‌ها تحت تأثر کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار با اسید سینامیک

منابع تغییر	درجه آزادی	یکنواختی جوانه‌زنی	وزن خشک گیاه‌چه (گرم)	سطح زیر منحنی	مقدار استفاده از ذخایر بذر	کارایی استفاده از ذخایر	کسر ذخایر منتقل شده	نشت الکترولیت‌ها
کیفیت اولیه بذر (A)	۱	۹۲۳/۵۲۱ *	۱۵/۹۵۴۲۱ **	۱۵۹۰۰/۱۵۶۲۵ **	۰/۱۸۶۲ **	۰/۳۷۲۴ **	۰/۰۰۰۷۹۰ **	۱۳۵۴/۴۸ **
پیش تیمار اسید سینامیک (B)	۴	۶۲۸/۶۹۴۱ **	۰/۱۹۰۲۷۳ *	۵۳/۵۹۱۲۸ *	۰/۰۵۰۴۷ **	۰/۱۹۱۱۰ **	۰/۰۸۷۴۶ **	۲۳۵۳/۸۴ **
AB	۴	۲۱۸/۷۵۵۳ ns	۰/۰۴۰۸۲۳ ns	۲۸/۶۰۵۶۲ ns	۰/۰۴۰۶۶ **	۰/۰۱۸۸۷ **	۰/۰۷۶۰۸ **	۱۸۸۴/۷۹ **
خطا	۲۷	۱۲۸/۰۲	۲۱/۱۲	۱۶/۳۷	۰/۰۰۱۴	۰/۰۰۳۶	۰/۰۰۸۲	۴۶/۲۲
ضریب تغییرات (درصد)		۲۷/۸۲	۱۹/۱۰	۷/۵	۲/۹۷	۱۴/۲۶	۱۶/۰۷	۱۴/۸۵

*، ** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و غیر معنی‌دار است.

جدول پیوست ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان و پراکسیداسیون لیپیدها در بذر تحت تأثیر کیفیت اولیه بذر و پیش تیمار با اسید سینامیک

منابع تغییر	درجه آزادی	سوپراکسید دیسموتاز	کاتالاز	پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز	گلوتاتیون رداکتاز	پراکسیداسیون لیپیدها
کیفیت اولیه بذر (A)	۱	۰/۲۸۷۹۹**	۰/۴۶۴۷۵**	۰/۰۰۰۰۱۳۳۳*	۰/۰۰۰۸۲۲ **	۰/۰۰۰۰۷۶۸۰**	۰/۰۰۳۱۶۲۱۳**
پیش‌تیمار اسید سینامیک (B)	۴	۰/۱۱۵۱۶**	۰/۰۸۲۶۰۱ **	۰/۰۰۰۰۱۷۲۲**	۰/۰۱۹۶۶۰ **	۰/۰۰۰۰۱۹۱۳ ^{ns}	۰/۰۳۳۳۳۹۷۲**
AB	۴	۰/۰۹۸۷۹**	۰/۱۹۸۲۴**	۰/۰۰۰۰۶۸۵۸**	۰/۰۰۴۲۸ **	۰/۰۰۰۰۳۷۳۰*	۰/۰۲۱۲۱۰۳۸**
خطا	۲۷	۰/۵۸۷	۰/۰۱۰۴	۰/۰۰۰۰۰۱۹۱	۰/۰۰۰۵۶	۰/۰۰۰۰۰۸۲۱	۰/۰۰۰۱۳۴
ضریب تغییرات (درصد)		۱۸/۴۳	۲۲/۱۰۶	۲۰/۵۵	۲۷/۲۴	۳۴/۶۷	۸/۸۲

*، ** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و غیر معنی‌دار است.

جدول پیوست ۴ - تجزیه مرکب (میانگین مربعات) عملکرد، اجزای عملکرد، تجمع ماده خشک و برخی صفات مورفولوژیک تحت تأثیر سال‌های آزمایش، کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار بذر و محلول‌پاشی با اسید سینامیک

منابع تغییر	درجه آزادی	ماده خشک کل	ارتفاع بوته	تعداد شاخه فرعی	تعداد غلاف در بوته	تعداد دانه در غلاف	وزن هزار دانه (گرم)	عملکرد دانه (گرم در متر مربع)
تکرار (R)	۲	۱۵۸۵/۱۰	۵/۸۴	۱/۶۸	۴۷/۵۰	۰/۳۶	۶۲/۵۷	۱۰۰۸/۵۴
سال (Y)	۱	۱۷۱۹/۱۳ *	۹/۶۶ ns	۲/۵۳ ns	۹/۴۸ ns	۱۰/۱۰ **	۱۳۱/۷۸ ns	۲۲/۴۴ ns
Y×R	۲	۱۷۲/۴۱ ns	۹/۳۰	۰/۱۶	۵/۸۹	۰/۱۷	۱۲۷/۶۵	۹۴/۹۶
کیفیت اولیه بذر (A)	۱	۱۷۴۰۲/۸۱ **	۰/۰۶ ns	۸۷/۰۳ **	۳۰۹۳/۳۷ **	۰/۰۳ ns	۵۱/۲ ns	۳۰۳۷۶/۵۰ **
Y×A	۱	۲۳۰۷/۸۷ *	۰/۷۳ ns	۱/۶۵ ns	۱۳/۳۷ ns	۰/۰۱ ns	۱/۳۲ ns	۱۲۰۶/۶۷ ns
پیش‌تیمار(B)	۲	۸۰۱۵/۳۱ **	۳۵/۸۸ ns	۳/۹۴ *	۱۰۲۴/۷۸ **	۰/۸۹ ns	۲۱۷۹/۴۹ ns	۲۰۴۲۷/۹۶ **
محلول‌پاشی (C)	۲	۸۶۶۶/۸۵ **	۱۴۳/۹۱ **	۱/۰۹ ns	۹۳/۷۸ ns	۱/۶۷ ns	۱۳/۴۷۳ ns	۱۳۹۷۷/۰۸ **
A×B	۲	۲۳۸۴۹/۲۷ **	۹۰/۹۳ **	۰/۸۷ ns	۸۷۸/۶۲ **	۰/۸۶ ns	۲۱۳۲۰/۵۲ **	۲۸۹۰۶/۷۹ **
A×C	۲	۳۷۹۴/۱۲ **	۳۰/۶۰ ns	۰/۰۹ ns	۱۴۴۹/۰۶ **	۳/۱۳ *	۳۹۷۱۲/۶۵ **	۳۴۸۷۳/۵۱ **
B×C	۴	۹۲۷۸/۳۵ **	۵۷/۱۷ *	۱۱/۱۶ **	۳۱۶/۸۰ **	۶/۹۹ **	۱۵۲۷۶/۱۹ **	۲۲۳۴۲/۵۴ **
A×B×C	۴	۲۰۳۲/۲۳ **	۱۶۲/۲۶ **	۱۵/۶۶ **	۸۶۲/۲۷ **	۵/۰۲ **	۷۴۶۴/۰۱ **	۳۱۵۲۳/۲۳ **
Y×B	۲	۱۴۹۴/۶۲ *	۱/۱۶ ns	۰/۴۷ ns	۱۹ ns	۰/۰۱ ns	۱۷۷/۰۶ ns	۵۴۹/۰۹ ns
Y×C	۲	۱۲۵۷/۱۹ ns	۴/۶۵ ns	۰/۸۹ ns	۷۸/۶ ns	۰/۱۸ ns	۷۶۰/۲۴ ns	۵۶۲/۳۱ ns
Y×A×B	۲	۷۵۳/۳۳ ns	۲/۸۰ ns	۰/۰۸ ns	۲۸/۵۰ ns	۰/۳۸ ns	۱۷/۵۸ ns	۳۸۱/۵۲ ns
Y×A×C	۲	۲۲۸/۰۸ ns	۰/۳۹ ns	۰/۸۵ ns	۱۰/۹۵ ns	۱/۸۰ ns	۴۰۲/۲۱ ns	۳۶۹/۲۵ ns
Y×B×C	۴	۱۲۵۳/۶۱ *	۷/۵۸ ns	۰/۸۴ ns	۹۳/۸ ns	۰/۸۲ ns	۲۲۴/۴۰ ns	۷۳۰/۱۰ ns
Y×A×B×C	۴	۹۱۵/۳۴ *	۳/۶۹ ns	۰/۵۳ ns	۲۳/۶۳ ns	۰/۳۰ ns	۳۰۹/۱۷ ns	۷۳۲/۶۸ ns
خطا	۶۸	۴۵/۳۴	۱۶/۲۳	۰/۹۲۴	۳۴/۷۶	۰/۷۵۶	۷۲۷/۷۳	۱۲۵۰/۵۰
ضریب تغییرات (درصد)		۱۴/۴۲	۱۰/۴۲	۱۴/۶۱	۱۶/۰۶	۱۴/۵۸	۱۳/۶۸	۱۴/۱۸

*، ** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و غیر معنی‌دار است

جدول پیوست ۵. مقایسه میانگین اثر ترکیب‌های تیماری حاصل از کیفیت اولیه بذر (a)، پیش‌تیمار (b) و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (c) بر ارتفاع بوته، عملکرد، اجزای عملکرد و تجمع ماده خشک

ردیف	ترکیب‌های تیماری	ارتفاع بوته (سانتی متر)	تعداد شاخه فرعی	تعداد غلاف در بوته	تعداد دانه در غلاف	وزن هزار دانه (گرم)	عملکرد دانه (گرم در متر مربع)	تجمع ماده خشک (گرم در متر مربع)
۱	a۱b۱c۱	۴۱/۸۰^{ab}	۵/۸۳^{efg}	۵۰/۶۶ ^{bc}	۵/۷۷۶ ^{cd}	۱۸۳/۱۹ ^{def}	۱۸۲/۰۹ ^{hi}	۱۶۲/۷۳^{ef}
۲	a۱b۱c۲	۳۴/۹۰^{cd}	۵/۱۵^{g}	۶۵/۶۶ ^{a}	۵/۶۹ ^{cd}	۳۳۶/۹۵ ^{a}	۴۳۱/۵۴ ^{a}	۱۲۰/۰۸^{h}
۳	a۱b۱c۳	۳۵/۲۵^{cd}	۵/۶۲^{efg}	۴۴ ^{cd}	۶/۱۳ ^{bc}	۱۶۲/۹۴ ^{fgh}	۳۱۳/۷۶ ^{bc}	۲۰۳/۹۸^{c}
۴	a۱b۲c۱	۴۲/۸۰^{a}	۶/۱۶^{defg}	۴۰/۸۳ ^{ed}	۵/۸۸ ^{bcde}	۱۸۲/۶۴ ^{def}	۳۴۳/۷۳ ^{b}	۱۹۷/۶۴^{cd}
۵	a۱b۲c۲	۳۳/۷۳^{d}	۶/۱۸^{defg}	۲۲/۵ ^{h}	۶/۰۸۳ ^{bcd}	۱۷۵/۴۱ ^{efgh}	۲۴۷/۰۵ ^{def}	۲۴۸/۶۹^{ab}
۶	a۱b۲c۳	۴۲/۸۰^{a}	۵/۳۶^{fg}	۳۹/۳۳ ^{de}	۶/۵۱ ^{c}	۱۷۷/۹۵ ^{defg}	۲۴۳/۷۹ ^{def}	۲۳۴/۰۲^{b}
۷	a۱b۳c۱	۳۵/۴۸^{cd}	۵/۴۸^{fg}	۵۲/۳۳ ^{b}	۶/۳۳ ^{bc}	۲۰۷/۱۸ ^{cd}	۲۲۰/۵۹^{fgh}	۲۳۷/۷۳^{b}
۸	a۱b۳c۲	۴۰/۳۶^{ab}	۵/۵۳^{fg}	۳۷/۱۶ ^{ef}	۶/۴۰ ^{bc}	۱۸۰/۹۷ ^{def}	۲۶۶/۲۰^{ed}	۲۴۲/۵۳^{b}
۹	a۱b۳c۳	۴۰/۹۵^{ab}	۵/۷۶^{efg}	۲۶ ^{gh}	۵ ^{ef}	۱۶۸/۷۹ ^{efgh}	۱۴۵/۶۵ ^{i}	۱۲۳/۳۱^{h}
۱۰	a۲b۱c۱	۳۷/۵۱^{bcd}	۶/۷۰^{de}	۲۶/۶۶^{gh}	۵/۷۷۶ ^{cd}	۱۹۹/۳۳ ^{de}	۲۱۴/۷۷ ^{fgh}	۲۶۹/۸۵ ^{a}
۱۱	a۲b۱c۲	۴۳/۰۵^{a}	۸/۱۸^{bc}	۲۹^{gh}	۷/۶۱۶ ^{a}	۱۴۴/ ۹۹^{h}	۱۹۱/۱۵ ^{gh}	۱۷۸/۲۶^{ed}
۱۲	a۲b۱c۳	۴۱/۶۳^{ab}	۷/۱۸^{cd}	۳۸/۳۳ ^{de}	۶/۸۱۱ ^{ab}	۱۷۱/۴۸ ^{efgh}	۲۴۷/۳۲ ^{def}	۱۴۰/۵۱^{fgh}
۱۳	a۲b۲c۱	۳۸/۶۵^{abc}	۱۰/۰۱^{a}	۲۸/۱۶ ^{gh}	۶/۴۲۶ ^{bc}	۱۹۶/۷۶ ^{de}	۲۲۹/۳۲ ^{efg}	۱۸۴/۵۱^{cde}
۱۴	a۲b۲c۲	۳۷/۸۶^{bcd}	۵/۳۱^{fg}	۲۹/۳۳ ^{g}	۶/۰۵۶ ^{bcd}	۱۴۸/۳۶ ^{hg}	۲۲۹/۱۴ ^{efg}	۱۸۹/۱۴^{cd}
۱۵	a۲b۲c۳	۴۰/۶۰^{ab}	۸/۶۶^{b}	۳۰/۶۶ ^{fg}	۵/۱۰۸ ^{def}	۲۴۹/۴۹ ^{b}	۲۸۲/۶۳ ^{cd}	۱۵۰/۷۱^{fg}
۱۶	a۲b۳c۱	۳۷/۷۵^{bcd}	۶/۴۱^{def}	۲۴/۱۶ ^{gh}	۶/۸۱۱ ^{ab}	۲۳۷/۱۴ ^{bc}	۱۸۴/۵۶ ^{hi}	۱۳۸/۴۴^{hg}
۱۷	a۲b۳c۲	۲۹/۰۸^{e}	۸/۸۱^{b}	۲۵/۸۳^{gh}	۴/۶۵۶ ^{f}	۱۷۶/۴۳ ^{defg}	۲۴۶/۲۹ ^{df}	۱۳۷/۴۷^{hg}
۱۸	a۲b۳c۳	۴۱/۴۸^{ab}	۵/۹۶^{efg}	۵۰^{bc}	۶/۴۸۸ ^{bc}	۲۴۹/۳۴ ^{b}	۲۶۷/۳۱ ^{de}	۱۵۳/۳۱^{fg}
	LSD ۵٪	۴/۶۴	۱/۱۰	۶/۷۹	۱/۰۰۲۱	۳۱/۰۷۹	۴۰/۷۴۱	۲۳/۶۷۱

کیفیت اولیه بذر: غیرفرسوده (a_1) و فرسوده (a_2)
غلظت های پیش تیمار: صفر (b_1)، ۳۰ (b_2) و ۶۰ (b_3) میکرومولار
غلظت های محلول پاشی: صفر (c_1)، ۳۰ (c_2) و ۶۰ (c_3) میکرومولار

جدول پیوست ۶- مقایسه میانگین اثرات سه جانبه سال (y)، پیش‌تیمار (b) و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (c) بر تجمع ماده خشک

ردیف	ترکیبات تیماری	تجمع ماده خشک (گرم در متر مربع)	ردیف	ترکیبات تیماری	تجمع ماده خشک (گرم در متر مربع)
۱	$y_1b_1c_1$	۲۲۵/۲۸^{ab}	۱۰	$y_2b_1c_1$	۲۰۷/۲۹^{bc}
۲	$y_1b_1c_2$	۱۵۸/۴۹^{gh}	۱۱	$y_2b_1c_2$	۱۳۹/۸۴^{hi}
۳	$y_1b_1c_3$	۱۷۵/۴۴^{efg}	۱۲	$y_2b_1c_3$	۱۶۹/۰۵^{fg}
۴	$y_1b_2c_1$	۲۰۱/۹۳^{bcd}	۱۳	$y_2b_2c_1$	۱۸۰/۲۳^{def}
۵	$y_1b_2c_2$	۲۰۰/۱۰^{cd}	۱۴	$y_2b_2c_2$	۲۳۷/۷۳^{a}
۶	$y_1b_2c_3$	۱۹۰/۰۵^{cdef}	۱۵	$y_2b_2c_3$	۱۹۴/۶۸^{cde}
۷	$y_1b_3c_1$	۱۹۳/۱۳^{cde}	۱۶	$y_2b_3c_1$	۱۸۳/۰۳^{def}
۸	$y_1b_3c_2$	۱۹۱/۲۵^{cdef}	۱۷	$y_2b_3c_2$	۱۸۸/۷۶^{cdef}
۹	$y_1b_3c_3$	۱۵۶/۶۹^{hg}	۱۸	$y_2b_3c_3$	۱۱۹/۹۳^{i}
	LSD ٪۵	۲۳/۶۷۱			

سال: اول (Y۱)، دوم (
غلظت‌های پیش‌تیمار: صفر (b_1)، ۳۰ (b_2) و ۶۰ (b_3) میکرومولار
غلظت‌های محلول‌پاشی: صفر (c_1)، ۳۰ (c_2) و ۶۰ (c_3) میکرومولار

جدول پیوست ۷- مقایسه میانگین اثرات چهار جانبه سال (Y)، کیفیت اولیه بذر (A) پیش‌تیمار (B) و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (C) بر تجمع ماده خشک

ردیف	ترکیبات تیماری	تجمع ماده خشک (گرم در متر مربع)	ردیف	ترکیبات تیماری	تجمع ماده خشک (گرم در متر مربع)	ردیف	ترکیبات تیماری	تجمع ماده خشک (گرم در متر مربع)
۱	$y_1a_1b_1c_1$	۱۴۵/۷۰ mnopq	۱۳	$y_1a_2b_2c_1$	۲۵۶/۰۲bc	۲۵	$y_2a_1b_2c_1$	۱۸۹/۶۵ hijk
۲	$y_1a_1b_1c_2$	۱۳۵/۴۲ opqr	۱۴	$y_1a_2b_2c_2$	۱۶۷/۱۰ jklmno	۲۶	$y_2a_1b_2c_2$	۲۹۱/۵۴ a
۳	$y_1a_1b_1c_3$	۱۷۶/۴۴hijklm	۱۵	$y_1a_2b_2c_3$	۱۳۵/۵۲ opqr	۲۷	$y_2a_1b_2c_3$	۲۳۸/۹۰ cd
۴	$y_1a_1b_2c_1$	۱۶۶/۸۹jklmno	۱۶	$y_1a_2b_2c_1$	۱۷۰/۸۰ ijklmn	۲۸	$y_2a_2b_1c_1$	۲۳۴/۸۹ cdef
۵	$y_1a_1b_2c_2$	۱۲۷/۵۷ kpq	۱۷	$y_1a_2b_2c_2$	۱۸۳/۹۱ hijkl	۲۹	$y_2a_2b_1c_2$	۲۳۷/۹۹ cde
۶	$y_1a_1b_2c_3$	۲۰۵/۳۷efgh	۱۸	$y_1a_2b_2c_3$	۱۵۰/۴۶ lmnop	۳۰	$y_2a_2b_1c_3$	۱۰۹/۶۹ r
۷	$y_1a_1b_2c_1$	۲۸۳/۶۷ab	۱۹	$y_2a_1b_1c_1$	۲۰۵/۶۳defgh	۳۱	$y_2a^2b_2c_1$	۱۳۱/۱۸ pqr
۸	$y_1a_1b_2c_2$	۱۸۹/۴۲hijk	۲۰	$y_2a_1b_1c_2$	۲۰۵/۸۴defgh	۳۲	$y_2a_2b_2c_2$	۱۳۹/۵۲nopqr
۹	$y_1a_1b_2c_3$	۱۴۵/۵۰ mnopq	۲۱	$y_2a_1b_1c_3$	۲۲۹/۱۳cdefg	۳۳	$y_2a_2b_2c_3$	۱۳۰/۱۷pqr
۱۰	$y_1a_2b_1c_1$	۱۹۸/۲۲ghij	۲۲	$y_2a_1b_2c_1$	۲۴۰/۵۶c	۳۴	$y_2a_2b_3c_1$	۱۵۸/۵۶ klmnop
۱۱	$y_1a_2b_1c_2$	۱۹۴/۳۷ hij	۲۳	$y_2a_1b_2c_2$	۲۴۷/۰۷c	۳۵	y2a2b3c2	۱۱۲/۵۸ rq
۱۲	$y_1a_2b_1c_3$	۱۵۰/۹۷ lmnop	۲۴	$y_2a_1b_2c_3$	۱۳۶/۹۳ opqr	۳۶	y2a2b3c3	۲۰۲/۵۸ fghi
	LSD ۵٪	۳۳/۴۷						

کیفیت اولیه بذر: غیرفرسوده (a_1) و فرسوده (a_2)

غلظت‌های پیش‌تیمار: صفر (b_1)، ۳۰ (b_2) و ۶۰ (b_3) میکرومولار

غلظت‌های محلول‌پاشی: صفر (c_1)، ۳۰ (c_2) و ۶۰ (c_3) میکرومولار

جدول پیوست ۸- تجزیه مرکب (میانگین مربعات) صفات محتوای نسبی آب برگ، شاخص پایداری غشاء پلاسمایی و رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ تحت تأثیر سال‌های آزمایش، کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار بذر و محلول‌پاشی با اسید سینامیک

منابع تغییر	درجه آزادی	محتوای نسبی آب برگ	شاخص پایداری غشاء پلاسمایی	کاروتنوئید	کلروفیل کل	کلروفیل a	کلروفیل b
تکرار (R)	۲	۶/۹۷	۵۰/۵۵	۳/۰۲۱۸	۰/۱۶۱۸	۰/۰۰۳۲	۰/۱۶۶۹
سال (Y)	۱	۱/۴۴ ^{ns}	۰/۵۹۲^{ns}	۱/۷۴۲۹^{ns}	۰/۱۰۸۳^{ns}	۰/۰۰۰۱^{ns}	۰/۱۱۷۳^{ns}
Y×R	۲	۵/۶۷	۱۰/۶۲	۰/۵۵۲۲	۰/۰۲۹۷	۰/۰۰۹۵	۰/۰۰۸۱
کیفیت اولیه بذر (A)	۱	۳۸/۵۰*	۸۱/۸۱**	۲/۳۳۴۹^{ns}	۰/۳۲۲۳^{ns}	۰/۰۴۰۳^{ns}	۰/۱۳۵۱^{ns}
Y×A	۱	۶۰/۰۱**	۲۷*	۰/۱۹۵۹^{ns}	۰/۰۱۹۲^{ns}	۰/۰۰۴۹^{ns}	۰/۰۰۴۵^{ns}
پیش‌تیمار (B)	۲	۵۳/۳۳**	۵/۲۸*	۱/۰۷۵۸^{ns}	۰/۰۴۹۵^{ns}	۰/۰۲۸۴^{ns}	۰/۰۰۳۱^{ns}
محلول‌پاشی (C)	۲	۵۵۲/۸۸**	۲/۳۸^{ns}	۰/۶۹۵۲^{ns}	۰/۰۱۵۶^{ns}	۰/۰۱۴۰^{ns}	۰/۰۰۱۷^{ns}
A×B	۲	۱۰۳۰/۱۴**	۱۹۲/۹۵ **	۰/۰۱۸۱۶^{ns}	۰/۲۱۵۸^{ns}	۰/۰۳۲۸^{ns}	۰/۱۰۸۳^{ns}
A×C	۲	۳۵۹/۵۹**	۶۰/۳۴ **	۲/۲۶۰۲^{ns}	۰/۲۸۴۵^{ns}	۰/۰۷۱۲^{ns}	۰/۱۰۹۸^{ns}
B×C	۴	۳۳۶/۳۹**	۱۱۵/۵۶**	۲/۴۸۹۶^{ns}	۰/۵۷۰۱^{ns}	۰/۱۱۲۲*	۰/۱۹۶۵^{ns}
A×B×C	۴	۷۹۰/۶۹**	۹۴/۵۶ **	۰/۹۵۵۴^{ns}	۰/۰۴۱۰^{ns}	۰/۰۰۷۶^{ns}	۰/۰۲۵۱^{ns}
Y×B	۲	۱۳/۸۶ ^{ns}	۰/۳۴۲^{ns}	۰/۲۱۵۴^{ns}	۰/۰۰۲۵^{ns}	۰/۰۰۱۷^{ns}	۰/۰۰۱۰^{ns}
Y×C	۲	۱۵/۳۹ ^{ns}	۳/۱۲ ^{ns}	۰/۰۳۰۴^{ns}	۰/۰۰۱۲^{ns}	۰/۰۰۲۷^{ns}	۰/۰۰۵۱^{ns}
Y×A×B	۲	۴/۲۲ ^{ns}	۷/۷۵ ^{ns}	۰/۴۹۰۲^{ns}	۰/۰۲۳۲^{ns}	۰/۰۰۰۸^{ns}	۰/۰۱۵۰^{ns}
Y×A×C	۲	۱۵/۲۱ ^{ns}	۲/۲۵ ^{ns}	۰/۳۷۶۴^{ns}	۰/۰۰۳۱^{ns}	۰/۰۰۶۱^{ns}	۰/۰۰۱۱^{ns}
Y×B×C	۴	۹/۲۱ ^{ns}	۱/۴۵ ^{ns}	۰/۲۵۷۲^{ns}	۰/۰۱۴۹^{ns}	۰/۰۰۸۰^{ns}	۰/۰۰۷۴^{ns}
Y×A×B×C	۴	۹/۳۴ ^{ns}	۱۲/۵۸ ^{ns}	۰/۸۷۱۸ ^{ns}	۰/۰۲۴۰^{ns}	۰/۰۰۴۲^{ns}	۰/۰۰۸۵^{ns}
خطا	۶۸	۱۰/۳	۶/۲۹	۱/۱۷۹	۰/۲۵۳	۰/۰۳۷	۰/۱۱۱
ضریب تغییرات (درصد)		۴/۱۱	۳/۰۶۳	۱۷/۶۶	۲۵/۸۵	۲۵/۹۲	۲۷/۷۲

*، ** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و غیر معنی‌دار است.

جدول پیوست ۹- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) فلاونوئید، آنتوسیانین، پرولین، اسیدهای آمینه آزاد، قند محلول و مالون دی آلدهید تحت تأثیر سال های آزمایش، کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار

منابع تغییر	درجه آزادی	فلاونوئید سال اول	فلاونوئید سال دوم	آنتوسیانین سال اول	آنتوسیانین سال دوم	پرولین سال اول	پرولین سال دوم	اسیدهای آمینه آزاد	قند محلول سال اول	قند محلول سال دوم	مالون دی آلدهید سال اول	مالون دی آلدهید سال دوم
تکرار (R)	۲	۰/۴۱۸	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۲۷۱	۰/۰۰۰۰۱۲	۱/۴۲۸	۰/۵۰۳	۲۷۴۸/۳۲	۷۹/۸۳	۰/۳۶۱	۰/۰۱۱	۰/۰۰۵۲
سال (Y)	۱	-	-	-	-	-	-	۷۷۳/۸۲ ns	-	-	-	-
Y×R	۲	-	-	-	-	-	-	۱۳۶۷/۰۸ ns	-	-	-	-
کیفیت اولیه بذر (A)	۱	۴۵/۰۱ **	۰/۰۰۲۷**	۰/۰۱۴۳ **	۰/۰۰۰۳۹**	۰/۹۳ ns	۰/۴۷۲ ns	۴۳۷/۶۲ ns	۱۲۶/۵۳ ns	۴۸۳/۳۶ **	۰/۱۲ **	۰/۰۳۶ ns
Y×A	۱	-	-	-	-	-	-	۲۰۱/۵۳ ns	-	-	-	-
پیش تیمار (B)	۲	۱۰۰/۳۸۳**	۰/۰۰۰۴ ns	۰/۰۰۱۵۴ ns	۰/۰۰۰۲۸ **	۴/۸۵ ns	۰/۸۶۷ ns	۵۹۸۰/۲۰**	۶۸۴/۵۱ **	۳۲۷/۸۷ **	۰/۰۰۱۲ **	۰/۱۴۴ **
محلول پاشی (C)	۲	۸/۴۶**	۰/۰۰۶۲**	۰/۰۰۲۲۳ ns	۰/۰۰۰۲۱ **	۱۰/۶۵ ns	۷/۴۸ ns	۱۲۲۶۱/۴۸**	۹۰/۰۸ ns	۶۴/۵۰**	۰/۰۴۵۳ **	۰/۱۷۱ **
A×B	۲	۸۲۹/۰۹**	۰/۰۰۴۳**	۰/۰۰۰۵۴ ns	۰/۰۰۰۴۹**	۳۱/۲۶ **	۱۳/۵۱ *	۴۹۹۷/۵۹**	۴۷۵/۳۴ **	۵۱۵/۸۱**	۰/۰۷۷ **	۰/۷۶۲ **
A×C	۲	۴۰/۲۵**	۰/۰۰۰۸۶**	۰/۰۰۲۷۵ ns	۰/۰۰۱۳**	۲/۹۷ ns	۳/۷۶ ns	۳۳۴۸/۴۳ *	۱۳/۳۸ ns	۲۱/۰۵ **	۰/۰۰۶ ns	۰/۱۵۹ **
B×C	۴	۲۴۶/۱۶**	۰/۰۰۱۰**	۰/۰۰۱۴ ns	۰/۰۰۳۰۹ **	۱۷/۳۶ *	۶/۹۱ ns	۷۹۴/۸۲ns	۴۱۸/۵۹ **	۲۹۳/۷۸ **	۰/۰۶۶ **	۰/۱۸۰ **
A×B×C	۴	۷۸/۷۳**	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۲۵ ns	۰/۰۰۳۵ **	۱۱/۵۸ ns	۶/ ns ۲۲	۲۳۴۱/۹۶ *	۲۸۷/۷۶ *	۸۷/۷۵ **	۰/۰۳۰۲ **	۰/۲۱۵ **
Y×B	۲	-	-	-	-	-	-	۱۷/۸۱ ns	-	-	-	-
Y×C	۲	-	-	-	-	-	-	۱۱۳۸/۰۳ ns	-	-	-	-
Y×A×B	۲	-	-	-	-	-	-	۴۸/۰۲ ns	-	-	-	-
Y×A×C	۲	-	-	-	-	-	-	۱۲۲/۳۹ ns	-	-	-	-
Y×B×C	۴	-	-	-	-	-	-	۱۸۲/۵۷ ns	-	-	-	-
Y×A×B×C	۴	-	-	-	-	-	-	۱۱۷۶/۳۵ ns	-	-	-	-
خطا		۰/۳۵۴	۰/۲۲۹	۰/۰۰۱۱	۰/۰۰۰۰۳۶	۴/۶۳	۳/۳۱	۹۱۵/۰۳	۴۹/۷۳	۰/۶۶	۰/۰۰۳۱	۰/۰۲۴
ضریب تغییرات (درصد)		۱/۶۳	۳۱/۵۸	۳۱/۷۴	۹/۶۳	۳۸/۸۸	۳۰/۹۲	۱۹/۳۳	۲۱/۱۶	۱۱/۰۶	۲۲/۷	۳۰/۱۳

*، ** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و غیر معنی‌دار است

جدول پیوست ۱۰- مقایسه میانگین اثر ترکیب های‌تیماری حاصل از کیفیت اولیه بذر (A)، پیش‌تیمار (B) و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (C) بر محتوای نسبی آب برگ

ردیف	ترکیب های تیماری	محتوای نسبی آب برگ (درصد)	ردیف	ترکیب های تیماری	محتوای نسبی آب برگ (درصد)
۱	$a_1b_1c_1$	۸۹/۴۶ a	۱۰	$a_2b_1c_1$	۷۷/۳۲ef
۲	$a_1b_1c_2$	۸۶/۸۹ ab	۱۱	$a_2b_1c_2$	۵۷/۲۱h
۳	$a_1b_1c_3$	۷۹/۱۵c	۱۲	$a_2b_1c_3$	۸۶/۴۸ ab
۴	$a_1b_2c_1$	۸۰/۶۹ de	۱۳	$a_2b_2c_1$	۷۷/۳۲ef
۵	$a_1b_2c_2$	۷۹/۱۴def	۱۴	$a_2b_2c_2$	۷۶/۵۲f
۶	$a_1b_2c_3$	۷۵/۶۰ f	۱۵	$a_2b_2c_3$	۷۵/۶۷f
۷	$a_1b_3c_1$	۷۷/۷ef	۱۶	$a_2b_3c_1$	۷۱/۰۱g
۸	$a_1b_3c_2$	۵۷/۳۸h	۱۷	$a_2b_3c_2$	۸۵/۲۹ bc
۹	$a_1b_3c_3$	۸۱/۶۴ cd	۱۸	$a_2b_3c_3$	۹۰/۰۱ a
LSD ۵٪		۳/۶۹			

کیفیت اولیه بذر: غیرفرسوده (a_1) و فرسوده (a_2)
غلظت‌های پیش‌تیمار: صفر (b_1)، ۳۰ (b_2) و ۶۰ (b_3) میکرومولار
غلظت‌های محلول‌پاشی: صفر (c_1)، ۳۰ (c_2) و ۶۰ (c_3) میکرومولار

جدول پیوست ۱۱ مقایسه میانگین اثر ترکیب‌های تیماری حاصل از کیفیت اولیه بذر (A)، پیش‌تیمار (B) و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (C) بر شاخص پایداری غشاء پلاسمایی

ردیف	ترکیب های تیماری	شاخص پایداری غشاء پلاسمایی	ردیف	ترکیب های تیماری	شاخص پایداری غشاء پلاسمایی
۱	$a_1b_1c_1$	۸۴/۱۶۷ bcd	۱۰	$a_2b_1c_1$	۷۵/۱۶۷ g
۲	$a_1b_1c_2$	۸۷/۶۶۷ a	۱۱	$a_2b_1c_2$	۷۹/۸۳۳ f
۳	$a_1b_1c_3$	۸۴ cd	۱۲	$a_2b_1c_3$	۷۹/۸۳۳ f
۴	$a_1b_2c_1$	۸۰/۸۳ f	۱۳	$a_2b_2c_1$	۸۵/۸۳ abc
۵	$a_1b_2c_2$	۸۲/۱۶ def	۱۴	$a_2b_2c_2$	۷۵/۳۳ g
۶	$a_1b_2c_3$	۸۴ cd	۱۵	$a_2b_2c_3$	۸۶ abc
۷	$a_1b_3c_1$	۷۹/۶۶ def	۱۶	$a_2b_3c_1$	۸۷ ab
۸	$a_1b_3c_2$	۸۱ ef	۱۷	$a_2b_3c_2$	۸۳/۸۳ cde
۹	$a_1b_3c_3$	۸۱/۶۶ def	۱۸	$a_2b_3c_3$	۷۶/۶۶ g
LSD ۵٪		۲/۸۹			

کیفیت اولیه بذر: غیرفرسوده (a_1) و فرسوده (a_2)
غلظت‌های پیش‌تیمار: صفر (b_1)، ۳۰ (b_2) و ۶۰ (b_3) میکرومولار
غلظت‌های محلول‌پاشی: صفر (c_1)، ۳۰ (c_2) و ۶۰ (c_3) میکرومولار

جدول پیوست۱۲- مقایسه میانگین اثر ترکیب‌های تیماری حاصل از کیفیت اولیه بذر (A)، پیش‌تیمار (B) و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (C) بر محتوای فلاونوئید برگ در سال اول و دوم

سال اول						سال دوم					
ردیف	ترکیب‌های تیماری	محتوای فلاونوئید (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)	ردیف	ترکیب‌های تیماری	محتوای فلاونوئید (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)	ردیف	ترکیب‌های تیماری	محتوای فلاونوئید (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)	ردیف	ترکیب‌های تیماری	محتوای فلاونوئید (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)
۱	$a_1b_1c_1$	۳۵/۶۴ f	۱۰	$a_2b_1c_1$	۲۹/۵۰ g	۱	$a_1b_1c_1$	۳۶/۶۱ g	۱۰	$a_2b_1c_1$	۳۳/۲۵ i
۲	$a_1b_1c_2$	۳۹/۰۹ d	۱۱	$a_2b_1c_2$	۴۳/۷۳ c	۲	$a_1b_1c_2$	۳۸/۳۵ f	۱۱	$a_2b_1c_2$	۴۶/۶۴ b
۳	$a_1b_1c_3$	۳۹/۸۹ d	۱۲	$a_2b_1c_3$	۴۳/۶۴ c	۳	$a_1b_1c_3$	۳۹/۷۳ e	۱۲	$a_2b_1c_3$	۴۱/۲۰ d
۴	$a_1b_2c_1$	۳۵/۶۹ f	۱۳	$a_2b_2c_1$	۳۹/۹۲ d	۴	$a_1b_2c_1$	۳۴/۸۷ h	۱۳	$a_2b_2c_1$	۴۱/۳۰ d
۵	$a_1b_2c_2$	۲۹/۶۲ g	۱۴	$a_2b_2c_2$	۴۷/۶۳a	۵	$a_1b_2c_2$	۲۹/۸۴ j	۱۴	$a_2b_2c_2$	۴۸/۲۶ a
۶	$a_1b_2c_3$	۲۹/۵۳ g	۱۵	$a_2b_2c_3$	۳۹/۱۱ d	۶	$a_1b_2c_3$	۲۹/۴۶ j	۱۵	$a_2b_2c_3$	۳۸/۹۲ f
۷	$a_1b_3c_1$	۴۶/۳۶ b	۱۶	$a_2b_3c_1$	۳۶/۸۸ e	۷	$a_1b_3c_1$	۴۷/۳۹ b	۱۶	$a_2b_3c_1$	۳۶/۹۹ g
۸	$a_1b_3c_2$	۳۶/۴۴ ef	۱۷	$a_2b_3c_2$	۱۸/۴۵ i	۸	$a_1b_3c_2$	۳۶/۴۱ g	۱۷	$a_2b_3c_2$	۲۰/۱۶ k
۹	$a_1b_3c_3$	۴۳/۶۴ c	۱۸	$a_2b_3c_3$	۲۱/۶ h	۹	$a_1b_3c_3$	۴۵/۱۷ c	۱۸	$a_2b_3c_3$	۱۹/۴۰ k
LSD ۵٪		۰/۹۸۸				LSD ۵٪		۰/۷۹۴			

کیفیت اولیه بذر: غیرفرسوده (a_1) و فرسوده (a_2)

غلظت‌های پیش‌تیمار: صفر (b_1)، ۳۰ (b_2) و ۶۰ (b_3) میکرومولا

غلظت‌های محلول‌پاشی: صفر (c_1)، ۳۰ (c_2) و ۶۰ (c_3) میکرومولار

جدول ۱۳- مقایسه میانگین اثر ترکیب‌های تیماری حاصل از کیفیت اولیه بذر (A)، پیش‌تیمار (B) و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (C) بر محتوای آنتوسیانین برگ در سال دوم

ردیف	ترکیب‌های تیماری	محتوای آنتوسیانین (نانومول بر گرم وزن تر برگ)	ردیف	ترکیب‌های تیماری	محتوای آنتوسیانین (نانومول بر گرم وزن تر برگ)
۱	$a_1b_1c_1$	۰/۰۵۲۰^{gh}	۱۰	$a_2b_1c_1$	۰/۱۲۴^{a}
۲	$a_1b_1c_2$	۰/۰۴۳^{h}	۱۱	$a_2b_1c_2$	۰/۰۵۷^{fg}
۳	$a_1b_1c_3$	۰/۰۷۰^{de}	۱۲	$a_2b_1c_3$	۰/۰۰۳۷^{i}
۴	$a_1b_2c_1$	۰/ ۰۸۴^{c}	۱۳	$a_2b_2c_1$	۰/۰۷۸^{cd}
۵	$a_1b_2c_2$	۰/۰۳۰^{i}	۱۴	$a_2b_2c_2$	۰/۰۴۹^{gh}
۶	$a_1b_2c_3$	۰/۰۶۲^{ef}	۱۵	$a_2b_2c_3$	۰/۰۹۴^{b}
۷	$a_1b_3c_1$	۰/۰۴۶^{h}	۱۶	$a_2b_3c_1$	۰/۰۵۲^{fgh}
۸	$a_1b_3c_2$	۰/۰۷۷^{dc}	۱۷	$a_2b_3c_2$	۰/۰۵^{gh}
۹	$a_1b_3c_3$	۰/۰۷۱^{de}	۱۸	$a_2b_3c_3$	۰/۰۷۵^{dc}
LSD ۵٪		۰/۰۱			

کیفیت اولیه بذر: غیرفرسوده (a_1) و فرسوده (a_2)

غلظت‌های پیش‌تیمار: صفر (b_1)، ۳۰ (b_2) و ۶۰ (b_3) میکرومولا

غلظت‌های محلول‌پاشی: صفر (c_1)، ۳۰ (c_2) و ۶۰ (c_3) میکرومولار

جدول ۱۴- مقایسه میانگین اثر ترکیب‌های تیماری حاصل از کیفیت اولیه بذر (A)، پیش‌تیمار (B) و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (C) بر محتوای اسیدهای آمینه آزاد

ردیف	ترکیب های تیماری	اسیدهای آمینه آزاد (میکروگرم بر گرم وزن تر برگ)	ردیف	ترکیب های تیماری	اسیدهای آمینه آزاد (میکروگرم بر گرم وزن تر برگ)
۱	$a_1b_1c_1$	۹۸/۰۹ ^{i}	۱۰	$a_2b_1c_1$	۱۳۸/۵۴ ^{efgh}
۲	$a_1b_1c_2$	۱۶۵/۹۹ ^{abcdef}	۱۱	$a_2b_1c_2$	۱۵۳/۰۴ ^{cdefgh}
۳	$a_1b_1c_3$	۱۶۵/۶۶ ^{bcdef}	۱۲	$a_2b_1c_3$	۱۲۹/۶۵ ^{ghi}
۴	$a_1b_2c_1$	۱۴۳/۰۲ ^{defgh}	۱۳	$a_2b_2c_1$	۱۶۲/۴۴ ^{bcdefg}
۵	$a_1b_2c_2$	۱۶۹/۴۵ ^{abcdef}	۱۴	$a_2b_2c_2$	۱۹۲/۵۹^{ab}
۶	$a_1b_2c_3$	۱۲۶/۲۵ ^{hi}	۱۵	$a_2b_2c_3$	۱۷۴/۴۷ ^{abcd}
۷	$a_1b_3c_1$	۱۳۸/۲۲ ^{fgh}	۱۶	$a_2b_3c_1$	۱۵۷/۲۰ ^{cdefgh}
۸	$a_1b_3c_2$	۲۰۲/۶۸ ^{a}	۱۷	$a_2b_3c_2$	۱۷۳/۲۴ ^{abcde}
۹	$a_1b_3c_3$	۱۸۰/۶۰ ^{abc}	۱۸	$a_2b_3c_3$	۱۴۵/۰۱ ^{defgh}
LSD ۵٪		۳۴/۸۵			

کیفیت اولیه بذر: غیرفرسوده (a_1) و فرسوده (a_2)

غلظت‌های پیش‌تیمار: صفر (b_1)، ۳۰ (b_2) و ۶۰ (b_3) میکرومولا

غلظت‌های محلول‌پاشی: صفر (c_1)، ۳۰ (c_2) و ۶۰ (c_3) میکرومولار

جدول ۱۵- مقایسه میانگین اثر ترکیب‌های تیماری حاصل از کیفیت اولیه بذر (A)، پیش‌تیمار (B) و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (C) بر محتوای قند محلول برگ در سال اول و دوم

سال اول					سال دوم				
ردیف	ترکیب‌های تیماری	محتوای قند محلول (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	ردیف	ترکیب‌های تیماری	محتوای قند محلول (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	ردیف	ترکیب‌های تیماری	محتوای قند محلول (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	ردیف	ترکیب‌های تیماری	محتوای قند محلول (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)
۱	$a_1b_1c_1$	۳۴/۸۰^{defg}	۱۰	$a_2b_1c_1$	۳۶/۳۹^{cdefg}	۱	$a_1b_1c_1$	۳۱/۵۷^{h}	۱۰	$a_2b_1c_1$	۳۵/۰۵^{e}
۲	$a_1b_1c_2$	۴۸/۲۵^{bcd}	۱۱	$a_2b_1c_2$	۵۲/۲۳^{b}	۲	$a_1b_1c_2$	۵۴/۵۹^{a}	۱۱	$a_2b_1c_2$	۴۸/۰۲^{b}
۳	$a_1b_1c_3$	۶۷/۳۸^{a}	۱۲	$a_2b_1c_3$	۴۲/۸۱^{bcdef}	۳	$a_1b_1c_3$	۵۴/۷۸^{a}	۱۲	$a_2b_1c_3$	۴۰/۴۷^{d}
۴	$a_1b_2c_1$	۴۴/۷۷^{bcde}	۱۳	$a_2b_2c_1$	۳۹/۴۸^{bcdef}	۴	$a_1b_2c_1$	۳۵/۱۴^{e}	۱۳	$a_2b_2c_1$	۴۴/۴۷^{c}
۵	$a_1b_2c_2$	۳۴/۱۵^{defg}	۱۴	$a_2b_2c_2$	۳۱/۰۷^{efg}	۵	$a_1b_2c_2$	۳۲/۹۴^{g}	۱۴	$a_2b_2c_2$	۳۵/۸۸^{e}
۶	$a_1b_2c_3$	۲۲/۹۰^{g}	۱۵	$a_2b_2c_3$	۳۷/۴۰^{cdef}	۶	$a_1b_2c_3$	۲۵/۷۳^{i}	۱۵	$a_2b_2c_3$	۳۹/۱۸^{d}
۷	$a_1b_3c_1$	۲۸/۹۳^{fg}	۱۶	$a_2b_3c_1$	۴۴/۸۶^{bcde}	۷	$a_1b_3c_1$	۳۳/۳۴^{fg}	۱۶	$a_2b_3c_1$	۴۵/۳۳^{c}
۸	$a_1b_3c_2$	۳۳/۳۶^{efg}	۱۷	$a_2b_3c_2$	۴۴/۵۸^{bcde}	۸	$a_1b_3c_2$	۲۷/۰۴^{i}	۱۷	$a_2b_3c_2$	۴۷/۶۸^{b}
۹	$a_1b_3c_3$	۳۵/۱۳^{defg}	۱۸	$a_2b_3c_3$	۴۹/۴۱^{bc}	۹	$a_1b_3c_3$	۳۴/۶۶^{ef}	۱۸	$a_2b_3c_3$	۴۷/۵۰^{b}
LSD ۵٪		۱۴/۲۲				LSD ۵٪		۱/۳۵			

کیفیت اولیه بذر: غیرفرسوده (a_1) و فرسوده (a_2)

غلظت‌های پیش‌تیمار: صفر (b_1)، ۳۰ (b_2) و ۶۰ (b_3) میکرومولا

غلظت‌های محلول‌پاشی: صفر (c_1)، ۳۰ (c_2) و ۶۰ (c_3) میکرومولار

جدول ۱۶- مقایسه میانگین اثر ترکیب‌های تیماری حاصل از کیفیت اولیه بذر (A)، پیش‌تیمار (B) و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (C) بر محتوای مالون دی آلدهید برگ در سال اول و دوم

سال اول						سال دوم					
ردیف	ترکیب های تیماری	محتوای مالون دی آلدهید (نانومول بر گرم وزن تر)	ردیف	ترکیب های تیماری	محتوای قند محلول (نانومول بر گرم وزن تر)	ردیف	ترکیب های تیماری	محتوای قند محلول (نانومول بر گرم وزن تر)	ردیف	ترکیب های تیماری	محتوای قند محلول (نانومول بر گرم وزن تر)
۱	$a_1b_1c_1$	۰/۱۶۹ fg	۱۰	$a_2b_1c_1$	۰/۳۰۱ bcde	۱	$a_1b_1c_1$	۰/۱۶۱ efgh	۱۰	$a_2b_1c_1$	۰/۴۲۱ cd
۲	$a_1b_1c_2$	۰/۲۵۱ def	۱۱	$a_2b_1c_2$	۰/۴۱۵ a	۲	$a_1b_1c_2$	۰/۰۷۵ gh	۱۱	$a_2b_1c_2$	۰/۴۱۷ cde
۳	$a_1b_1c_3$	۰/۲۱۰ efg	۱۲	$a_2b_1c_3$	۰/۰۷۰ hi	۳	$a_1b_1c_3$	۰/۰۹۰ gh	۱۲	$a_2b_1c_3$	۰/۲۷۱ defgh
۴	$a_1b_2c_1$	۰/۲۴۳ def	۱۳	$a_2b_2c_1$	۰/۱۳۹ gh	۴	$a_1b_2c_1$	۰/۰۷۹ gh	۱۳	$a_2b_2c_1$	۰/۴۲۱ cd
۵	$a_1b_2c_2$	۰/۳۱۸ bcd	۱۴	$a_2b_2c_2$	۰/۰۶۲ hi	۵	$a_1b_2c_2$	۰/۰۲۸ h	۱۴	$a_2b_2c_2$	۰/۱۹۳ defgh
۶	$a_1b_2c_3$	۰/۳۹۳ ab	۱۵	$a_2b_2c_3$	۰/۳۳۳ abcd	۶	$a_1b_2c_3$	۰/۲۹۴ defg	۱۵	$a_2b_2c_3$	۰/۷۲۲ b
۷	$a_1b_3c_1$	۰/۲۹۲ cde	۱۶	$a_2b_3c_1$	۰/۰۲۳ i	۷	$a_1b_3c_1$	۱/۱۲۹ a	۱۶	$a_2b_3c_1$	۰/۱۸۰ defgh
۸	$a_1b_3c_2$	۰/۴۱۹ a	۱۷	$a_2b_3c_2$	۰/۳۰۵ bcd	۸	$a_1b_3c_2$	۰/۱۵۲ fgh	۱۷	$a_2b_3c_2$	۰/۳۹۳ cdef
۹	$a_1b_3c_3$	۰/۳۴۶ abc	۱۸	$a_2b_3c_3$	۰/۱۲۹ gh	۹	$a_1b_3c_3$	۰/۵۸۴ bc	۱۸	$a_2b_3c_3$	۰/۰۲۵ h
LSD ۵٪		۰/۰۹۲۹				LSD ۵٪		۰/۲۵۹			

کیفیت اولیه بذر: غیرفرسوده (a_1) و فرسوده (a_2)

غلظت‌های پیش‌تیمار: صفر (b_1)، ۳۰ (b_2) و ۶۰ (b_3) میکرومولا

غلظت‌های محلول‌پاشی: صفر (c_1)، ۳۰ (c_2) و ۶۰ (c_3) میکرومولار

جدول پیوست ۱۷- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت تأثیر سال‌های آزمایش، کیفیت اولیه بذر، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک

منابع تغییر	درجه آزادی	سوپراکسید دیسموتاز	کاتالاز سال اول	کاتالاز سال دوم	آسکوربات پراکسیداز	پراکسیداز	گلوتاتیون رداکتاز سال اول	گلوتاتیون رداکتاز سال دوم
تکرار (R)	۲	۰/۰۸۱۸	۰/۰۰۰۰۰۴۹۳	۰/۰۰۰۰۰۹۵	۰/۰۰۰۰۰۰۴۷	۰/۰۰۰۴۴	۰/۰۰۰۰۳۳	۰/۰۰۰۱۴
سال (Y)	۱	۵/۱۵ **	-	-	۰/۰۰۰۰۸۳۱ **	۰/۰۶۱۶ **	-	-
Y×R	۲	۰/۰۱۶ ns	-	-	۰/۰۰۰۰۰۱۲۰ ns	۰/۰۰۰۹۸ ns	-	-
کیفیت اولیه بذر (A)	۱	۲۲/۵۳ **	۰/۰۰۰۶۴۲ **	۰/۰۰۰۱۰۱ **	۰/۰۰۰۵۴ **	۰/۰۹۴۶ **	۰/۰۰۲۷ **	۰/۰۱۱۵ **
Y×A	۱	۰/۵۶۲ *	-	-	۰/۰۰۰۰۱۴۲ *	۰/۰۱۳۱ **	-	-
پیش تیمار (B)	۲	۱۴/۸ **	۰/۰۰۲۲ **	۰/۰۰۰۰۲۴ ns	۰/۰۰۰۰۶۱۷ **	۰/۰۳۵۰ **	۰/۰۰۰۴۳ **	۰/۰۷۲۰ **
محلول پاشی (C)	۲	۸/۵۵ **	۰/۰۰۲۳ **	۰/۰۰۰۷۲ **	۰/۰۰۰۳۹۳ **	۰/۰۵۷۸ **	۰/۰۰۶۲ **	۰/۳۰۲ **
A×B	۲	۷۰/۸۳ **	۰/۰۰۰۹۷ **	۰/۰۰۰۲۵۸ **	۰/۰۰۰۰۳۲ **	۰/۳۱۲ **	۰/۰۰۴۳ **	۰/۲۴۰ **
A×C	۲	۲۹/۷۰ **	۰/۰۰۰۷۱ **	۰/۰۰۰۳۱ **	۰/۰۰۰۰۴۵ **	۰/۰۰۶۴ *	۰/۰۰۰۸۶ **	۰/۰۰۷۶ **
B×C	۴	۱۴/۲۵ **	۰/۰۰۰۵۶۷ **	۰/۰۰۰۲۸ **	۰/۰۰۰۰۹۹ **	۰/۰۷۴۲ **	۰/۰۰۱ **	۰/۰۷۹۱ **
A×B×C	۴	۱۸/۵۵ **	۰/۰۰۰۲۶ **	۰/۰۰۰۱۴ **	۰/۰۰۰۱۹ **	۰/۱۱۶ **	۰/۰۰۱۳ **	۰/۲۱۳ **
Y×B	۲	۰/۳۱۰ ns	-	-	۰/۰۰۰۰۱۱ *	۰/۰۰۰۸۹ ns	-	-
Y×C	۲	۰/۰۱۳۵ ns	-	-	۰/۰۰۰۰۴۹ ns	۰/۰۰۱۷۲ ns	-	-
Y×A×B	۲	۰/۲۵۷ ns	-	-	۰/۰۰۰۰۰۸۷ ns	۰/۰۳۷۷ **	-	-
Y×A×C	۲	۰/۱۷۶ ns	-	-	۰/۰۰۰۰۰۶۳ ns	۰/۰۰۱۴ ns	-	-
Y×B×C	۴	۰/۰۵۷۹ ns	-	-	۰/۰۰۰۰۱۳ **	۰/۰۱۱۷ **	-	-
Y×A×B×C	۴	۰/۱۵۶ ns	-	-	۰/۰۰۰۰۰۲۵ ns	۰/۰۰۶۹۵ **	-	-
خطا	۳۴	۰/۱۲۹	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۱۱	۰/۰۰۰۰۰۳۵	۰/۰۰۱۶	۰/۰۰۰۰۹۶	۰/۰۰۰۰۹۲
ضریب تغییرات (درصد)		۸/۲۰	۸/۴۳	۹/۷۳	۱۲/۵۹	۷/۹۰	۳۱/۵۸	۹/۴۲

*، ** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و غیر معنی‌دار است

جدول ۱۸- مقایسه میانگین اثر ترکیب‌های تیماری حاصل از کیفیت اولیه بذر (A)، پیش‌تیمار (B) و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (C) بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

ردیف	ترکیب‌های تیماری	فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه)	ردیف	ترکیب‌های تیماری	فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه)
۱	$a_1b_1c_1$	۹/۴۸۲۱ a	۱۰	$a_2b_1c_1$	۲/۷۱۲۸ jk
۲	$a_1b_1c_2$	۵/۸۴۱۰ c	۱۱	$a_2b_1c_2$	۲/۸۰۶۸ i jk
۳	$a_1b_1c_3$	۵/۶۱۰۳ cd	۱۲	$a_2b_1c_3$	۳/۸۹۲۳ f
۴	$a_1b_2c_1$	۳/۱۳۱۶ hi	۱۳	$a_2b_2c_1$	۲/۷۲۱۴ ijk
۵	$a_1b_2c_2$	۲/۴۸۲۱ k	۱۴	$a_2b_2c_2$	۸/۳۷۰۹ b
۶	$a_1b_2c_3$	۳/۰۹۷۴ hij	۱۵	$a_2b_2c_3$	۲/۸۷۵۲ hijk
۷	$a_1b_3c_1$	۵/۳۱۹۷ d	۱۶	$a_2b_3c_1$	۳/۵۹۳۲ fg
۸	$a_1b_3c_2$	۵/۳۹۶۶ d	۱۷	$a_2b_3c_2$	۳/۹۷۷۸ f
۹	$a_1b_3c_3$	۳/۲۳۴۲ gh	۱۸	$a_2b_3c_3$	۴/۴۲۲۲ e
LSD ۵٪		۰/۴۱۴۵			

کیفیت اولیه بذر: غیرفرسوده (a_1) و فرسوده (a_2)

غلظت‌های پیش‌تیمار: صفر (b_1)، ۳۰ (b_2) و ۶۰ (b_3) میکرومولا

غلظت‌های محلول‌پاشی: صفر (c_1)، ۳۰ (c_2) و ۶۰ (c_3) میکرومولار

جدول پیوست ۱۹- مقایسه میانگین اثر ترکیب‌های تیماری حاصل از کیفیت اولیه بذر (A)، پیش‌تیمار (B) و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (C) بر فعالیت آنزیم کاتالاز در سال اول و دوم

سال اول				سال دوم			
ردیف	ترکیب های تیماری	فعالیت آنزیم کاتالاز (واحد آنزیمی بر میلی گرم پروتئین در دقیقه)	ردیف	ترکیب های تیماری	فعالیت آنزیم کاتالاز (واحد آنزیمی بر میلی گرم پروتئین در دقیقه)	ردیف	ترکیب های تیماری	فعالیت آنزیم کاتالاز (واحد آنزیمی بر میلی گرم پروتئین در دقیقه)
۱	$a_1b_1c_1$	۰/۰۵۶۴ ^{c}	۱۰	$a_2b_1c_1$	۰/۰۸۴۶ ^{a}	۱	$a_1b_1c_1$	۰/۰۲۰۰ ^{h}	۱۰	$a_2b_1c_1$	۰/۰۸۴۶ ^{a}
۲	$a_1b_1c_2$	۰/۰۱۵۳ ^{j}	۱۱	$a_2b_1c_2$	۰/۰۵۳۸ ^{cd}	۲	$a_1b_1c_2$	۰/۰۳۰۴ ^{def}	۱۱	$a_2b_1c_2$	۰/۰۵۳۸ ^{cd}
۳	$a_1b_1c_3$	۰/۰۷۱۸ ^{b}	۱۲	$a_2b_1c_3$	۰/۰۷۴۴ ^{b}	۳	$a_1b_1c_3$	۰/ ۰۵۱۱ ^{a}	۱۲	$a_2b_1c_3$	۰/۰۷۴۴ ^{b}
۴	$a_1b_2c_1$	۰/۰۵۶۴ ^{c}	۱۳	$a_2b_2c_1$	۰/۰۴۱۰ ^{f}	۴	$a_1b_2c_1$	۰/۰۲۵۹ ^{fg}	۱۳	$a_2b_2c_1$	۰/۰۴۱۰ ^{f}
۵	$a_1b_2c_2$	۰/۰۲۸۲ ^{hi}	۱۴	$a_2b_2c_2$	۰/۰۲۶۹ ^{hi}	۵	$a_1b_2c_2$	۰/۰۲۵۲ ^{fgh}	۱۴	$a_2b_2c_2$	۰/۰۲۶۹ ^{hi}
۶	$a_1b_2c_3$	۰/۰۴۲۳ ^{ef}	۱۵	$a_2b_2c_3$	۰/۰۴۲۳ ^{ef}	۶	$a_1b_2c_3$	۰/۰۳۶۲ ^{bc}	۱۵	$a_2b_2c_3$	۰/۰۴۲۳ ^{ef}
۷	$a_1b_3c_1$	۰/۰۳۹۷ ^{fg}	۱۶	$a_2b_3c_1$	۰/۰۴۳۶ ^{ef}	۷	$a_1b_3c_1$	۰/۰۳۹۷ ^{fg}	۱۶	$a_2b_3c_1$	۰/۰۴۳۶ ^{ef}
۸	$a_1b_3c_2$	۰/۰۲۵۶ ^{i}	۱۷	$a_2b_3c_2$	۰/۰۴۸۷ ^{de}	۸	$a_1b_3c_2$	۰/۰۲۵۶ ^{i}	۱۷	$a_2b_3c_2$	۰/۰۴۸۷ ^{de}
۹	$a_1b_3c_3$	۰/۰۵۰۸ ^{cd}	۱۸	$a_2b_3c_3$	۰/۰۳۳۳ ^{gh}	۹	$a_1b_3c_3$	۰/۰۵۰۸ ^{cd}	۱۸	$a_2b_3c_3$	۰/۰۳۳۳ ^{gh}
LSD ۵٪		۰/۰۰۶۵				LSD ۵٪		۰/۰۰۵۶			

کیفیت اولیه بذر: غیرفرسوده (a_1) و فرسوده (a_2)

غلظت‌های پیش‌تیمار: صفر (b_1)، ۳۰ (b_2) و ۶۰ (b_3) میکرومولا

غلظت‌های محلول‌پاشی: صفر (c_1)، ۳۰ (c_2) و ۶۰ (c_3) میکرومولار

جدول پیوست ۲۰- مقایسه میانگین اثر ترکیب‌های تیماری حاصل از کیفیت اولیه بذر (A)، پیش‌تیمار (B) و محلول‌پاشی با غلظت های مختلف اسید سینامیک (C) بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

ردیف	ترکیب‌های تیماری	فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه)	ردیف	ترکیب‌های تیماری	فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه)
۱	$a_1b_1c_1$	۰/۰۲۲۹ b	۱۰	$a_2b_1c_1$	۰/۰۱۳۴ ef
۲	$a_1b_1c_2$	۰/۰۰۶۹ g	۱۱	$a_2b_1c_2$	۰/۰۰۷۷ g
۳	$a_1b_1c_3$	۰/۰۱۴۳ ed	۱۲	$a_2b_1c_3$	۰/۰۱۵۵ cd
۴	$a_1b_2c_1$	۰/۰۱۵۲ ed	۱۳	$a_2b_2c_1$	۰/۰۱۷۰ cd
۵	$a_1b_2c_2$	۰/۰۱۷۸ c	۱۴	$a_2b_2c_2$	۰/۰۰۶۸ g
۶	$a_1b_2c_3$	۰/۰۲۳۱ b	۱۵	$a_2b_2c_3$	۰/۰۱۳۵ ef
۷	$a_1b_3c_1$	۰/۰۲۵۹ a	۱۶	$a_2b_3c_1$	۰/۰۱۲۷ f
۸	$a_1b_3c_2$	۰/۰۱۵۰ ed	۱۷	$a_2b_3c_2$	۰/۰۱۳۹ ef
۹	$a_1b_3c_3$	۰/۰۱۳۶ ef	۱۸	$a_2b_3c_3$	۰/۰۱۳۹ ef
LSD ۵٪		۰/۰۰۲۲			

کیفیت اولیه بذر: غیرفرسوده (a_1) و فرسوده (a_2)

غلظت‌های پیش‌تیمار: صفر (b_1)، ۳۰ (b_2) و ۶۰ (b_3) میکرومولا

غلظت‌های محلول‌پاشی: صفر (c_1)، ۳۰ (c_2) و ۶۰ (c_3) میکرومولار

جدول پیوست ۲۱- مقایسه میانگین اثرات سه‌جانبه سال (Y)، پیش‌تیمار (B) و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (C) بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

ردیف	ترکیب های تیماری	فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (واحد آنزیمی بر میلی گرم پروتئین در دقیقه)	ردیف	ترکیب های تیماری	فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (واحد آنزیمی بر میلی گرم پروتئین در دقیقه)
۱	$y_1b_1c_1$	۰/۰۱۷۵ ab	۱۰	$y_2b_1c_1$	۰/۰۱۸۸ ab
۲	$y_1b_1c_2$	۰/۰۰۷۴ g	۱۱	$y_2b_1c_2$	۰/۰۰۷۳ g
۳	$y_1b_1c_3$	۰/۰۱۴۵de	۱۲	$y_2b_1c_3$	۰/۰۱۵۳ cd
۴	$y_1b_2c_1$	۰/۰۱۴۲ de	۱۳	$y_2b_2c_1$	۰/۰۱۸۱ab
۵	$y_1b_2c_2$	۰/۰۱۱۴ f	۱۴	$y_2b_2c_2$	۰/۰۱۳۲ def
۶	$y_1b_2c_3$	۰/۰۱۸۵ ab	۱۵	$y_2b_2c_3$	۰/۰۱۸ ab
۷	$y_1b_3c_1$	۰/۰۱۸۹ ab	۱۶	$y_2b_3c_1$	۰/۰۱۹۷ a
۸	$y_1b_3c_2$	۰/۰۱۱۷ f	۱۷	$y_2b_3c_2$	۰/۰۱۷۲ bc
۹	$y_1b_3c_3$	۰/۰۱۲۵ ef	۱۸	$y_2b_3c_3$	۰/۰۱۴۹ d
LSD ۵٪		۰/۰۰۲۲			

سال: اول (Y۱)، دوم (Y۲)

غلظت‌های پیش‌تیمار: صفر (b_1)، ۳۰ (b_2) و ۶۰ (b_3) میکرومولار

غلظت‌های محلول‌پاشی: صفر (c_1)، ۳۰ (c_2) و ۶۰ (c_3) میکرومولار

جدول پیوست ۲۲- مقایسه میانگین اثر ترکیب‌های تیماری حاصل از کیفیت اولیه بذر (A)، پیش‌تیمار (B) و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (C) بر فعالیت آنزیم پراکسیداز

ردیف	ترکیب‌های تیماری	فعالیت آنزیم پراکسیداز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه)	ردیف	ترکیب‌های تیماری	فعالیت آنزیم پراکسیداز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه)
۱	$a_1b_1c_1$	۰/۶۹۹ ab	۱۰	$a_2b_1c_1$	۰/۴۲۷ ef
۲	$a_1b_1c_2$	۰/۴۸۸ d	۱۱	$a_2b_1c_2$	۰/۵۸۷ c
۳	$a_1b_1c_3$	۰/۵۸۵ c	۱۲	$a_2b_1c_3$	۰/۴۱۷ ef
۴	$a_1b_2c_1$	۰/۳۸۴ f	۱۳	$a_2b_2c_1$	۰/۳۳۰ g
۵	$a_1b_2c_2$	۰/۶۹۶ ab	۱۴	$a_2b_2c_2$	۰/۳۱۳ g
۶	$a_1b_2c_3$	۰/۶۹۶ ab	۱۵	$a_2b_2c_3$	۰/۴۵۴ ed
۷	$a_1b_3c_1$	۰/۴۴۹ ed	۱۶	$a_2b_3c_1$	۰/۵۵۲ c
۸	$a_1b_3c_2$	۰/۴۲۵ ef	۱۷	$a_2b_3c_2$	۰/۴۷۸ b
۹	$a_1b_3c_3$	۰/۴۵۳ ed	۱۸	$a_2b_3c_3$	۰/۷۴۰ a
LSD ۵٪		۰/۰۴۶۳			

کیفیت اولیه بذر: غیرفرسوده (a_1) و فرسوده (a_2)

غلظت‌های پیش‌تیمار: صفر (b_1)، ۳۰ (b_2) و ۶۰ (b_3) میکرومولا

غلظت‌های محلول‌پاشی: صفر (c_1)، ۳۰ (c_2) و ۶۰ (c_3) میکرومولار

جدول پیوست ۲۳- مقایسه میانگین اثرات سه‌جانبه سال (Y)، کیفیت اولیه بذر (A) و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (B) بر فعالیت آنزیم پراکسیداز

ردیف	ترکیب های تیماری	فعالیت آنزیم پراکسیداز (واحد آنزیمی بر میلی گرم پروتئین در دقیقه)	ردیف	ترکیب های تیماری	فعالیت آنزیم پراکسیداز (واحد آنزیمی بر میلی گرم پروتئین در دقیقه)
۱	$y_1a_1b_1$	۰/۶۳۷ a	۷	y۲a۱b۱	۰/۵۴۲ b
۲	$y_1a_1b_2$	۰/۶۳۹ a	۸	y۲a۱b۲	۰/۵۲۰ bc
۳	$y_1a_1b_3$	۰/۴۴۰ e	۹	$y_2a_1b_3$	۰/۴۴۴ e
۴	$y_1a_2b_1$	۰/۴۶۷ ed	۱۰	$y_2a_2b_1$	۰/۵۸۷ cd
۵	$y_1a_2b_2$	۰/۳۶۴ f	۱۱	$y_2a_2b_2$	۰/۳۶۸ f
۶	$y_1a_2b_3$	۰/۶۴۱ a	۱۲	$y_2a_2b_3$	۰/۵۴۰ b
LSD ۵٪		۰/۰۳۷۸			

سال: اول (Y۱)، دوم (Y۲)

کیفیت اولیه بذر: غیرفرسوده (a_1) و فرسوده (a_2)

غلظت‌های پیش‌تیمار: صفر (b_1)، ۳۰ (b_2) و ۶۰ (b_3) میکرومولار

جدول پیوست۲۴- مقایسه میانگین اثرات سه‌جانبه سال (Y)، پیش‌تیمار (B) و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (C) بر فعالیت پراکسیداز

ردیف	ترکیب های تیماری	فعالیت آنزیم پراکسیداز (واحد آنزیمی بر میلی گرم پروتئین در دقیقه)	ردیف	ترکیب های تیماری	فعالیت آنزیم پراکسیداز (واحد آنزیمی بر میلی گرم پروتئین در دقیقه)
۱	$y_1b_1c_1$	۰/۶۱۳ a	۱۰	$y_2b_1c_1$	۰/۵۱۳ bcdef
۲	$y_1b_1c_2$	۰/۵۲۵ bcde	۱۱	$y_2b_1c_2$	۰/۵۴۵ bc
۳	$y_1b_1c_3$	۰/۵۱۷ bcde	۱۲	$y_2b_1c_3$	۰/۴۸۵ ef
۴	$y_1b_2c_1$	۰/۴۰۶ g	۱۳	$y_2b_2c_1$	۰/۳۰۸ h
۵	$y_1b_2c_2$	۰/۵۴۰ bcd	۱۴	$y_2b_2c_2$	۰/۴۶۹ f
۶	$y_1b_2c_3$	۰/۵۵۸ b	۱۵	$y_2b_2c_3$	۰/۵۵۸ b
۷	$y_1b_3c_1$	۰/۴۹۶ def	۱۶	$y_2b_3c_1$	۰/۵۰۴ cdef
۸	$y_1b_3c_2$	۰/۴۸۶ ef	۱۷	$y_2b_3c_2$	۰/۴۱۷ g
۹	$y_1b_3c_3$	۰/۶۳۹ a	۱۸	$y_2b_3c_3$	۰/۵۵۸ b
LSD ۵٪		۰/۰۴۶			

سال: اول (Y۱)، دوم (Y۲)

غلظت‌های پیش‌تیمار: صفر (b_1)، ۳۰ (b_2) و ۶۰ (b_3) میکرومولار

غلظت‌های محلول‌پاشی: صفر (c_1)، ۳۰ (c_2) و ۶۰ (c_3) میکرومولار

جدول پیوست ۲۵ -میانگین اثرات چهار جانبه سال (Y)، کیفیت اولیه بذر (A)، پیش‌تیمار (B) و محلول‌پاشی (C) با غلظت های مختلف اسید سینامیک بر فعالیت آنزیم پراکسیداز

ردیف	ترکیب های تیماری	فعالیت آنزیم پراکسیداز (واحد آنزیمی بر میلی گرم پروتئین در دقیقه)	ردیف	ترکیب های تیماری	فعالیت آنزیم پراکسیداز (واحد آنزیمی بر میلی گرم پروتئین در دقیقه)	ردیف	ترکیب های تیماری	فعالیت آنزیم پراکسیداز (واحد آنزیمی بر میلی گرم پروتئین در دقیقه)
۱	$y_1a_1b_1c_1$	۰/۸۰۳a	۱۳	$y_1a_2b_2c_1$	۰/۳۴۹no	۲۵	$y_1a_1b_2c_1$	۰/۴۹۹hi
۲	$y_1a_1b_1c_2$	۰/۴۹۳hij	۱۴	$y_1a_2b_2c_2$	۰/۳۱۸o	۲۶	y_1 $a_1b_2c_2$	۰/۴۲۸ijklm
۳	$y_1a_1b_1c_3$	۰/۶۱۴efg	۱۵	$y_1a_2b_2c_3$	۰/۴۲۵klm	۲۷	y_1 $a_1b_2c_3$	۰/۴۰۶mn
۴	$y_1a_1b_2c_1$	۰/۴۶۴ ijklm	۱۶	$y_1a_2b_2c_1$	۰/۵۹۴efg	۲۸	$y_1a_2b_1c_1$	۰/۴۳۱ijklm
۵	$y_1a_1b_2c_2$	۰/۷۶۲ab	۱۷	$y_1a_2b_2c_2$	۰/۵۵۰ gh	۲۹	$y_1a_2b_1c_2$	۰/۶۱۶ef
۶	$y_1a_1b_2c_3$	۰/۶۹۱cd	۱۸	$y_1a_2b_2c_3$	۰/۸۷۸a	۳۰	$y_1a_2b_1c_3$	۰/۴۱۳lmn
۷	$y_1a_1b_3c_1$	۰/۳۹۸mn	۱۹	$y_1a_1b_1c_1$	۰/۵۹۴efg	۳۱	$y_1a_1b_1c_1$	۰/۳۱۲o
۸	y_1 $a_1b_2c_2$	۰/۴۲۱klm	۲۰	$y_1a_1b_1c_2$	۰/۴۷۵ijkl	۳۲	$y_1a_1b_1c_2$	۰/۳۰۹o
۹	y_1 $a_1b_2c_3$	۰/۵۰۱hi	۲۱	$y_1a_1b_1c_3$	۰/۵۵۷fgh	۳۳	$y_1a_1b_1c_3$	۰/۴۸۳ijk
۱۰	$y_1a_2b_1c_1$	۰/۴۲۲klm	۲۲	$y_1a_1b_2c_1$	۰/۳۰۳o	۳۴	$y_1a_1b_2c_1$	۰/۵۰۹hi
۱۱	$y_1a_2b_1c_2$	۰/۵۵۷fh	۲۳	$y_1a_1b_2c_2$	۰/۶۳۰de	۳۵	$y_1a_1b_2c_2$	۰/۴۰۵mn
۱۲	$y_1a_2b_1c_3$	۰/۴۲۱klm	۲۴	$y_1a_1b_2c_3$	۰/۶۲۶de	۳۶	$y_1a_1b_2c_3$	۰/۷۰۵bc
LSD ۵٪		۰/۰۶۵۴						

سال: اول (Y۱)، دوم (Y۲)

کیفیت اولیه بذر: غیرفرسوده (a_1) و فرسوده (a_2)

غلظت‌های پیش‌تیمار: صفر (b_1)، ۳۰ (b_2) و ۶۰ (b_3) میکرومولار

غلظت‌های محلول‌پاشی: صفر (c_1)، ۳۰ (c_2) و ۶۰ (c_3) میکرومولا

جدول پیوست ۲۶- مقایسه میانگین اثر ترکیب‌های تیماری حاصل از کیفیت اولیه بذر (A)، پیش‌تیمار (B) و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سینامیک (C) بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون رداکتاز در سال اول و دوم

سال اول						سال دوم					
ردیف	ترکیب های تیماری	فعالیت آنزیم گلوتاتیون رداکتاز (واحد آنزیمی بر میلی گرم پروتئین در دقیقه)	ردیف	ترکیب های تیماری	فعالیت آنزیم گلوتاتیون رداکتاز (واحد آنزیمی بر میلی گرم پروتئین در دقیقه)	ردیف	ترکیب های تیماری	فعالیت آنزیم گلوتاتیون رداکتاز (واحد آنزیمی بر میلی گرم پروتئین در دقیقه)	ردیف	ترکیب های تیماری	فعالیت آنزیم گلوتاتیون رداکتاز (واحد آنزیمی بر میلی گرم پروتئین در دقیقه)
۱	$a_1b_1c_1$	۰/۰۷۴ b	۱۰	$a_2b_1c_1$	۰/۰۳۵ d	۱	$a_1b_1c_1$	۰/۵۷۴ b	۱۰	$a_2b_1c_1$	۰/۰۲۰ efg
۲	$a_1b_1c_2$	۰/۰۳۶ d	۱۱	$a_2b_1c_2$	۰/۰۱۵ efg	۲	$a_1b_1c_2$	۰/۰۳۵ cde	۱۱	$a_2b_1c_2$	۰/۰۲۴ defg
۳	$a_1b_1c_3$	۰/۰۱۸ efg	۱۲	$a_2b_1c_3$	۰/۰۱۵ efg	۳	$a_1b_1c_3$	۰/۰۲۲ defg	۱۲	$a_2b_1c_3$	۰/۰۲۲ defg
۴	$a_1b_2c_1$	۰/۰۲۷ de	۱۳	$a_2b_2c_1$	۰/۱۱۴ a	۴	$a_1b_2c_1$	۰/۰۳۱ cdef	۱۳	$a_2b_2c_1$	۰/۱۱۴ a
۵	$a_1b_2c_2$	۰/۰۰۹ g	۱۴	$a_2b_2c_2$	۰/۰۲۶ def	۵	$a_1b_2c_2$	۰/۰۲۳ defg	۱۴	$a_2b_2c_2$	۰/۰۲۶ def
۶	$a_1b_2c_3$	۰/۰۱۰ fg	۱۵	$a_2b_2c_3$	۰/۰۲۲ defg	۶	$a_1b_2c_3$	۰/۰۳۵ cde	۱۵	$a_2b_2c_3$	۰/۰۲۲ defg
۷	$a_1b_3c_1$	۰/۰۱۰ fg	۱۶	$a_2b_3c_1$	۰/۰۵۳ c	۷	$a_1b_3c_1$	۰/۰۳۲ cdef	۱۶	$a_2b_3c_1$	۰/۰۵۳ c
۸	$a_1b_3c_2$	۰/۰۱۱ efg	۱۷	$a_2b_3c_2$	۰/۰۳۵ d	۸	$a_1b_3c_2$	۰/۰۱۷ fg	۱۷	$a_2b_3c_2$	۰/۰۳۵ d
۹	$a_1b_3c_3$	۰/۰۱۶ efg	۱۸	$a_2b_3c_3$	۰/۰۲۶ def	۹	$a_1b_3c_3$	۰/۰۱۰ g	۱۸	$a_2b_3c_3$	۰/۰۲۶ def
LSD ۵٪		۰/۰۰۶۵				LSD ۵٪		۰/۰۰۵۶			

کیفیت اولیه بذر: غیرفرسوده (a_1) و فرسوده (a_2)

غلظت‌های پیش‌تیمار: صفر (b_1)، ۳۰ (b_2) و ۶۰ (b_3) میکرومولا

غلظت‌های محلول‌پاشی: صفر (c_1)، ۳۰ (c_2) و ۶۰ (c_3) میکرو

منابع

۱. **پارسا، م. و باقری، ع. (۱۳۸۷).** حبوبات. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، ۵۲۲ صفحه.

۲. **رسام، ق. و دادخواه، ع.ر. (۱۳۹۲).** تأثیر تنش خشکی بر خصوصیات جوانه‌زنی و رشد هتروتروفیک گیاه‌چه ارقام عدس، مجله دانش زراعت، ۶ (۹): ۱۳-۲۴.

۳. **سلطانی، ا.، کامکار، ب.، گالشی، س. و اکرم قادری، ف. (۱۳۸۷).** اثر زوال بذر بر ذخایر ژنتیکی بذور و رشد هترتروفیک گیاه‌چه گندم. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۵ :۶۸-۷۶.

۴. **عجم نوروزی، ح.، سلطانی، ا. و نوری نیا، ع. (۱۳۸۸).** بررسی اثرات زوال بذر بر جوانه‌زنی و رشد گیاه‌چه گندم، فیزیولوژی محیطی گیاهی (پژوهش‌های اکوفیزیولوژی گیاهی ایران)، ۴ (۲): ۵۳-۶۰.

۵. **کافی، م. و مهدوی دامغانی، ع. (۱۳۸۱).** مکانیسم‌های مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. ۴۶۷ صفحه.

۶. **کوچکی، ع.، راشدمحصل، م.ح.، نصیری، م. و صدرآبادی، ر. (۱۳۶۷).** مبانی فیزیولوژی رشد و نمو گیاهان زراعی. انتشارات آستان قدس رضوی. ۴۰۴ صفحه.

۷. **قنبری، م.، مدرس ثانوی، ع.م.، مختصی بیدگلی، ع. و طالبی سیه سران، پ. (۱۳۹۶).** تاثیر هیدروپرایمینگ و پیری بذر بر ویژگی‌های جوانه‌زنی و بیوشیمیایی بذر لوبیا چیتی (*Phaseolus vulgaris*) تحت تیمار شوری. مجله پژوهش‌های بذر ایران، (۲)۴: ۳۷-۵۵

۸. **مجنون حسینی، ن. (۱۳۸۷).** زراعت و تولید حبوبات. چاپ چهارم، انتشارات جهاد دانشگاهی، ۲۸۳ صفحه.

۹. **یزدی صمدی، ب. (۱۳۹۶).** کاربرد فناوری‌های آینده‌نگر در تأمین امنیت غذایی در ایران و جهان، مجله پژوهش های راهبردی در علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ۲ (۱): ۱۵-۲۸.

۱۰. **Abreu, L.A.S., Carvalho, M.L., Pinto, C.A.G., Kataoka, V.Y. and Silva, T.T.A. (۲۰۱۳).** "Deterioration of sunflower seeds during storage" J. Seed Sci. ۳۵ (۲):۲۴۰-۲۴۷.

۱۱. **Adetumbi, J.** A., Jaime, A., Silva, T. and Aluma, O. (۲۰۱۱). "Cowpea (*Vigna unguiculata)* seed germination indices and yield as affected by length of storage" Seed Scie. And Biotech. 5(1): 11-14.

۱۲. **Aebi, H. (۱۹۸۴).** Catalase in Vitro. Methods in Enzymology., ۱۰۵: ۱۲۱–۱۲۶.

۱۳. **Agrawal, R. (۲۰۰۳).** Seed Technology. Pub. Co. PVT. LTD. New Delhi, India.

۱۴. **Alipoor, M. and Mohsenzadeh. S. (۲۰۱۲).** "Effect of vitamin B complex on some biochemical parameters of *Aloe vera* L. under nickel and cadmium stress" J. Medic. Plants**, (**۲): ۱۰۷-۱۱۵.

۱۵. **Arora, A., Sairam, R.K. and Srivastava, G.C. (۲۰۰۲).** "Oxidative stress and antioxidant system in plants" J. Plant Physiol., ۸۲, pp ۱۲۲۷.

۱۶. **Bailly, C., Corbineau, F. and El-Maarouf-Bouteau, H. (۲۰۰۸).** "From intracellular signaling networks to cell death: the dual role of reactive oxygen species in seed physiology" C. R. Biol., ۳۳۱(۱۰):۸۰۶-۸۱۴.

۱۷. **Balasundram, N., Sundram, K. and Samman, S. (۲۰۰۶).** Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food chem. ۹۹(۱): ۱۹۱-۲۰۳.

۱۸. **Basu, R.N. (۱۹۹۴).** "An appraisal of research on wet and dry physiological seed treatments and their applicability with special reference to tropical and sub-tropical countries" S.S.T.,۲۲, pp۱۰۷.

١٩. **Bates, L.S., Walderen, R.D. and Taere, I. D. (١٩٧٣).** "Rapid determination of free proline for water stress studies" Plant and Soil, ٣٩: ٢٠٥-٢٠٧.

٢٠. **Bhattacharjee, A., Kanp, A.K., Chakrabarti, D. and Pati, C.K. (٢٠٠٦).** "Technique for storage longevity of mung bean and sunflower seeds using sodium dikegulac and eucalyptus oil" BANGL J BOT., ٣٥،١, pp٥٥.

٢١. **Biabani, A., Boggs, L.C., Katozi, M. and Sabouri, H. (٢٠١١).** "Effects of seed deterioration and inoculation with mesorhizobiom cicerion on yield and plant performance of chickpea" A.J.C.S, ٥: ٦٦-٧٠

٢٢. **Bradford, M. M. (١٩٧٦).** "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding" Anal. Biochem., ٧٢, pp ٢٤٨.

٢٣. **Brilhante, J.C., Oliveira, A.B., Silva, J.W.L. and EFilho, J. (٢٠١٣). "**Action of exogenous ascorbic acid on physiological quality of cowpea seeds artificially aged" Ciencias Agrarias., ٣٤, ٣, pp ٩٨٥.

٢٤. **Cakmak, T. O., Atici, G., Sunar, S. (٢٠١٠)** " Natural aging-related biochemical changes in alfalfa seeds stored for ٤٢ years" Int. Res. J. Plant Scie. ١(١): ١-٦.

٢٥. **Chance, B. and Maehly, A.C. (١٩٩٥).** "An assay of catalase and peroxidase" In: S. P. Colowick and N.D. Kapland, Eds, Method in Enzymol**.** Acadamic Press, New York. ٧٦٤-٧٩١.

٢٦. **Chen, K. and Arora, R. (٢٠١٣).** Priming memory invokes seed stress tolerance. E.E.B., vol.٩٤, pp. ٣٣-٤٥.

٢٧. **Cheng, Z. Y., Sun, L., Wang, X. J., Sun, R., An, Y. Q., An, B. L. and Bai, J. G. (٢٠١٨).** Ferulic acid pretreatment alleviates heat stress in blueberry seedlings by inducing antioxidant enzymes, proline, and soluble sugars. Bio plan. ٦٢(٣): ٥٣٤-٥٤٢.

٢٨. **Copeland, L.O. and McDonald, M.B. (٢٠٠١).** 'Principles of Seed Science and Technology" Springer-Verlag U.S. ١٩٢-٢٣٠.

٢٩. **Dai, A.H., Nie, Y.X., Yu, B., Li, Q., Lu, L.Y. and Bai, J.G. (٢٠١٢).** "Cinnamic acid pretreatment enhances heat tolerance of cucumber leaves through modulating antioxidant enzyme activity" Environ. Exp. Bot., ٧٩, pp ١.

٣٠. **Delouche, J.C., and Baskin, C.C.(١٩٧٣).** "Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots" S.S.T, ٢٧, pp١٧٧.

٣١. **Du, Z. and BramLey, W.J. (١٩٩٢).** "Modified thiobarbituric acid assay for measuring lipid oxidation in sugar-rich plant tissue extracts" J. of Agri. Food Chem., ٤٠, pp ١٥٦٦.

٣٢. **Elis, R. H. (١٩٩٢).** " Seed and seedling vigour in relation to crop growth and yield**"** Plant growth regulation. ١١(٣):٢٤٩-٢٥٥.

٣٣. **El-Tayb, M.A. (٢٠٠٥).** Response of barely grains to the interactive effect of salinity and saliiclic acid. J. Plant Growth Regul. ٤٥:٢١٥-٢٢٥.

٣٤. **Funck, D., Stadelhofer, B. and Koch, W. (٢٠٠٩).** "Ornitine-delta-aminotransferase is essential for arginine catabolism but not for proline biosynthesis" BMC Plant Biol., **٨**: ٤٠-٤٥.

٣٥. **Goel, A. and Goel, A. K. and Sheoran, I.S. (٢٠٠٣).** "Changes in oxidative stress enzymes during artificial aging in cotton seeds" PPJ. ١٦٠ (٤): ١٠٩٣-١١٠٠.

٣٦. **Govindaraj, M., Masilamani, P., Alex Albert, V. and Bhaskaran, M. (٢٠١٧).** "Role of antioxidants in seed quality. A review" Agri. Rev., ٣٨(٣): ١٨٠-١٩٠.

٣٧. **Guan, L.M. and Scandalious, J.G. (٢٠٠٢).** "Catalase gene expression in response to auxin mediated developmental signals" Physiol. plantarum, ١١٤: ٢٨٨-٢٩٥.

٣٨. **Gupta, A. and Aneja, K.R. (٢٠٠٤).** "Seed deterioration in soybean varieties during storage-physiological attributes"J. Seed Res. ٣٢:٢٦-٣٢.

٣٩. **Hampton, J.G. and Tekrony, D.M. (١٩٩٥).** "Handbook of vigor tests methods" ٣rd ed. Zurich: ISTA, ١١٧ p.

٤٠. **Harding, V.J and Maclean, R.M. (١٩١٦).** "The ninhydrin reaction with amines and amides" J.B.C., ٢٥: ٣٣٧-٣٥٠.

٤١. **Harington, G.F. (١٩٧٣).** "Biochemical basis of seed longevity". Seed Sci and Tech, ١:٤٥٣-٤٦٧.

٤٢. **Harindrachampa, W.A., Gill, M.I. S., Mahajan, B.V.C. and Bedi, S. (٢٠١٥).** "Exogenous treatment of spermine to maintain quality and extend postharvest life of table grapes (*Vitis vinifera* L.) cv. Lame seedlings under low temperature storage" Food Sci. Technol., ٦٠, ١, pp ٤١٢.

٤٣. **Hampton, J.G. and Tekrony, D.M. (١٩٩٥).** "Handbook of vigor test methods, the international seed testing association".

٤٤. **Havaux, M.B., Ksas, A., Szewczyk, D., rumeau, F., Francks, F., Caffarri, S. and Triantaphylides, C. (٢٠٠٩).** "Vitamin B٦ deficient plants display increased sensitivity to high light and photo-oxidative stress" Plant Biol., ٣٥, pp١٦٨.

٤٥. **Hernandez, S.M. Sanchez, M.S. and Tarlovsky, M.N.S. (٢٠٠٦).**"Polyamines as a defense mechanism against lipoperoxidation in *Trypanosoma Cruzi*" Acta Tropica, ٩٨،١, pp٩٤.

٤٦. **Hiscox, J.D. and Israelstam, G.F. (١٩٧٩).** A Method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. Canadian J. Bot., ٥٧(١٢): ١٣٣٤-١٣٣٢.

٤٧. **Huax, J., Van de Cotte, B., Montagu, M.V. and Verbruggen, N. (١٩٩٧).** "Developmental regulation of pyroline-٥-carboxylate reductase gene expression in Arabidopsis" P. P, ١١٤: ١٢١٥-١٢٢٤.

٤٨. **Hussian, I.R., Ahmad, M., Farooq, M., Rehman, A., Amin, M. and Bakar, M.A. (٢٠١٤).** "Seed priming: a tool to invigorate the seeds" Scientia Agri., ٧, ٣, pp ١٢٢.

۴۹. **Ighodaro, O.M. and Akinloye, O.A. (۲۰۱۷).** "First line defence antioxidants- super oxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): their fundamental role in the entire antioxidants defence grid" A. J. M. In press.

۵۰. **ISTA. (۲۰۱۲).** International Rules for Seed Testing, Bassersdorf: International Seed Testing Association.

۵۱. **Joosen, R.V.L., Kodde, J., Willems, L., Ligterink, W., Plas vander, L.H.W. and Hilhorst, H.W.M. (۲۰۱۰)**."Germinator: A software package for high-throughput scoring and curve fitting of Arabidopsis seed germination" T. P. J., (Online First, doi: ۱۰,۱۱۱۱/j.۱۳۶۵-۳۱۳X.۲۰۰۹,۰۴۱۱۶.x).

۵۲. **Kafi, M. and Rustami, M. (۲۰۰۹).** "Effect of drought stress on yield and yield components and oil percentage of safflower cultivars under saltwater irrigation conditions" I. J. A. R., ۵: ۱۱۲-۱۳۲. (in Persian).

۵۳. **Kim, D.H. (۲۰۱۸).** Extending populous seed longevity by controlling seed mosisture content and temperature. Plos One. ۱۳(۸).

۵۴. **Kramer, P.J. (۱۹۸۳).** "Water relations in plants" Academic Press pp.۳۴,۴۱.

۵۵. **Kumar, D., Yusef, M.A., Singh, P., Sardar, M. and Sarin, N. (۲۰۱۴).** "Histochemical detection of superoxide and H۲O۲ accumulation in Brassica juncea seedlings. http://www.bio-protocol.org/e۱۱۰۸. vol ۴, ISS ۸, (accessed Apr ۲۰).

۵۶. **Kong, L., Hue, H. and Mao, P. (۲۰۱۵).** "Antioxidant response and related gene expression in aged oat seed", Frontiers. Plant Sci., ۶: ۱-۹.

۵۷. **Kurepa, J. and Smalle, J. A. (۲۰۱۹).** trans-Cinnamic acid-induced leaf expansion involves an auxin-independent component. Com & int bio. ۱۲(۱):۷۸-۸۱.

۵۸. **Lehner, A., Mamadou, N.P. and Corbineau, F. (۲۰۰۸).** "Change in soluble carbohydrates, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activityes in the embryo during aging in wheat grains" J. Cereal Sci. ۴۷:۵۵۵-۵۶۵.

۵۹. **Leroux, G.D. and Simard, R.R. and Baziramakenga, R. (۱۹۹۵).**" Effects of benzoic and cinnamic acids on membrane permeability of soybean roots" Journal of Chem. Ecol., ۲۱(۹):۱۲۷۱-۱۲۸۵.

۶۰. **Li, Q., Yu, B., Gao, Y., Dai, A. and Bai, J. (۲۰۱۱).** "Cinnamic acid pretreatment mitigates chilling stress of cucumber leaves through altering antioxidant enzyme activity" J. of plant physiol., ۱۶۸, pp ۹۲۷.

۶۱. **Mandal, A.K., De, B.K. and Basu, R.N. (۲۰۰۳).** "Seed invigoration treatment on different seed sizes of wheat (*Triticum aestivum* L.)" I. J. A. S., ۶۹, pp ۶۲۷.

۶۲. **Martin, J., Kuskoski, E.M., Navas, M.J., Asuero, A.G. (۲۰۱۷).** "Flavonoids- from biosynthesis to human health" intech open, pp ۴۳۹.

۶۳. **McDonald, M.B. (۱۹۹۹).** "Seed deterioration: physiology, repair and assessment" S.S.T., ۲۷, pp ۱۷۷.

٦٤. **Menezes, V.O., Lopes, S.J., Tedesco, S.B., Henning, F.A., Zen, H.D. and Mertz, L.M. (٢٠١٤).** "Cytogenetic analysis of wheat seeds submitted to artificial aging stress" J.S.S., ٣٦, pp ٧١.

٦٥. **Minami, M. and Yoshikawa, H.A. (١٩٧٩).** "Simplified assay method of superoxide dismutase activity for clinical use" Clin. Chim. Acta., ٩٢, pp ٣٣٧.

٦٦. **Mohammadkhani, N. and Heidari, R. (٢٠٠٨).** "Drought-induced accumlation of soluble sugars and proline in two maize varieties" WASJ, ٣: ٤٤٨-٤٥٣.

٦٧. **Moharekar, S.T., Lokhande, S.D., Hara, T., Tanaka, R., Tanaka, A. and Chavan, P.D. (٢٠٠٣).** Effect of salicylic acid on chlorophyll and carotenoid contents of weat and moong seeding. Photosynthetica ٤١:٣١٥-٣١٧.

٦٨. **Murthy, U.M.N., Liang, Y.H., Kumar, P.P. and Sun, W.Q. (٢٠٠٢)**. "Non-enzymatic protein modification by the maillard reaction reduces the activities of scavenging enzymes in Vignia radiate". J. Physio Plan. ١١٥:٢١٣-٢٢٠.

٦٩. **Nagel, M., Kodde, J., Pistrick, S., Mascher, M., Börner, A. and Groot, S. P. (٢٠١٦).** "Barley seed aging: genetics behind the dry elevated pressure of oxygen aging and moist controlled deterioration". J. Frontiers in plant sci. ٧: ٣٨٨.

٧٠. **Nakano, Y. and Asada, K. (١٩٨١).** "Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts" Plant cell physiol., ٢٢, pp ٨٦٧.

٧١. **Nemat Alla, M.M. and Hasan, N.M. (٢٠١٤)** "Alleviation of isoproturon toxicity to wheat by exogenous application of glutathione" Pestic Biochem. Physiol., ١١٢, pp ٥٦.

٧٢. **Nisarga, K. N., Vemanna, R. S., Chandrashekar, B. K., Rao, H., Vennapusa, A. R., Narasimaha, A. and Basavaiah, M. R. (٢٠١٧).** "Aldo-ketoreductase ١ (AKR١) improves seed longevity in tobacco and rice by detoxifying reactive cytotoxic compounds generated during ageing". Rice. ١٠(١): ١١.

٧٣. **Noctor, G. and Fover, C.H. (١٩٩٨).** "Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. Annu. Rev. Plant physiol" Plant Molecular Biol., ٤٩ pp ٢٤٩.

٧٤. **Paparella, S., Araujo, S., Rossi, G., WijaYasingh, M., Carbonera, D. and Balestrazzi, A. (٢٠١٥).** "Seed priming: State of the art and new perspectives" Plant Cell Rep., ٢٥, pp ٩٨.

٧٥. **Reza, H., Shafiq, S.f., Chaudhary, M. and Khan, I. (٢٠١٣).** "Seed invigoration with water, ascorbic and salicylic acid stimulates development and biochemical characters of okra (*Ablemoschus esculentus*) under normal and saline conditions" I.J.A.B.,١٥, pp٤٨٦.

٧٦. **Rezvani, E., Ghaderifar, F., Hamidi, A. and Soltani, E. (٢٠١٦).** " Catalase and peroxidase activities and acquisition of desiccation tolerance in hybrid maiz seed " Seed Technology ٣٧, ١٢٠-١٣٤.

٧٧. **Rubio de Casas, R., Willis, C.G., Pearse, W.D., Baskin, C.C., Baskin, J.M. and Cavender-Bares, J. (٢٠١٧)**. "Global biogeography of seed dormancy is determined by seasonality and seed size: a case study in the legumes" New Phytologist ٢١٤, ١٥٢٧–١٥٣٦.

٧٨. **Sairam, R.K. and Srivastsva, G.C. (٢٠٠١).** "Water stress tolerance of wheat (*Triticum aestivium* L.) vaiation in hydrogen peroxide assumulation and antioxidant activity in tolerant and susceptible genotype". J. Agron. and Crop Sci., ١٨٦:٦٣-٧٠٠.

٧٩. **Salvador, V.H., Lima, R.B., Santos, W.D., Soares, A.R., Bohm, P.A.F., Marchiosi, R., Ferrarese, M.L.L. and Filho, O.F. (٢٠١٣).** "Cinnamic acid increases lignin production and inhibits soybeen root growth" Plos One, ٨, ٧, pp ٦٥.

٨٠. **Sallunkhe, D.K., Chavan, J.K. and Kadam, S.S. (١٩٨٥).** "Postharvest biotechnology of cereals, boca raton", Fla:CRC Press. ٢٠٨ p.

٨١. **Sano, N., Rajjou, L., North, H. M., Debeaujon, I., Marion-Poll, A. and Seo, M. (٢٠١٥).** "Staying alive: molecular aspects of seed longevity". Plant and Cell Physio. ٥٧(٤):٦٦٠-٦٧٤.

٨٢. **Santos, P.M.P. and Viera, A.J.S.C. (٢٠١٣).** "Antioxidising activity of cinnamic acid derivatives against oxidative stress induced by oxidizing radicals" J. Phys. Org. Chem., ٢٦, pp ٤٣٢.

٨٣. **Sengupta, A.K., De, B.K. and Mandal, A.K. (٢٠١١).** "Pre-storage seed invigoration treatments for the maintenance of vigor, viability and field performance of high vigor onion seed (*Allium cepa* L.)" Asian Pac. J. Cancer Prev., ٥, pp ٢٣٧.

٨٤. **Shahin, R., Srinivason, K., Umar, S.H., Suneja, P. and Yadav, S. (٢٠١٣).** "Qualitative and quantitative changes in lipids of cowpea (*Vigna unguiculata*): Impact of changes in seed vigor" The Indian J. Agric. Sci. ٨٣, pp ١٦٣.

٨٥. **Shalaby, S. and Horwitz, B. A. (٢٠١٤).** "Plant phenolic compounds and oxidative stress: Integrated signals in fungal-plant interactions" Mol. Plant-Microbe Interact., ٦١٠, pp ٣٤٧.

٨٦. **Shelar, V.R., Shaikh, R.S. and Nikam, A.S. (٢٠٠٨).** "Soybean seed quality during storage: A review" Agri. Rev., ٢٩،٢, pp١٢٥.

٨٧. **Shibata, M., Oliviera, C.M.M, Garcia, L.M. and Garcia, C. (٢٠١٢)**."Accelerated aging of ipe seeds under controlled conditions of storage". Revista Brasileira de Sementes., ٣٤, pp ٢٤٧.

٨٨. **Singh, B. and Chaturvedi, V.K. (٢٠١٤).** "Impact of cinnamic acid on physiological and anatomical changes in maize plants (*Zea mays* L.) grown under salinity stress" J. Stress Physiol. Biochem. ١٠, ٢, pp ١٢٢.

٨٩. **Singh, B., Sunaina, S., Yadav, K. and Amist, N. (٢٠١٣).** "Phytotoxic effects of cinnamic acid on cabbage (*Brassica oleracea* var. cappitata)" J. of Stress Physiol and Biochem., ٩, pp ٣٠٧.

٩٠. **Sun, W.J., Nie, Y.X ., Gao, Y., Dai, A.H. and Bai, J.G. (٢٠١٢).** "Exogenous cinnamic acid regulates antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in drought-stressed cucumber" Acta Physiol. Plant. ٣٤, pp ٦٤١.

٩١. **Sisman, C. and Delibas, L. (٢٠٠٤).** "Storing sunflower seed and quality losses during stprage" J of Cen Eur Agr. ٤:٢٣٩-٢٥٠.

٩٢. **Suma, A., Sreenivasan, K., Singh, A. K. and Radhamani, J. (٢٠١٣).** "Role of relative humidity in processing and storage of seeds and assessment of variability in storage behaviour in Brassica spp. and Eruca sativa". The Sci World J. ٢٠١٣.

٩٣. **Ventura, L., Dona M., Macovei A., Carbonera D., Buttafava A., Mondoni A., Rossi G. and Balestrazzi A. (٢٠١٢).** "Understanding the molecular pathways associated with seed vigor" P. P.B., ٦٠, pp ١٩٦.

٩٤. **Vidigal, D.S., Willems, L., Van Arkel, J., Dekkers, B.J.W., Hilhorst, H.W.M. and Bentsink, L. (٢٠١٦).** "Galactinol as marker for seed longevity" Plant Science, ٢٤٦, pp ١١٢.

٩٥. **Weitbrecht, K., Müller, K. and Leubner-Metzger, G. (٢٠١١).** "First off the mark: early seed germination" J. Exp. Bot., ٦٢, pp ٣٢٨٩.

٩٦. **Wilson, D.O. and McDonald, M.B. (١٩٨٦).** "The lipid peroxidation model of seed aging" Seed Sci. and Technol., ١٤, pp ٢٦٩.

٩٧. **Wu, X., Ning, F., Hu, X. and Wang, W. (٢٠١٧).** "Genetic modification for improving seed vigor is transitioning from model plants to crop plants". Frontiers in plant sci. ٨: ٨.

٩٨. **Yao, Z., Liu, L.W., Gao, F., Rampitsch, C., Reinecke, D.M and Ozga, J.A. (٢٠١٢).** "Developmental and seed aging mediated regulation of antioxidant genes and differential expansion of proteins during pre- and post-germinative phases in pea" J. of plant physiol., ١٦٩, ١٤٧٧-١٤٨٨.

٩٩. **Ye, S.F., Zhou, Y.H., Sun, Y., Zou, L.Y. and Yu, J.Q. (٢٠٠٦).** "Cinnamic acid causes oxidative stress in cucumber roots and promotes incidence of Fosarium wilt "E.E.B., ٥٦, ٢٥٥-٢٦٢.

١٠٠. **Zhou, W., Chen, F., Zhao, S., Yang, C., Meng, Y., Shuai, H. and Luo, X. (٢٠١٩).** "DA-٦ promotes germination and seedling stablishment from aged soybeen seeds by mediating fatty acid metabolism and glycometabolism" J. of Experi. Bot., ٧٠: ١٠١-١١٤.

Abstract

Seed deterioration involves loss of quality, viability and irreversible seed vigor loses over time, which is considered to be a major cause of the decline in quality and quantity of production in agriculture. A wide range of secondary metabolites such as vitamins, growth regulators and antioxidant compounds are used to reduce the deleterious effects of a variety of environmental stresses such as seed deterioration as seed pre-treatment or foliar application.We evaluated the possible antioxidant impact of trans-cinnamic acid, one of the basic secondary metabolites from the phenylpropanoid pathway as seed pretreatment and foliar application to both unaged and aged cowpea seeds. The study was conducted in both laboratory and field. Laboratory study was performed at Seed Lab of Plant Physiology, University of Wegeningen, The Netherlands as a factorial experiment based on a completely randomized design with four replications. Treatments included seed priming at two levels (unaged and aged seeds) as the first factor and pre-treatment of seed with cinnamic acid at five levels (٠, ١٥, ٣٠, ٤٥ and ٦٠ µM) as the second factor. The field experiment was conducted during ٢٠١٥ and ٢٠١٦ as a factorial experiment based on a randomized complete block design with three replications in the laboratory and research farm of Shahroud University of Technology, College of Agriculture, on the cowpea (Bastam local cultivar). The first factor consisted of seed priming at two levels (unaged and aged seeds), the second factor included seed pretreatment with cinnamic acid concentrations at three levels (٠, ٣٠ and ٦٠ µM), and the third factor consisted of foliar application of three cinnamic acid concentrations (٠, ٣٠ and ٦٠ µM). Seed deterioration resulted in a decrease in germination-related traits, heterophytic growth, and the amount of seed reserves mobilization compared to unaged seeds. The activity of antioxidant enzymes including superoxide dismutase, catalase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase was also lower in comparison to unaged seeds. Seed aging significantly increased malondialdehyde content. Pretreatment of aged seeds with concentrations of cinnamic acid, ٤٥ and ٦٠ µM, improved all traits related to germination, amount and efficiency reserves mobility and increased activity of superoxide dismutase and catalase. Also, in contrast to the aged seeds, this treatment decreased the activity of antioxidant enzymes and only concentration of ٤٥ µM increased peroxidase activity. Cinnamic acid significantly reduced malondialdehyde in aged seeds. Seed aging in plants from aged seeds decreased plant height, number of branches, number of pods per plant, ١٠٠٠- seed weight, seed yield, leaf relative water content, plasma membrane stability index, and superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase activity decreased. But they had higher anthocyanin content, flavonoid and catalase activity. Pretreatment of aged seeds with a concentration of ٣٠ µM cinnamic acid resulted in a ١٢٪ increase in final yield. Foliar application of cinnamic acid in plants grown from aged seeds with a concentration of ٦٠ µM also increased yield by ٢١٪ compared to non-foliar application. But in plants from unaged seeds, foliar application of ٣٠ µM increased the yield by ٢٦,٥٪ compared to non-foliar application. Pretreatment of unaged seeds with different concentrations of cinnamic acid decreased leaf relative water content, membrane integrity index, soluble sugar content, antioxidant enzymes activity except ascorbate peroxidase

and increased lipid peroxidation. But concentration of ٦٠ µM improved anthocyanin, flavonoid and free amino acids content. In plants grown from aged seeds, pretreatment and foliar application with concentrations of cinnamic acid (except for the effect of foliar application on anthocyanin content and membrane integrity index) improved physiological traits. Antioxidant enzymes in plants from aged seeds showed different responses to pre-treatment and foliar application of cinnamic acid. pre-treatment and foliar application of this metabolite resulted in increased superoxide dismutase activity. These treatments decreased the activity of ascorbate peroxidase.
Key words: Antioxidant enzyme, Free radicals, Germination, Seed enhancement, Seed deterioration, Yield

Shahrood University of Technology

Faculty of Agriculture

Ph.D. Thesis in Crop Physiology

The effect of foliar application and seed pretreatment with cinnamic acid on physiological characteristics of Cowpea (*Vigna unguiculata*) aged seeds and resulting plants

By: Maryam Akbari

Supervisors:

Dr. Mehdi Baradaran Firouzabadi

Advisors:

Dr . **Mohammad reza Amerian**

Dr .**Naser Farrokhi**

September ۲۰۱۹