تأثیر جیبرلیک و سالیسیلیک اسید بر شاخص‌های جوانه‌زنی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بذر انیسون تحت تأثیر دگرآسیبی چهار گونه علف هرز

زهرا عجریب‌زاده، حمیدرضا بلوچی*، علیرضا یدوی و امین صالحی

یاسوج، دانشگاه یاسوج، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت و اصلاح نباتات

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۵/۶/۱۵

چکیده

بمنظور بررسی تأثیر هورمون‌های جیبرلیک و سالیسیلیک اسید بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاه دارویی انیسون تحت تأثیر عصاره‌آبی چهار گونه علف‌هرز ازمک (*Cardaria draba*)، آلاله‌وحشی (*Ranunculus arvensis*)، کاهو وحشی (*Lactuca virosa*)، و بی‌تیراخ (*Galium aparine*) با غلظت ۲۵ گرم در لیتر آزمایشی بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی و با چهار تکرار در سال ۱۳۹۴ در آزمایشگاه علوم بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج اجرا گردید. در این آزمایش پرایمینگ با جیبرلیک اسید در دو سطح ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۱۵ ساعت در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد و سالیسیلیک اسید در دو سطح ۰/۳ و ۰/۶ میلی‌مولار به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد مورد استفاده قرار گرفت. نتایج این آزمایش نشان داد که سالیسیلیک اسید ۰/۳ و ۰/۶ میلی‌مولار نسبت به پرایم با ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک اسید و شاهد، برخی صفات همچون درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و شاخص بنیه گیاهچه انیسون را در سطوح دگرآسیبی عصاره آبی ازمک، کاهو وحشی، بی‌تیراخ و شرایط بدون دگرآسیبی، کاهش داده است، در حالی که تیمار جیبرلین با شاهد اختلاف معنی‌داری نداشتند. در عصاره آبی آلاله وحشی پرایمینگ مانع از جوانه‌زنی گردید. همچنین در بین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مورد بررسی، کاتالاز نسبت به پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز بیشترین نقش را در مقابله با اثرات تنش اکسیداتیو ناشی از دگرآسیبی عصاره آبی ازمک، کاهو وحشی و بی‌تیراخ بر بذر انیسون نشان داد.

واژه های کلیدی: آلاله وحشی، آللوپاتی، بی‌تیراخ، درصد جوانه‌زنی، کاتالاز

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۷۱۸۹۲۰۴۰ ، پست الکترونیکی: balouchi@yu.ac.ir

مقدمه

گیاهان دارویی یکی از منابع بسیار ارزشمند در گستره وسیع منابع طبیعی ایران است، که در صورت شناخت علمی، کشت، توسعه و بهره برداری صحیح، می‌توانند نقش مهمی در سلامت جامعه، اشتغال‌زایی و افزایش صادرات غیر نفتی ایفا نمایند. تقریبا بیش از ۸۰ درصد گیاهان دارویی مهم و قابل مصرف دنیا در اکثر نقاط ایران کشت می‌شود. لذا می‌توان گفت که سرمایه‌گذاری روی گیاهان دارویی برای کشور سودآوری کلانی می‌تواند داشته باشد (۱۳). انیسون از جمله گیاهان دارویی مهم بشمار می‌آید که نقش مهمی در صادرات گیاهان دارویی داشته است. این گیاه از تیره چتریان بوده که از جمله مهمترین تیره‌های گیاهی محسوب می‌شوند و شامل ۱۵۰ جنس و ۳۰۰۰ گونه گیاهی می‌باشند (۳). طبق گزارش سازمان خوار و بار جهانی (فائو) انیسون جزء چهار رقم اصلی صادرات گیاهان دارویی ایران می‌باشد، لذا توجه به جنبه‌های تولید این گیاه بمنظور تأمین نیازهای داخلی و خارجی ضروری است.

بسیاری از مواقع اثرات منفی یک گیاه روی گیاهان مجاور آنقدر زیاد است که بنظر نمی‌رسد تنها ناشی از رقابت برای دستیابی به یک منبع غذایی و یا یک عامل محیطی باشد. عامل بوجود آورنده این حالت، ترکیبات بازدارنده‌ای است که بطور مستقیم از اندام‌های مختلف گیاهان ترشح شده و یا در طی فرآیند تجزیه بقایای گیاهی به محیط اطراف افزوده می‌گردند، این پدیده تحت عنوان دگرآسیبی نامیده می‌شود (۱۴). این مواد دگرآسیب که برخی از عصاره آبی علف‌های‌هرز به‌دست می‌آید، باعث مداخله منفی در زندگی گیاه شده و می‌تواند فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مختلفی مانند رشد و جوانه‌زنی، تقسیم و رشد طولی سلول، رشد القا شده توسط اکسین یا جیبرلین، تنفس و فتوسنتز، روزنه‌های برگ، سنتز پروتئین، تغییرات تراوایی غشا، فعالیت آنزیم‌ها و تعدیل انتقال فعال را تحت تأثیر قرار دهد (۲۷).

پیش تیمار بذر بعنوان یک راهکار جهت افزایش استقرار گیاهچه به ویژه در شرایط نامطلوب مطرح است. پرایمینگ بنا به تعریف، به تیمار بذر قبل از کاشت اطلاق می‌شود که بوسیله آن بذر مرحله اول جوانه‌زنی را طی می‌کند، ولی به دلیل پایین بودن میزان آب جذب شده از خروج ریشه‌چه ممانعت به عمل می‌آید. به عبارت دیگر در طی پرایمینگ، بذر از مرحله جوانه‌زنی تا شروع تقسیم سلولی تحریک می‌شود و پس از خشک شدن و آبگیری مجدد از همان نقطه‌ای که خشک شده بود، شروع به فعالیت می‌کند (۶). پرایمینگ بذر با غلظت‌های بهینه هورمون‌های رشد گیاهی به طور مؤثری موجب افزایش قابل توجه در جوانه‌زنی، رشد و عملکرد محصول در گونه‌های مختلف گیاهان زراعی در هر دو شرایط تنش و بدون تنش می‌شود (۲۶). در بذوری همچون انیسون، پرایمینگ باعث افزایش سرعت و میزان جوانه‌زنی بذرهای حساس و کم بنیه شده است (۳). گزارش‌هایی در خصوص استفاده از محرک‌های شیمیایی بر بهبود جوانه‌زنی و رشد در شرایط تنش با ترکیبات دگرآسیبی ناشی از آویشن کوهی وجود دارد (۳۲). همچنین صابری و همکاران (۹) نشان دادند که کاربرد جیبرلیک‌اسید بطور معنی‌داری جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های فستوکای پابلند (*Festuca arundinacea*) را در شرایط غیر تنش و تنش با ترکیبات دگرآسیب اکالیپتوس افزایش داد. یکی از دلایل اثر مثبت این محرک شیمیایی بر گیاه فستوکای پابلند احتمالا مربوط به تعادل رسیدن نسبت هورمونی در بذر و کاهش مواد بازدارنده رشد مانند آبسیزیک‌اسید است. جیبرلین‌ها سنتز آنزیم‌های هیدرولیتیکی که در لایه آلورون قرار داشته را افزایش می‌دهند، سپس آنزیم‌های سنتز شده به آندوسپرم انتقال می‌یابند و در نتیجه منجر به تجزیه ذخیره‌ای غذایی و تأمین انرژی لازم جهت جوانه‌زنی و رشد می‌شوند (۱۸). همچنین در این زمینه زنگ و همکاران (۳۶) اثراتی از جیبرلین در غلبه بر دگرآسیبی بالقوه از ده گونه گیاهی بر جوانه‌زنی بذر یک گیاه دارویی گل سپاس (*Gentiana rigescens*) را مورد بررسی قرار دادند و مشاهده کردند که جیبرلین اثر قابل توجهی بر رفع موانع برخی از گیاهان داشت. در تیمار با عصاره‌های حاصل از برگ چای و به ژاپنی (*Chaenomeles*)، استفاده از پیش‌تیمار جیبرلین جوانه‌زنی بذر گل سپاس را بترتیب از ۱۰ به ۶۲٪ و ۲/۵ به ۵۰/۵٪ افزایش داد. لذا نتایج نشان می‌دهد پیش تیمار با جیبرلین می‌تواند جهت ارتقاء جوانه‌زنی بذر‌های گل سپاس در حضور عصاره حاصل از درختچه به ژاپنی در یک سیستم جنگل زراعی مؤثر باشد.

با توجه به اهمیت و کشت گیاه دارویی انیسون در استان کهگیلویه و بویر احمد و همچنین وجود علف‌های هرز مورد مطالعه در مزارع کشت انیسون در این منطقه هدف از این پژوهش بررسی سطوح مختلف جیبرلیک‌اسید و سالیسیلیک‌اسید بر بهبود صفات جوانه‌زنی گیاه دارویی انیسون در برابر اثرات دگرآسیبی عصاره آبی علف‌های هرز ازمک، آلاله‌وحشی، کاهووحشی و بی‌تیراخ می‌باشد.

مواد و روشها

پژوهش حاضر بمنظور بررسی سطوح مختلف جیبرلیک اسید و سالیسیلیک اسید در برابر اثرات بازدارنده عصاره آبی حاصل از علف‌های‌هرز ازمک، آلاله‌وحشی، کاهووحشی و بی‌تیراخ بر جوانه‌زنی و مراحل اولیه رشد گیاه دارویی انیسون، در سال ۱۳۹۴ در آزمایشگاه علوم بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج انجام شد. آزمایش بصورت فاکتوریل دو عاملی در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار انجام گرفت. فاکتور اول شامل عصاره آبی ۴ گونه علف‌هرز: ازمک (*Cardaria draba*) از خانواده *Brassicaceae*، آلاله وحشی (*Ranunculus arvensis*) از خانواده *Ranunculaceae*، کاهو وحشی (*Lactuca virosa*) از خانواده *Asteraceae* و بی‌تیراخ (*Galium aparine*) از خانواده *Rubiaceae*، با غلظت ۲۵ گرم در لیتر به همراه آب مقطر به عنوان شاهد بدون عصاره علف‌هرز می‌باشد. فاکتور دوم پرایمینگ شامل: بذور پرایم نشده و پرایمینگ بذور با استفاده از هورمون جیبرلیک‌اسید در دو سطح ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۱۵ ساعت و در دمای ۱۵ درجه‌سانتی‌گراد (۵) و سالیسیلیک‌اسید در دو سطح ۰/۳ و ۰/۶ میلی‌مولار به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه‌سانتی‌گراد (۲۵) می‌باشد. بوته‌های علف‌های‌هرز از چندین منطقه در یاسوج جمع-آوری و شستشو شد. سپس در دمای اتاق (۲۰ درجه‌سانتی‌گراد) خشک و به صورت جداگانه آسیاب و پودر حاصل از الکی با منافذی به قطر ۱ میلی‌متر (۲۰مش) عبورداده شد. جهت تهیه محلول آبی ۲۵ گرم از پودر هر یک از علف‌های‌هرز، بصورت جداگانه به ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و به مدت ۲۴ ساعت در داخل تکان دهنده با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه قرار داده شد (۲). سپس عصاره را از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده و برای خالص‌سازی عصاره‌ها، نمونه‌های بدست آمده به مدت ۳۰ دقیقه و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. محلول‌ها تا زمان استفاده در شیشه تاریک و در دمای یخچال (۴ درجه‌سانتی‌گراد) نگهداری شدند. ابتدا کلیه ظروف تهیه محلول، پتری‌ها و بذور انیسون بوسیله محلول ۵ درصد هیپوکلریت سدیم به مدت ۵ دقیقه ضدعفونی و سپس بوسیله آب مقطر ۵ بار شسته شد. قبل از آزمایش اصلی قوه نامیه بذور انیسون با روش تترازولیوم اندازه‌گیری و از زنده بودن بذرها اطمینان حاصل شد، سپس بذرها در غلظت‌ها و مدت زمان ذکر شده (پرایم) قرار داده شدند و سپس در دمای اتاق به مدت ۴۸ ساعت خشک شده و بصورت گروه‌های ۵۰ بذری درون پتری‌دیش بر روی کاغذ صافی قرار گرفتند و عصاره آبی به مقدار ۴ میلی‌لیتر به آن‌ها اضافه شد. پس از آن پتری‌ها در ژرمیناتور با دمای ۳۰ درجه‌سانتی‌گراد روز و ۲۰ درجه درجه‌سانتی‌گراد شب و دوره روشنایی/تاریکی به نسبت مساوی (۱۲ ساعته) به مدت ۱۷ روز قرار گرفتند (۱۱)، در آخرین روز شمارش از بذرهای جوانه‌زده در هر پتری-دیش، ۸ نمونه بطور تصادفی انتخاب و بعد از تفکیک ریشه‌چه و ساقه‌چه، طول آنها با خط‌کش مدرج میلی‌متری اندازه‌گیری شد. سپس وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه پس از خشک شدن در آون با دمای ۷۵ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت با ترازوی حساس با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم اندازه گیری شد.

درصد و سرعت جوانه‌زنی به روش زیر محاسبه گردید (۲۸):

$$\text{سرعت جوانه‌زنی} = \sum \frac{n_i}{d_i}$$

ni تعداد بذرهای جوانه‌زده در شمارش iام، di روز جوانه‌زده در شمارش iام است.

درصد بذرهای جوانه‌زده از تقسیم کردن تعداد بذرهای جوانه‌زده بر کل بذرهای هر پتری‌دیش محاسبه گردید (۷). همچنین شاخص بنیه گیاهچه طبق فرمول‌های زیر محاسبه شدند (۳):

[۱۰۰/(درصد جوانه‌زنی) × (mm) طول ریشه‌چه + (mm) طول ساقه‌چه)] = شاخص طولی بنیه گیاهچه

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کاتالاز (۱۷)، پراکسیداز (۳۱) و پلی‌فنل‌اکسیداز (۱۹)، بعد از آبنوشی بذر (به مدت ۷۲ ساعت) و قبل از جوانه‌زنی اندازه گرفته شد.

استخراج و اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز: برای استخراج و اندازه گیری آنزیم کاتالاز از روش ابی (۱۷) استفاده شد. برای تهیه عصاره آنزیمی ۰/۱ گرم بذر انیسون با ۱/۵ میلی‌لیتر بافر استخراج شامل فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار با اسیدیته برابر ۷/۸، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار و پلی وینیل پیرولیدون ۰/۱ مولار در هاون چینی درون ظرف یخ ساییده و همگن گردید. پس از آن محلول هموژن از دو لایه پارچه ململ عبور داده شد و عصاره حاصل در میکروتیوپ ریخته شد. میکروتیوپ‌های حاوی عصاره آنزیمی در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه در سانترفیوژ یخچال‌دار مدل HERMLE. Z200A-Germany سانترفیوژ شدند. پس از سانترفیوژ، از فاز میانی در زیر لایه لیپیدی برای اندازه گیری فعالیت آنزیم استفاده شد. سپس ۲/۸ میلی‌لیتر بافر فسفات دی‌سدیک (۵۰ میلی مولار) با اسیدیته برابر ۷، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی و ۱۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه (۳۰ میلی‌مولار) ترکیب و برای اندازه‌گیری استفاده شد، سپس در طول موج ۲۴۰ نانومتر میزان کاهش جذب را در مدت ۶۰ ثانیه توسط اسپکتروفتومتر قرائت گردید. با توجه به ضریب خاموشی ۰/۰۳۹۴ بر میلی مول بر سانتی‌متر برای کاتالاز مقدار فعالیت آنزیم با واحد میلی-مول بر گرم وزن‌تر بذر در دقیقه گزارش گردید.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز: اندازه‌گیری آنزیم پراکسیداز با روش کار و میشرا (۲۳) با اندکی تغییرات انجام شد. مخلوط واکنش حاوی ۲۰۰ میکرولیتر پیروگالول (۱۰ میلی‌مولار)، ۲۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۲۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه (۴۰ میلی‌مولار) و ۲/۷۵۰ میلی‌لیتر بافر فسفات مونوسدیک (۲۵ میلی مولار) با اسیدیته برابر ۶/۸ می‌باشد. فعالیت آنزیم پراکسیداز در طول موج ۴۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد و با توجه به ضریب خاموشی $۲/۴۷\ mM^{-1}\ cm^{-1}$ برحسب میلی‌مول بر گرم وزن‌تر بذر در دقیقه گزارش گردید (۱۰).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز: برای اندازه-گیری آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز مخلوط واکنش شامل ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی، ۵۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۳۰ میلی‌مولار و ۵۰۰ میکرولیتر متیل‌کاتکول ۰/۰۲ مولار در ۱/۹ میلی‌لیتر بافر فسفات‌پتاسیم ۶۰ میلی‌مولار با اسیدیته برابر ۶/۱ می‌باشد. افزایش فعالیت آنزیم بر اساس شدت رنگ نارنجی متیل‌کاتکول تولید شده و در طول موج ۴۱۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد (۱۹). فعالیت آنزیمی به ازای تغییرات جذب به گرم وزن‌تر بذر در دقیقه بیان گردید.

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS صورت پذیرفت و برای صفاتی که اثر متقابل آن‌ها معنی‌دار گردید، برش‌دهی انجام و مقایسه میانگین‌های اثرات اصلی با آزمون LSD و اثرات متقابل با آزمون L.S. Means در سطح احتمال پنج درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر پرایمینگ و عصاره آبی علف‌های هرز و برهمکنش بین آن‌ها در ارتباط با همه صفات مورد بررسی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱). با توجه به معنی‌دار شدن برهمکنش صفات، برش‌دهی برای سطوح مختلف پرایمینگ در عصاره آبی علف‌های هرز مختلف انجام شد (جدول ۲) و برای تعیین بیشترین اثر پرایمینگ مقایسه میانگین صفات در هر سطح عصاره آبی علف‌های هرز بین انواع پرایمینگ صورت گرفت.

درصد و سرعت جوانه‌زنی: با توجه به جدول برش‌دهی (جدول ۲)، بین سطوح مختلف پرایمینگ، در عصاره آبی

کاهو وحشی اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد، و در عصاره آبی ازمک، آلاله‌وحشی، بی‌تیراخ و در شرایط بدون اعمال عصاره، اختلاف معنی‌داری از نظر درصد و سرعت جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد مشاهده شد.

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر پرایمینگ بر شاخص‌های جوانه‌زنی انیسون تحت تأثیر دگرآسیبی عصاره آبی ۴ نوع علف‌هرز

منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	طول ریشه‌چه	طول ساقه‌چه	وزن خشک ریشه‌چه	وزن خشک ساقه‌چه	شاخص بنیه گیاه‌چه
پرایمینگ	۴	۴۰/۳۸**	۱/۳۴**	۵/۳۹**	۱۵/۶۵**	۲/۷۷**	۱۶/۶۰**	۱۹/۴۰**
نوع عصاره	۴	۱۳۰/۴۴**	۵/۴۵**	۳۳/۵۶**	۴۸/۹۰**	۸/۲۵**	۲۸/۸۸**	۶۲/۴۹**
پرایمینگ× نوع عصاره	۱۶	۵/۷۵**	۰/۱۹**	۲/۵۲**	۴/۴۶**	۰/۸۵**	۲/۳۳**	۲/۸۴**
خطا	۷۵	۱/۲۶	۰/۰۴	۰/۴۸	۰/۶۷	۰/۱۲	۰/۱۶	۰/۶۶

** معنی‌دار در سطح ۱٪ را نشان می‌دهند.

جدول ۲- تجزیه واریانس برش‌دهی اثر پرایمینگ بر جوانه‌زنی انیسون تحت تأثیر عصاره آبی انواع علف‌های هرز

نوع عصاره	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	طول ریشه‌چه	طول ساقه‌چه	وزن خشک ریشه‌چه	وزن خشک ساقه‌چه	شاخص بنیه گیاه‌چه
آلاله‌وحشی	۴	۱۲/۸۹**	۰/۲۳**	۳/۶۹**	۱۳/۰۷**	۱/۲۰**	۱/۱۶**	۲/۶۸**
ازمک	۴	۳۰/۴۵**	۰/۸۸**	۴/۹۳**	۱۱/۳۱**	۱/۹۹**	۹/۷۶**	۷/۹۶**
کاهووحشی	۴	۴/۱۵*	۰/۱۱*	۰/۷۳ns	۴/۸۷**	۱/۵۸**	۲/۶۳**	۲/۶۱**
بی‌تیراخ	۴	۸/۱۱**	۰/۲۷**	۰/۸۰ns	۰/۸۴ns	۰/۷۳**	۵/۵۸**	۲/۷۷**
بدون عصاره	۴	۷/۷۷**	۰/۶۴**	۵/۳۱**	۳/۴۰**	۰/۶۹**	۶/۷۸**	۱۴/۷۳**

ns ، * و ** به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ را نشان می‌دهند.

با توجه به جدول مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۳) می‌توان ذکر نمود که در عصاره آبی آلاله‌وحشی، بیشترین درصد و سرعت جوانه‌زنی در بذور پرایم نشده، مشاهد شد و ما بین سطوح مختلف پرایمینگ اختلاف معنی‌دار نبود و جوانه‌زنی مشاهده نگردید. در عصاره آبی ازمک، کاهو وحشی و در شرایط بدون اعمال عصاره آبی علفهای-هرز، بیشترین درصد جوانه‌زنی در بذور پرایم نشده مشاهده گردید، که با دو سطح جیبرلیک‌اسید ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری نشان نداد. اما در عصاره آبی ازمک بیشترین سرعت جوانه‌نی بذور انیسون در پرایم با ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک‌اسید مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با بذور پرایم نشده و ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک‌اسید نداشت. در عصاره آبی کاهو وحشی، بذور پرایم نشده بیشترین سرعت جوانه‌زنی را دارا بوده‌اند و با دو سطح جیبرلیک‌اسید ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری نداشته است. در شرایط بدون اعمال عصاره آبی علفهای‌هرز، بیشترین سرعت جوانه‌زنی بذور انیسون در پرایم با جیبرلیک‌اسید ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر با میزان ۴/۱۵ بذر در روز مشاهده گردیدکه با جیبرلیک‌اسید ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر تفاوت معنی‌داری نشان نداد. در عصاره آبی بی‌تیراخ، بیشترین تأثیر بر درصد و سرعت جوانه‌زنی در پرایم با ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک‌اسید مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با بذور پرایم نشده نداشته است.

نتایج این آزمایش نشان داد که سالیسیلیک اسید ۰/۳ و ۰/۶

میلی‌مولار نسبت به پرایم با ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک اسید و شاهد، منجر به کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی گیاهچه انیسون را در سطوح دگرآسیبی عصاره آبی ازمک، کاهو وحشی، بی‌تیراخ و شرایط بدون دگرآسیبی گردید.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر پرایمینگ بر درصد و سرعت (بذر در روز) جوانه‌زنی انیسون تحت تأثیر انواع عصاره آبی علف‌های هرز

سطوح مختلف پرایمینگ	نوع عصاره آبی									
	آلاله وحشی		ازمک		کاهو وحشی		بی‌تیراخ		بدون اعمال عصاره	
	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی
GA (۲۰۰mg/l)	۰ b	۰ b	۴۲ a	۱/۳۴ a	۲۸ ab	۰/۸۴ ab	۵۳ a	۱/۶۴ a	۷۲ a	۴/۱۵ a
GA (۴۰۰mg/l)	۰ b	۰ b	۲۸ ab	۰/۷۸ ab	۲۶ ab	۰/۸۲ abc	۳۴ bc	۰/۸۸ bc	۸۰ a	۳/۲۷ ab
SA (۰/۳ mM)	۰ b	۰ b	۱۴ bc	۰/۳۸ bc	۱۳ b	۰/۳۴ c	۱۶ d	۰/۴۱ d	۳۳ c	۱/۰۸ c
SA (۰/۶ mM)	۰ b	۰ b	۰ c	۰ c	۱۸ b	۰/۵۰ bc	۱۹ cd	۰/۵۲ cd	۵۲ b	۱/۶۷ c
بدون پرایم	۱۷ a	۰/۳۰ a	۵۱ a	۱/۳۱ a	۴۰ a	۱/۰۶ a	۴۶ ab	۱/۲۲ ab	۸۰ a	۲/۹۵ b

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشابه هستند فاقد تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون L.S.Means در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

ویسنت و پلاسنشا (۳۳) و جادهاو و بهام بردیکر (۲۱) بیان نمودند که ممکن است پیش‌تیمارسازی بذور منجر به تغییر نسبت هورمونی و افزایش در تولید هورمون بازدارنده رشد ABA می‌شود. کشاورز و همکاران (۱۲) بیان نمودند که کاهش در جوانه‌زنی در اثر پیش تیمارسازی بذور با سالیسیلیک اسید ممکن است در اثر تولید بیش از اندازه NADPH که یک احیا کننده ضعیف می‌باشد صورت بگیرد، زیرا وقتی گیاه تحت تنش باشد قادر به استفاده کامل از این ماده نخواهد بود و تجمع این ماده منجر به آسیب زدن به سایر اندام‌ها می‌شود. همچنین این احتمال وجود دارد که کاهش مشاهده شده در شاخص‌های جوانه‌زنی ناشی از مهار بیوسنتز اتیلن باشد، زیرا مشخص شده است که سالیسیلیک اسید نقش مهارکنندگی در بیوسنتز اتیلن دارد و این اثر را از طریق تأثیر بر آنزیم ACC سنتتاز اعمال می‌نماید (۱۵ و ۳۵).

اما جیبرلیک‌اسید در موقع جوانه‌زنی باعث القای آنزیم آلفا-آمیلاز می‌گردد که این خود منجر به هیدرولیز نشاسته به قند می‌شود و برای فراهم نمودن انرژی مورد نیاز برای عمل جوانه‌زنی لازم است (۳۴). در نتیجه‌ی ایجاد این تغییرات، آنزیم‌های سنتز شده به آندوسپرم انتقال یافته و سبب تجزیه غذای ذخیره‌ای و تأمین انرژی لازم برای جوانه‌زنی و رشد می‌شوند (۱۸). در پژوهشی صابری (۸) نشان داد که کاربرد پیش‌تیمار بذر با جیبرلیک اسید و نیترات پتاسیم بطور معنی‌داری رشد اولیه گیاهچه‌های علف پشمکی (*Bromus inermis*) را در شرایط تنش و غیر تنش با ترکیبات آللوپاتیک *Thymus kotschyanus* افزایش داد که ممکن است در اثر به تعادل رسیدن نسبت هورمونی در بذر و کاهش مواد بازدارنده رشد مانند آبسیزیک باشد. در پژوهش حاضر تفاوت در واکنش بذور انیسون تحت عصاره آبی علف‌های هرز نسبت به سطوح مختلف پرایمینگ، ممکن است به ماهیت متفاوت مواد دگرآسیب موجود در عصاره آبی علف‌های‌هرز مختلف و یا به حساسیت بذر انیسون در طی مراحل مختلف پرایمینگ بذر اشاره داشته باشد.

طول ریشه‌چه و ساقه‌چه: با توجه به جدول برش‌دهی (جدول ۲)، در شرایط بدون اعمال عصاره و در عصاره آبی آلاله‌وحشی و ازمک بین سطوح مختلف پرایمینگ اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد وجود داشته است.

مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۴) نشان داد که در عصاره آبی آلاله‌وحشی، بذور پرایم نشده بیشترین طول ریشه‌چه را دارا بوده‌اند و اختلاف معنی‌داری بین سطوح مختلف پرایمینگ وجود نداشت و جوانه‌زنی در آنها مشاهده نگردید. در عصاره آبی علف‌هرز ازمک، بذور پرایم نشده بیشترین طول ریشه‌چه را دارا بوده‌اند، که اختلاف معنی‌داری با ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک‌اسید و ۰/۳ میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید نداشته است. در شرایط بدون اعمال عصاره، بیشترین طول ریشه‌چه در پرایم با جیبرلیک‌اسید ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر با میزان ۳۳/۱۵ (میلی-متر) مشاهده شد، که با جیبرلیک‌اسید ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر و بذور پرایم نشده اختلاف معنی‌داری نشان نداد.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر پرایمینگ برای طول ریشه‌چه و ساقه‌چه (میلی‌متر) انیسون تحت تأثیر انواع عصاره آبی علف‌های هرز

سطوح مختلف پرایمینگ	نوع عصاره آبی											
	آلاله وحشی		ازمک		کاهو وحشی		بی‌تیراخ		بدون اعمال عصاره			
	طول ریشه‌چه	طول ساقه‌چه	طول ریشه‌چه	طول ساقه‌چه	طول ریشه‌چه	طول ساقه‌چه	طول ریشه‌چه	طول ساقه‌چه	طول ریشه‌چه	طول ساقه‌چه		
GA (۲۰۰mg/l)	۰ b	۰ b	۶/۳۵ a	۱۵/۵۵ a	۴/۴۰ a	۱۵/۱۵ a	۳/۹۱ a	۱۴/۶۰ a	۱۹/۶۰ ab	۳۲/۲۰ ab		
GA (۴۰۰mg/l)	۰ b	۰ b	۵/۴۷ a	۱۵/۵۲ a	۳/۶۷ a	۳/۲۳ b	۵/۸۰ a	۱۸/۴۵ a	۳۳/۱۵ a	۳۴/۸۰ a		
SA (۰/۳ mM)	۰ b	۰ b	۵/۳۷ a	۹/۱۰ ab	۸/۲۰ a	۱۳/۹۰ a	۵/۰۰ a	۱۵/۰۰ a	۶/۹۵ b	۱۳/۴۵ d		
SA (۰/۶ mM)	۰ b	۰ b	۰ b	۰ b	۴/۵۵ a	۴/۶۵ b	۷/۸۵ a	۱۶/۹۰ a	۱۰/۰۰ b	۱۹/۳۵ c		
بدون پرایم	۴/۶۵ a	۱۶/۳۵ a	۷/۸۰ a	۱۸/۱۰ a	۵/۵۵ a	۲۰/۰۰ a	۹/۸۰ a	۲۳/۵۵ a	۲۲/۴۵ ab	۲۶/۷۰ b		

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشابه هستند فاقد تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون L.S.Means در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند

همچنین بین انواع پرایمینگ، در تمامی عصاره آبی علف-های هرز به جز عصاره آبی بی‌تیراخ اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد برای صفت طول ساقه‌چه مشاهده گردید (جدول۲). جدول مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۴) نشان داد که در عصاره آبی آلاله‌وحشی، بیشترین طول ساقه‌چه در بذور پرایم نشده با میزان ۱۶/۳۵ (میلی‌متر) مشاهده شده است، در حالی که بین سطوح مختلف پرایمینگ اعمال شده اختلاف معنی‌داری وجود نداشته است. در عصاره آبی ازمک، بذور پرایم نشده بیشترین صفت مذکور را دارا بوده‌اند، و با جیبرلیک‌اسید ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر و سالیسلیک‌اسید ۰/۳ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری نداشته‌اند. در عصاره آبی کاهووحشی، بیشترین تأثیر گذاری بر طول ساقه‌چه در بذور پرایم نشده مشاهده گردید، که با جیبرلیک‌اسید ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر و سالیسیلیک‌اسید ۰/۳ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری نداشته است. در شرایط بدون اعمال عصاره، بیشترین صفت مذکور در پرایم با جیبرلیک‌اسید ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر با میزان ۳۴/۸۰ (میلی‌متر) مشاهده گردید، که با جیبرلیک‌اسید ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری نداشته است. پرایم با جیبرلیک‌اسید ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به تیمارهای دیگر (بجز جیبرلیک‌اسید ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر) منجر به بهبود بیشتر این صفت شده است. جیبرلین‌ها گروهی از هورمون‌های گیاهی هستند که باعث تحریک رشد بخش‌های هوایی گیاه بخصوص ساقه می‌شوند. این دسته از هورمون‌های گیاهی باعث فعال‌سازی آنزیم هیدرولیز کننده آلفاآمیلاز می‌گردند، افزایش فعالیت این آنزیم تحت تأثیر جیبرلین منجر به تجزیه مواد ذخیره‌ای توسط آلفاآمیلاز و انتقال آن به محور جنین و افزایش طول گیاهچه می‌شود (۱). همچنین تایز و زایگر (۴) بیان نمودند که جیبرلیک‌اسید از طریق تحریک تقسیم سلولی، طویل شدن سلولی و یا هر دو مکانیزم ذکر شده موجب رشد، بویژه در اندام‌های هوایی گیاهان مختلف می‌شود. لی و همکاران (۲۶) بیان کردند که جیبرلیک اسید طویل شدن مزوکوتیل، کلئوپتیل و گره‌های داخلی گیاهچه‌های برنج را

بعد از جوانه‌زنی تحریک کرده و احتمالا طویل شدن کلئوپتیل منجر به طویل شدن ساقه‌چه شده است.

نوجوان اصغری و پوراکبر (۱۶) نشان دادند که اسید سالیسیلیک در غلظت‌های ۴ میلی‌مولار جوانه‌زنی بذر تربچه را به صفر رسانده است و طول ریشه‌چه و فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز را کاهش و فعالیت آنزیم اکسین اکسیداز را افزایش داده است.

وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه: با توجه به جدول برش-دهی (جدول۲)، بین سطوح پرایمینگ، در تمامی عصاره آبی علف‌های هرز اختلاف معنی‌داری از نظر وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه در سطح احتمال ۱ درصد مشاهده گردید. با توجه به جدول مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۵)، می‌توان ذکر نمود که در عصاره آبی آلاله‌وحشی و در شرایط بدون اعمال عصاره، بیشترین وزن خشک ریشه‌چه متعلق به بذور پرایم نشده می‌باشد و در سطوح مختلف پرایمینگ جوانه‌زنی مشاهده نگردید. در عصاره آبی ازمک، بذور پرایم نشده بیشترین وزن خشک ریشه‌چه را داشته‌اند که با جیبرلیک‌اسید ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی-داری نداشته است. در عصاره آبی کاهو وحشی، بیشترین وزن خشک ریشه‌چه در جیبرلیک‌اسید ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شده است که با تیمارهای سالیسیلیک اسید و بدون پرایم تفاوت معنی دار نداشت. در عصاره آبی بی-تیراخ، بیشترین صفت مذکور در پرایم با جیبرلیک‌اسید ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر و بذور پرایم نشده، مشاهده گردید. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر پرایمینگ و عصاره آبی علف‌های هرز و برهمکنش بین آن‌ها بر وزن خشک ساقه‌چه بذور انیسون در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید (جدول۱).

جدول مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۵)، نشان داد که در تمامی عصاره آبی علف‌های هرز و در شرایط بدون اعمال عصاره، بیشترین وزن خشک ساقه‌چه انیسون در بذور پرایم نشده مشاهده شده است. احتمالا یکی از دلایل کاهش وزن خشک ساقه‌چه در اثر پرایمینگ وارد شدن آسیب به پوسته بذور، در نتیجه تحرک کم مواد غذایی و انتقال کمتر این مواد از لپه‌ها به محور جنینی باشد. بنابراین، عواملی که سرعت رشد محور جنینی را تحت تأثیر قرار می‌دهند، می‌توانند بر تحرک مواد غذایی و انتقال آن‌ها از لپه به محور جنینی نیز تأثیر بگذارند. بدین ترتیب بین میزان تجمع ماده خشک و رشد ساقه‌چه گیاهان متحمل به تنش‌های مختلف از جمله دگرآسیبی رابطه مستقیمی وجود دارد.

شاخص طولی بنیه گیاهچه: با توجه به جدول برش‌دهی (جدول ۲)، بین سطوح مختلف پرایمینگ، در همه عصاره آبی علف‌های هرز اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد از نظر شاخص طولی بنیه گیاهچه مشاهده گردید. جدول مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۶) نشان داد که در عصاره آبی آلاله‌وحشی، بذور پرایم نشده بیشترین میزان شاخص طولی بنیه گیاهچه را دارا بودند. در عصاره آبی ازمک و بی‌تیراخ، بیشترین شاخص بنیه را بذور پرایم نشده نشان دادند که اختلاف معنی‌داری با کاربرد ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک‌اسید نداشتند. در عصاره آبی کاهو وحشی، بذور پرایم نشده بیشترین بنیه طولی را دارا بود که با جیبرلیک‌اسید ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی‌دار نداشت.

در شرایط بدون اعمال عصاره، بیشترین صفت مذکور در پرایمینگ با جیبرلیک‌اسید ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد که با جیبرلیک‌اسید ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر و بذور پرایم نشده اختلاف معنی‌داری از نظر شاخص بنیه گیاهچه نداشته است. یکی دیگر از شاخص‌های تعیین کننده‌ی کیفیت بذر، شاخص وزنی بنیه گیاهچه می‌باشد که از طریق درصد جوانه‌زنی نهایی و وزن گیاهچه، روی کیفیت بذر مؤثر است. بذرهایی که دارای بنیه قوی‌تری باشند، توانایی بالایی در تحمل تنش‌های محیطی دارند و ضمن داشتن درصد بالایی از جوانه‌زنی، قادرند گیاهچه‌های

قوی‌تری تولید کنند.

جدول۵- مقایسه میانگین اثر پرایمینگ بر وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه انیسون تحت تأثیر انواع عصاره آبی علف‌های هرز

سطوح مختلف پرایمینگ	نوع عصاره آبی									
	آلاله وحشی		ازمک		کاهو وحشی		بی‌تیراخ		بدون اعمال عصاره	
	وزن خشک (میلی‌گرم)									
	ریشه‌چه	ساقه‌چه	ریشه‌چه	ساقه‌چه	ریشه‌چه	ساقه‌چه	ریشه‌چه	ساقه‌چه	ریشه‌چه	ساقه‌چه
GA (۲۰۰mg/l)	۰ b	۰ b	۱/۵۰ b	۱/۵۰ b	۲/۵۰ a	۲/۰۰ b	۳/۲۵ a	۸/۰۰ b	۴/۲۵ b	۱۸/۷۵ b
GA (۴۰۰mg/l)	۰ b	۰ b	۲/۵۰ ab	۴/۰۰ b	۰ b	۰ c	۰/۶۰ b	۲/۰۰ b	۴/۲۵ b	۱۶/۷۵ c
SA (۰/۳ mM)	۰ b	۰ b	۱/۵۰ b	۰/۵۰ b	۲/۰۰ a	۲/۵۰ b	۱/۵۰ b	۳/۰۰ b	۲/۷۵ b	۳/۰۰ e
SA (۰/۶ mM)	۰ b	۰ b	۰ c	۰ b	۲/۰۰ a	۱/۵۰ b	۱/۷۵ b	۱/۷۵ b	۴/۰۰ b	۶/۲۵ d
بدون پرایم	۱/۸۰ a	۱/۵۰ a	۳/۵۰ a	۱۷/۵۰ a	۲/۲۵ a	۵/۰۰ a	۳/۲۵ a	۱۷/۵۰ a	۷/۰۰ a	۲۲/۵ a

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشابه هستند فاقد تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون L.S.Means در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

جدول ۶- مقایسه میانگین اثر پرایمینگ بر شاخص طولی بنیه گیاهچه انیسون تحت تأثیر انواع عصاره آبی علف‌های هرز

سطوح مختلف پرایمینگ	نوع عصاره آبی				
	آلاله‌وحشی	ازمک	کاهووحشی	بی‌تیراخ	بدون اعمال عصاره
GA (۲۰۰mg/l)	۰ b	۹/۲۸ ab	۷/۳۹ a	۱۰/۸۶ ab	۳۸/۲۶ a
GA (۴۰۰mg/l)	۰ b	۸/۲۲ ab	۱/۸۴ b	۸/۶۶ abc	۵۴/۹۹ a
SA (۰/۳ mM)	۰ b	۲/۱۵ cb	۲/۸۴ b	۳/۱۶ c	۶/۸۱ b
SA (۰/۶ mM)	۰ b	۰ c	۱/۵۴ b	۴/۶۴ bc	۱۵/۳۴ b
بدون پرایم	۳/۵۳ a	۱۴/۰۱ a	۱۰/۲۴ a	۱۵/۶۹ a	۳۹/۰۲ a

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشابه هستند فاقد تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون L.S.Means در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

در واقع تولید سریع، یکنواخت و زیاد گیاهچه نشان دهنده بنیه بالای گیاه می‌باشد. استقرار یک توده بذر با بنیه کم می‌تواند در شرایط مختلف محیطی بسیار متفاوت عمل کند. این امر نشان دهنده اثر متقابل بین بذر و شرایط محیطی از جمله تنش اعمال شده به بذر می‌باشد (۲۴). در این تحقیق پرایمینگ با جیبرلیک اسید در شرایط بدون تنش دگرآسیبی عصاره آبی علف‌های‌هرز با افزایش درصد جوانه‌زنی و طول گیاه‌چه، بنیه گیاه‌چه را افزایش داد اما نتوانست منجر به بهبود این شاخص در شرایط تنش دگرآسیبی گردد و یا نسبت به شرایط بدون پرایم بهبود معنی‌داری را نشان نداد.

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۷) نشان داد که اثر پرایمینگ بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بذور انیسون و برهمکنش بین پرایمینگ و عصاره آبی علف‌های هرز، بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بذور انیسون در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شده است.

آنزیم کاتالاز: با توجه به جدول برش‌دهی (جدول ۸)، بین سطوح پرایمینگ در عصاره آبی آلاله‌وحشی و ازمک اختلاف معنی‌دار از نظر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز مشاهده نگردید ولی در عصاره آبی کاهو وحشی، بی‌تیراخ و در شرایط بدون اعمال عصاره آبی علف‌هرز اختلاف معنی‌دار از نظر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بذور در سطح احتمال پنج و یک درصد مشاهده شد.

جدول۷- تجزیه واریانس اثر پرایمینگ بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بذر انیسون تحت تأثیر عصاره آبی چهار نوع علف‌هرز

منابع تغییرات	درجه آزادی	کاتالاز	پراکسیداز	پلی‌فنل‌اکسیداز
پرایمینگ	۴	۲۱/۲۶**	۰/۰۷۲**	۰/۰۳۶**
نوع عصاره آبی	۴	۵/۰۴ ns	۰/۰۰۴ ns	۰/۰۱۳ns
پرایم× نوع عصاره	۱۶	۸/۰۲**	۰/۰۰۳ ns	۰/۰۰۷ ns
خطا	۵۰	۲/۹۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۶
درصد ضریب تغییرات		۳۴/۵۶	۱۵/۲۹	۲۷/۰۰

ns ، * و ** به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطوح احتمال ۵٪ و ۱٪ را نشان می‌دهند.

جدول۸- تجزیه واریانس برش‌دهی اثر پرایمینگ بر آنزیم کاتالاز بذر انیسون تحت تأثیر عصاره آبی چهار نوع علف‌هرز

نوع عصاره	درجه آزادی	کاتالاز
آلاله‌وحشی	۴	۲۹۴/۸۸ ns
ازمک	۴	۲۷۵/۲۵ ns
کاهووحشی	۴	۹۰۳/۵۶ *
بی‌تیراخ	۴	۲۶۵۹/۴۷**
بدون اعمال عصاره	۴	۱۶۹۰/۰۰**

ns ، * و ** به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطوح احتمال ۵٪ و ۱٪ را نشان می‌دهند.

با توجه مقایسه میانگین داده‌ها مشاهده شد که در عصاره آبی کاهو وحشی پرایم با سالیسیلیک‌اسید ۰/۳ میلی‌مولار بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز را نشان داد که با سایر پرایم‌ها بجز شاهد پرایم نشده اختلاف معنی داری نداشت. در عصاره آبی علف‌هرز بی‌تیراخ، پرایم با ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک‌اسید بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز را داشته است. در شرایط بدون اعمال عصاره، پرایم با ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک‌اسید، بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز را داشت که با سالیسیلیک‌اسید ۰/۶ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری نشان نداد. در عصاره آبی آلاله وحشی و ازمک با اینکه اختلاف معنی‌داری بین پرایم‌ها وجود نداشت؛ اما بیشترین مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز به پرایم با سالیسیلیک‌اسید ۰/۶ میلی‌مولار تعلق داشت (جدول ۹).

یکی از آنزیم‌های مؤثر جهت مقابله با تنش‌های اکسیداتیو کاتالاز است که در همه موجودات زنده تحت تنش تولید می‌شود. این آنزیم با اثر مستقیم بر پراکسید هیدروژن، سبب کاهش اثرهای سمی آن می‌شود (۲۰). همانطور که نتایج نشان می‌دهد پرایمینگ بکار رفته در این آزمایش نتوانسته فعالیت آنزیم کاتالاز را در زمان تنش دگرآسیبی با عصاره آبی آلاله وحشی و ازمک تغییر معنی‌داری دهد، درنتیجه درصد و سرعت جوانه‌زنی در این تیمارها بهبود نیافته است در حالی که در مورد عصاره آبی بی‌تیراخ پرایمینگ با جیبرلیک اسید ضمن افزایش مقدار کاتالاز منجر به بهبود جوانه‌زنی بذر انیسون گردیده است. سالیسیلیک‌اسید به دلیل داشتن اکسیژن گروه هیدروکسیل آزاد روی حلقه بنزوئیک، قادر خواهد بود که آهن موجود در کاتالاز را کلات کند، در نتیجه موجب کاهش اثر آنزیم مذکور در گیاه می‌شود (۳۰).

آنزیم پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز: جدول مقایسه میانگین داده‌ها (جدول۱۰) نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز در بذور پرایم نشده رخ داده است و بین سطوح مختلف پرایمینگ از نظر اثر گذاری بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشده است؛ اما میزان فعالیت آنزیم پلی-فنل‌اکسیداز در پرایم جیبرلیک‌اسید ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به سالیسیلیک‌اسید ۰/۶ میلی‌مولار بطور معنی‌داری بیشتر بوده است که با جیبرلیک‌اسید ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر و سالیسیلیک‌اسید ۰/۳ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری نداشته است (جدول۱۰).

جدول ۹- مقایسه میانگین اثر پرایمینگ بر فعالیت آنزیم کاتالاز (میلی‌مول بر گرم وزن‌تر بذر در دقیقه) بذر انیسون تحت تأثیر انواع عصاره آبی علف-های هرز

سطوح مختلف پرایمینگ	نوع عصاره				
	آلاله‌وحشی	ازمک	کاهووحشی	بی‌تیراخ	بدون اعمال عصاره
GA (۲۰۰mg/l)	۲۰/۵ a	۵/۷ a	۳۴/۲ ab	۸۰/۲ a	۶۱/۵ a
GA (۴۰۰mg/l)	۵/۱ a	۱۷/۲ a	۳۸/۹ ab	۱۳/۰ b	۱۳/۷ bc
SA (۰/۳ mM)	۲۰/۳ a	۲۷/۷ a	۵۴/۵ a	۱۵/۲ b	۱۲/۸ bc
SA (۰/۶ mM)	۲۸/۳ a	۲۸/۳ a	۱۸/۶ ab	۲۸/۴ b	۳۵/۲ ab
بدون پرایم	۶/۷۷ a	۲۵/۷ a	۱۰/۳ b	۷/۱۱ b	۱/۸۶ c

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشابه هستند فاقد تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون L.S.Means در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند

جدول ۱۰- مقایسه میانگین اثر پرایمینگ و عصاره آبی علف‌های هرز بر آنزیم پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز بذر انیسون

سطوح مختلف پرایمینگ	پراکسیداز (میلی‌مول بر گرم وزن‌تر بذر در دقیقه)	پلی‌فنل‌اکسیداز (تغییرات جذب به گرم وزن‌تر بذر در دقیقه)
GA (۲۰۰mg/l)	۰/۲۵ b	۰/۲۵ bc
GA (۴۰۰mg/l)	۰/۲۵ b	۰/۲۹ b
SA (۰/۳ mM)	۰/۲۳ b	۰/۲۴ bc
SA (۰/۶ mM)	۰/۲۴ b	۰/۲۳ c
بدون پرایم	۰/۴۰ a	۰/۳۵ a

میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند بر اساس آزمون LSD فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

پراکسیدازها نقش مهمی را در پاکسازی پراکسیدهیدروژن بازی می‌کنند و مسئول حذف مقادیر اضافی پراکسید هیدروژن می‌باشد. در شرایط بدون پرایم به دلیل اثر زیاد دگرآسیبی مقدار فعالیت پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز بیشتر می‌باشد و نیز به دلیل فعالیت زیاد این آنزیم‌ها شاخص‌های جوانه‌زنی در این شرایط بهتر بوده است. در این تحقیق نتایج حاکی از آن است که کاتالاز بیشتر از پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز در برابر حذف اکسیژن فعال ناشی از تنش اکسیداتیو مواد دگرآسیب نقش ایفا کرده است که احتمالا به دلیل میزان کم رادیکال‌های تولید شده می‌باشد. اما در تحقیقی روی ذرت نیز پیش‌تیمار بذر با سالیسیلیک‌اسید سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شده است، که افزایش فعالیت پراکسیداز و کاهش فعالیت کاتالاز، دلایلی جهت افزایش مقاومت ذکر شده‌اند (۲۲).

پلی‌فنل‌اکسیداز یک اکسید کننده فنل می‌باشد و در شرایط تنش، فعالیت این آنزیم به عنوان شاخصی جهت سنجش مقاومت گیاهان نسبت به تنش‌های محیطی می‌باشد. همچنین ذکر شده است که ارقام مقاوم، دارای فعالیت بیشتری از پلی‌فنل‌اکسیداز می‌باشند، دلیل این امر افزایش تولید فنل‌های دیواره و لیگنین است که اندام‌های گیاهی را سخت و مقاوم به تنش می‌کند (۳۶). موتلو و آتیسی (۲۹) بیان نمودند که افزایش در فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز همانند علامت زنده‌ای از تنش در رابطه با رها کردن پراکسیداز از دیواره‌های سلولی هستند که افزایش آن را در برنج و تحت موقعیت‌های تنش نیز گزارش کردند.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این آزمایش نشان داد که در برابر اثر دگرآسیبی عصاره آبی علف‌های‌هرز ازمک، کاهو وحشی، بی‌تیراخ و شرایط بدون اثر دگرآسیبی برخی صفات همچون درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و شاخص بنیه گیاهچه انیسون در اثر پرایم با ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک‌اسید نسبت به سالیسیلیک‌اسید ۰/۳ و ۰/۶ میلی-مولار، بیشتر بهبود یافته است، درحالی که با شاهد اختلاف معنی‌داری نداشتند. در عصاره آبی علف‌هرز آلاله‌وحشی اثرات کمتری از اعمال پرایمینگ مشاهده شده است. این امر ممکن است به دلیل اثرات منفی شدیدی که مواد دگرآسیب این عصاره آبی علف‌هرز دارد، باشد. همچنین در بین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مورد بررسی کاتالاز نسبت به پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز بیشترین نقش را در مقابله با اثرات تنش اکسیداتیو ناشی از دگرآسیبی عصاره آبی ازمک، کاهو وحشی و بی‌تیراخ بر بذر انیسون نشان داد.

منابع

۱- آزادفر، د.، احمدکروری، س.، حدادچی، غ. ر.، اکبری‌نیا م.، و جلالی، غ. ع. (۱۳۸۳). بررسی فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و آلفا-آمیلاز در مراحل مختلف رویشی گونه راش(*Fagus orientalis* L.). پژوهش و سازندگی (منابع طبیعی)، ۱۶ (۴): ۳۱-۲۵.

۲- اصغری‌پور، م. ر. (۱۳۹۱). اثرات آللوپاتی قیاق بر جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه ریحان، سیاهدانه، زیره سبز، رازیانه، اسفرزه و پسیلیوم. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران، ۱۰ (۳): ۵۷۶-۵۷۰.

۳- ایران‌نژاد، ح.، و رسام، ق. ع. (۱۳۸۱). بررسی تأثیر مقادیر مختلف ازت و فسفر بر عملکرد و میزان اسانس دانه گیاه انیسون. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ۹ (۱): ۱۰۱-۹۳.

۴- تایز، ل. و زایگر، ی. (۱۳۸۸). فیزیولوژی گیاهی ۲. ترجمه کافی، م.، ی. زند، ب. کامکار، ا. مهدی‌دامغانی و ف. عباسی. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۶۷۶ صفحه.

۵- توکل افشاری، ر.، انصاری، ا.، شریف زاده، ف.، و شایان فر، ع. (۱۳۹۲). نقش پرایمینگ در روند مصرف مواد ذخیره‌ای و جوانه-زنی بذر چاودار کوهی تحت تنش شوری. مجله علوم گیاهان زراعی ایران، ۴۴ (۲): ۱۸۹-۱۸۱.

۶- حسینی، آ. و کوچکی، ع. ر. (۱۳۸۶). اثر تیمارهای مختلف پرایمینگ بر درصد و سرعت جوانه‌زنی چهار رقم بذر چغندرقند. مجله پژوهش‌های زراعی ایران، ۵ (۱): ۶۹-۷۶.

۷- خوشخوی، م. (۱۳۷۸). گیاه افزایی، مبانی و روش ها. (ترجمه). انتشارات دانشگاه شیراز. ۱۵۸۶. ص ۷

۸- صابری، م. (۱۳۹۱). تأثیر محرک‌های شیمیایی بر بهبود جوانه‌زنی، حمایت و مقاو سازی گونه*Bromus inermis* Leyss تحت تنش با ترکیبات آللوپاتیک *Thymus kotschyanus* Boiss and Hohen. فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات حمایت و حفاظت جنگل‌ها و مراتع ایران، ۱۰ (۱): ۶۶-۵۶.

۹- صابری، م.، طویلی، ع.، و میری، م. (۱۳۹۳). بررسی تأثیر سطوح مختلف جیبرلیک اسید و سالیسیلیک اسید بر بهبود جوانه‌زنی گیاه *Festuca arundinacea* تحت تنش با ترکیبات آللوپاتیک. محیط زیست طبیعی، منابع طبیعی ایران، ۶۷ (۴): ۴۲۴-۴۱۵.

۱۰-قادری‌فر، ف.، سلطانی، ا. و صادقی‌پور، ح. ر. (۱۳۹۳). تغییرات بیوشیمیایی طی زوال بذرهای کدوی تخم کاغذی: پراکسیداسیون لیپید و صدمات غشا. مجله زیست شناسی گیاهی ایران، ۶ (۲): ۱۱۲-۹۶.

۱۱-قاسمی گلعذانی، ک. و دلیل، ب. (۱۳۹۰). آزمون‌های جوانه‌زنی و قدرت بذر.انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، صفحه ۱۰۴.

۱۲-کشاورزی، .ص.، جعفری حقیقی، ب.، و باقری، ع. ر. (۱۳۹۲). ارزیابی تأثیر هورمون اکسین و جیبرلین بر خصوصیات کمی و کیفی ذرت علوفه‌ای. مجله اکوفیزیولوژی گیاهی، ۵ (۱۵): ۳۴-۲۶.

۱۳-کشفی بناب، ع. ر. (۱۳۸۹). مزیت نسبی اقتصادی کشت و تجارت گیاهان دارویی در ایران و ارزش آن در بازارهای جهانی. مجله سبز زیست، ۸ (۴۴): ۷۸-۶۷.

۱۴-لک، ش.، قوشچی، ف.، صفاهانی لنگرودی، ع. ر. و سلطانی، س. (۱۳۹۲). مطالعه اثرات چند گونه علف هرز بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه گندم. فصلنامه علمی-پژوهشی گیاه و زیست بوم، ۹ (۳۷): ۱۲۶-۱۱۳.

۱۵-مظاهری تیرانی، م.، و منوچهری کلانتری، خ. (۱۳۸۵). بررسی سه فاکتور سالیسیلیک اسید، تنش خشکی و اتیلن و اثر متقابل آنها بر جوانه زنی بذر (*Brassica napus* L) کلزا. مجله زیست شناسی ایران، ۱۹(۴): ۴۰۸-۴۱۸.

۱۶-نوجوان اصغری، م.، و پوراکبر، ل. (۱۳۸۳). اثر متقابل اسید سالیسیلیک و هورمونهای گیاهی بر رشد طولی ریشه‌های دانه رست‌های تربچه. مجله علوم پایه، ۱۷(۱): ۸-۱۹.

17- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. Methods in Enzymology, 105: 121-126.

18- Cirak, C., Ayan, A.K. and Kevseroglu, K. (2004). The effects of light and some presoaking treatments on germination rate of st. John Worth (*Hypericum perforatum* L.) seeds. Pakistan Journal of Biological Sciences, 7 (2): 182-186.

19- Ghanati, F., Morita, A. and Yokota, H. (2002). Induction of suberin and increase of lignin content by excess Boron in Tabacco cell. Soil Science and Plant Nutrition, 48 (3): 357-364.

20- Horvath, E., Szalai, G. and Janda, T. (2007). Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signalling: Review. Journal of Plant Growth Regulation, 26 (3): 290-300.

21- Jadhav, S.H. and Bhamburkar, S.B. (2011). Effect of Salicylic acid on germination performance in groundnut. Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology, 2(4): 224-227.

22- Janda, T., Szalai, G., Tari, I. and Paldi, E. (1999). Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (*Zea mays* L.) plants. Planta, 208 (2): 175-180.

23- Kar, M.E. and Mishra, D. (1976). Catalase, peroxidase and polyphenoloxidase actvities during rice leaf senescence. Plant Physiology, 57: 315–319.

24- Kelly, F.A. and A.T.G. Raymond. (1988). Book encyclopedia of seed production of world crops. John Willy and Sons LTD, pp 403.

25- Khan, A.A. (1999). Preplant physiological seed conditioning. Horticultural Reviews, 14: 131-181.

26- Lee, S.S., Kim, J.H., Hong, S.B., Yuu, S.H. and Park, E.H. (1998). Priming effect of rice seeds on seedling establishment under adverse soil conditions. Korean Journal of Crop Science, 43 (3): 194-198.

27- Lydon J., Teasdale, J.R. and Chen, P.K. (1997). Allelopathic activity of annual worm wood (*Artemisia annua*) and the role of artemisinin. Weed Science, 45 (6): 807-811.

28- Maguire, J.D. (1962). Speed of germination in selection and evaluation for seedling vigor. Crop Science, 2: 176-177.

29- Mutlu, S. and Atici, O. (2009). Effect of cement dust on diversity and antioxidant enzyme activities of plants growing around a cement factory. Fresenius Environmental Bulletin, 18 (10): 1823-1827.

30- Qinghua, S.H. and Zhujun, Z. (2008). Effect of exogenous salicylic acid on manganese's toxicity, element contents and ant oxidative system in cucumber. Environmental and Experimental Botany, 63: 317-326.

31- Saberi, M., Shahriari, A.R., Tarnian, F., Jafari, M. and Safari, H. (2011). Influence of seed priming on germination and seedling of range species under allelopathic components. Frontiers of Agriculture in China, 5 (3): 310-321.

32- Varner, J.E. (1964). Gibberellic acid controlled synthesis of α-amylase in barley endosperm. Plant Physiology, 30: 413-41.

33- Vicente, M.R.S. and Plasencia, J. (2011). Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development. Journal of Experimental Botany, 62(10): 3321-3338.

34- Wang, Y., Yang, Z.M., Zhang, Q.F. and Li, J.L. (2009). Enhanced chilling tolerance in Zoysia matrella by pre-treatment with salicylic acid, calcium chloride, hydrogen peroxide or 6-benzylaminopurine. Biologia Plantarum, 53 (1): 179-182.

35- Wu, L., Guo, X. and Harivandi, M.A. (1998). Allelopathic effects of phenolic acids detected in buffalograss (*Buchloe dactyloides*) clippings on growth of annual bluegrass (*Poa annua*) and buffalograss seedlings. Environmental and Experimental Botany, 39: 159-167.

36- Zhang, G., Wang, Y.Z., Yang, T.W., Gin, H. and Zhang, G.Y. (2012). Use of gibberellic acid to overcome the allelopathic effect of a range of species on the germination of seeds of *Gentiana rigescens*, a medicinal herb. Seed Science and Technology, 40: 443-447.

The effect of gibberellic and salicylic acid on germination characteristics and antioxidant enzymes of anise seed under allelopathic effect of four weed species

Ajribzadeh Z.[1], Balouchi H.R.[2], Yadavi A.R.[2] and Salehi A.[3]

Agronomy and Plant Breeding Dept., Yasouj University, Yasouj, I.R. of Iran

Abstract

In order to study the effect of gibberellic and salicylic acid on germination characteristics and growth of anise under the influence of aqueous extracts of the four weed species: Whitetop (*Cardaria draba*), Corn Buttercup (*Ranunculus arvensis*), Wild lettuce (*Lactuca virosa*) and Cleaver (*Galium aparine*), with a concentration of 25 gr/l, an experiment was conducted as factorial arranged base on completely randomized design with four replications at the seed science laboratory of Agricultural faculty, Yasouj University in 2015. In this experiment, priming with gibberellic acid was used at two levels of 200 and 400 mg/l for 15 hours at 15°C and salicylic acid in two levels 0.3 and 0.6 mM for 48 hours at 25°C. The results showed that priming with 0.3 and 0.6 mM salicylic acid and control, compared to 200 and 400 ppm gibberellic acid, decreased some characteristics such as rate and percentage of germination, root and shoot length and seedling vigor index anise under allelopathic effect of aqueous extract of Whitetop, Wild lettuce and Cleaver, and non allelopathic condition while gibberellic acid did not have any significantly different with control. The aqueous extract of Corn Buttercup priming prevents germination. Also, among of the antioxidant enzymes, catalase showed the most important role in counteracting the effects of oxidative stress caused by allelopathic effect of aqueous extract of Whitetop, Wild lettuce and Cleaver on anise seed rather than peroxidase and polyphenol oxidase.

Key words: Allelopathy, Catalase, Cleaver, Corn Buttercup, Germination percentage