

آماده انتشار

بررسی اثرات شوک حرارتی، تنش اسمزی و روش‌های خشک کردن بر قابلیت حیات بذرهای پیش‌آماده‌سازی شده گلرنگ در طی زوال

عبدالحسین رضائی^۱، فرشید قادری‌فر^{۲*}، حمیدرضا صادقی‌پور^۳

۱- دانش آموخته دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران. رایانامه:

abdolhosainrezai@gmail.com

۲- نویسنده مسئول، استاد گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران. رایانامه:

farshidghaderifar@yahoo.com

۳- استاد گروه زیست شناسی، دانشگاه گلستان، ایران. رایانامه: h.r.sadeghipour@gmail.com

Investigating the effects of heat shock, osmotic stress and drying methods on the viability of safflower primed seeds during deterioration period

Abdolhosein Rezaei¹, Farshid Ghaderi-Far^{2*}, Hamid Reza Sadeghipour³

1- Ph.D. Graduate of Crop Physiology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran. E-mail: abdolhosainrezai@gmail.com

2- Corresponding Author. Professor of Agronomy group, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran. E-mail: farshidghaderifar@yahoo.com

3- Professor of Biology group, Golestan University, Iran. E-mail: h.r.sadeghipour@gmail.com

چکیده

سابقه و هدف: در چند دهه اخیر، پیش‌آماده‌سازی بذر به‌عنوان یک روش متداول به‌منظور افزایش سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی در مزرعه، استقرار بهتر گیاهچه‌ها و عبور سریع‌تر از شرایط نامساعد محیطی در زمان جوانه‌زنی و سبز شدن مورد توجه قرار گرفته است. با این وجود، کاهش کیفیت و طول عمر بذرهای پیش‌آماده‌سازی شده، استفاده عملی از این روش را محدود ساخته است. از این‌رو، در این پژوهش اثر کاربرد برخی از تیمارهای پس از پیش‌آماده‌سازی شامل شوک حرارتی، تنش اسمزی و روش‌های خشک‌کردن بر طول عمر بذرهای گلرنگ در طی دوره‌های مختلف زوال بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه از بذرهای رقم زراعی سینا استفاده شد. بذرهای ابتدا در آب مقطر (هیدرو) و نیز محلول سالیسیلیک اسید غوطه‌ور شدند و پس از اتمام فاز آب‌نوشی تحت تیمارهای شوک حرارتی (۱/۵ و ۳ ساعت در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد و ۸ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد)، تنش اسمزی (۱/۵- و ۲/۵- مگاپاسکال به وسیله پلی‌اتیلن گلایکول) و دو روش خشک‌کردن آرام و سریع قرار گرفتند. تیمار بدون پیش‌آماده‌سازی نیز به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. در نهایت بذرهای تحت زوال کنترل شده به مدت ۰، ۲، ۴ و ۶ روز قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که با افزایش طول دوره زوال، قابلیت جوانه‌زنی و رشد گیاهچه کاهش یافت و در تیمار ۶ روز زوال مرگ کامل بذرهای رخ داد. شدت کاهش کیفیت بذرهای پیش‌آماده‌سازی شده در شرایط اعمال شوک حرارتی و تنش اسمزی پس از پیش‌آماده‌سازی همواره بیشتر از بذرهای شاهد بود. در سطح زوال ۲ روز، درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و گیاهچه طبیعی برای بذور شاهد به ترتیب ۸۴ درصد، ۰/۰۲۷ بر ساعت، ۷۰/۶۷ درصد مشاهده شد. با این وجود، شوک حرارتی به مدت ۸ ساعت منجر به

بهبود کیفیت بذرهای پیش‌آماده‌سازی شده در مقایسه با زمان‌های کمتر شوک حرارتی شد. شوک حرارتی در تیمارهای پیش‌آماده‌سازی شده با سالیسیلیک اسید و آب مقطر (هیدرو) به ترتیب ۱۳ و ۱۰ درصد افزایش نسبت به تیمار شاهد وجود داشت. عدم استفاده از شوک حرارتی و تنش اسمزی و تنها اعمال تیمارهای خشک کردن پس از پیش‌آماده‌سازی منجر به حفظ و حتی افزایش قابلیت جوانه‌زنی و رشد گیاهچه بذرهای پیش‌آماده‌سازی شده نسبت به بذرهای بدون پیش‌آماده‌سازی در سطوح مختلف زوال شد. هر دو روش خشک‌کردن باعث بهبود قابلیت جوانه‌زنی و رشد گیاهچه بذرهای پیش‌آماده‌سازی شده یا بیشتر از بذرهای بدون پیش‌آماده‌سازی بود. نتیجه‌گیری: به‌طور کلی توصیه می‌شود که به منظور حفظ و یا افزایش طول عمر بذرهای پیش‌آماده‌سازی شده گلرنگ در طی پیش‌آماده‌سازی و پس از اتمام دوره آب‌نوشی، بذرها با روش مناسب خشک شوند.

واژه‌های کلیدی: تیمارهای بهبود بذر، انبارداری، زوال کنترل شده، طول عمر بذر.

مقدمه

گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) یکی از قدیمی‌ترین محصولات است که برای مناطق نیمه خشک سازگار شده است که به دلیل استفاده از گل‌های آن به عنوان رنگ طبیعی، طعم غذا به غیر از خواص دارویی متعدد کشت می‌شود (۱). پیش‌آماده‌سازی بذر روشی ارزشمند برای بهبود جوانه‌زنی و سبزشدن در شرایط بهینه و تنش است. همچنین برای بازگرداندن اثرات نامطلوب پیری پس از نگهداری مفید است (۲). به‌طور معمول پیش‌آماده‌سازی^۱ بذر به عنوان یک روش متداول به منظور افزایش سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی در مزرعه، استقرار بهتر گیاهچه‌ها و عبور سریع‌تر از شرایط نامساعد محیطی در زمان جوانه‌زنی و سبزشدن مورد توجه قرار گرفته است (۳). با این وجود، زمانی که بذرها پس از پیش‌آماده‌سازی خشک می‌شوند تا به رطوبت اولیه برسند، ممکن است برخی از این اثرات مثبت کاهش یابد (۴ و ۵). حتی زمانی که کیفیت بذر در طی خشک‌شدن حفظ شود، بخش قابل توجهی از آن در طی انبارداری از دست می‌رود (۶). مانع اصلی برای کاربرد عملی بذرهای پیش‌آماده‌سازی شده، بحث انبارداری و زنده‌مانی است (۷). پیش‌آماده‌سازی بذر غالباً باعث کاهش قابلیت انبارداری بذر می‌شود (۵). گزارش‌های متعددی از کاهش قابلیت ماندگاری بذرهای پیش‌آماده‌سازی شده در گیاهان مختلف توسط محققان ارائه شده است. به عنوان مثال، در بذرهای فلفل (۶)، برنج (۸ و ۹)، سویا (۱۰) و گوجه‌فرنگی (۱۱) پیش‌آماده‌سازی باعث تشدید فرایند زوال و در نهایت کاهش طول عمر بذر می‌شد. به نظر می‌رسد که تیمارهای پیش‌آماده‌سازی باعث مختل شدن مکانیسم‌های مربوط به طول عمر می‌شوند. سانو و سئو (۲۰۱۹) بیان کردند که در بذرهای آرابیدوپسیس پیشرفت چرخه‌های سلولی در طی پیش‌آماده‌سازی بذر باعث کاهش طول عمر بذر می‌شود (۹).

از طرفی، گزارش‌هایی نیز از تاثیر مثبت پیش‌آماده‌سازی بر بهبود ماندگاری بذر وجود دارد. برای مثال در بذرهای زیره-ی سبز (۱۲)، پنبه (۱۳)، برنج (۱۴ و ۱۵)، بامیه (۱۶)، بومادران (۱۷)، آفتابگردان (۱۸ و ۱۹) و پیاز (۲۰) پیش‌آماده‌سازی موجب کاهش زوال و در نتیجه افزایش طول عمر بذر می‌شد. این تناقض توسط محققان مختلف مورد بررسی قرار گرفته و برخی از محققان معتقدند، می‌توان اثرات زیان بار پیش‌آماده‌سازی بر قابلیت انبارداری بذر را تا حد زیادی با اعمال تیمارهای مختلف و همچنین، روش‌های متفاوت خشک‌کردن بذرهای پیش‌آماده‌سازی شده کاهش داد و از اثرات مثبت این تکنیک بهره جست (۱۱ و ۲۱). کاهش کیفیت بذر در روش‌های رایج پیش‌آماده‌سازی به دلیل از دست رفتن تحمل به پسابدگی بذر و در نتیجه کاهش طول عمر آن‌ها می‌باشد (۲۲)، که به‌طور عمده به شرایط دما، رطوبت و ترکیب اتمسفری

بستگی دارد که بذرها بلافاصله پس از پیش‌آماده‌سازی در آن نگهداری می‌شوند (۲۳). با این حال، چندین روش پس از پیش‌آماده‌سازی برای بهبود اثرات منفی پیش‌آماده‌سازی معمولی بر طول عمر بذر توسعه داده شده است (۲۴).

بروگینک و همکاران (۱۹۹۹) با فرض اینکه مکانیسم‌های مربوط به طول عمر بذر و تحمل به تنش آبی با یکدیگر مرتبط هستند، بیان کردند که احتمالاً تیمارهایی که تحمل به تنش آبی را در بذرها القا می‌کنند، باید تأثیر مثبتی بر طول عمر بذر داشته باشند و از تیمارهای مختلفی مانند شوک حرارتی استفاده کردند (۲۱). شوک حرارتی اغلب به‌عنوان افزایش دما فراتر از حد آستانه برای یک دوره زمانی تعریف می‌شود. به‌طور کلی، افزایش موقت دما، معمولاً ۱۰ تا ۱۵ درجه سانتی‌گراد بالاتر از دمای محیط، شوک حرارتی در نظر گرفته می‌شود (۲۵). قراردادن بذرها در پیش‌آماده‌سازی شده (هیدرو) کاهو در معرض دماهای ۳۷ (به مدت ۴ ساعت) و ۴۰ (به مدت ۲ ساعت) درجه سانتی‌گراد طول عمر بذرها را به‌ترتیب تا ۱۱ و ۱۰ روز در طی زوال کنترل شده افزایش داد (۲۴). اعمال تیمار شوک حرارتی پس از پیش‌آماده‌سازی باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی، افزایش طول عمر بذر و حفظ بنيه در طول نگهداری بذر گوجه‌فرنگی پیش‌آماده‌سازی شده شد (۱۱). نگهداری بذرها گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum* Mill.) در دماهای ۳۷ یا ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ تا ۴ ساعت بلافاصله پس از پیش‌آماده‌سازی باعث افزایش طول عمر بذرها شد (۲۶). در چاودار کوهی (*Secale montanum*) نیز اعمال تیمار شوک حرارتی پس از پیش‌آماده‌سازی باعث افزایش طول عمر بذرها، افزایش درصد جوانه‌زنی و شاخص بنيه بذر شد (۲۷).

اعمال تنش اسمزی بلافاصله پس از پیش‌آماده‌سازی روش دیگری برای افزایش طول عمر بذرها محسوب می‌شود (۲۱). در تنش اسمزی، بذرها بلافاصله پس از اعمال پیش‌آماده‌سازی در داخل محلول‌هایی با پتانسیل اسمزی پایین، مانند پلی‌اتیلن‌گلیکول به مدت چند ساعت و یا چند روز قرار می‌گیرند و در نهایت خشک می‌شوند (۲۸). بذرها طی پیش‌آماده‌سازی در دو مرحله با تنش جزئی مواجه می‌شوند که یکی در مرحله آب‌نوشی و دیگری در مرحله خشک‌شدن (پسابیدگی)^۲ پس از آب‌نوشی صورت می‌گیرد و به‌طور کلی، وقوع تنش جزئی در طی پیش‌آماده‌سازی باعث می‌شود که بذرها در مراحل بعدی جوانه‌زنی و سبز شدن در مواجهه با تنش‌های محیطی کارکرد بهتری داشته باشند (۲۹).

روش خشک‌کردن بذرها پس از یک دوره جذب آب در طی پیش‌آماده‌سازی نیز نقش مهمی در تعیین طول عمر و کیفیت بذرها در طی ذخیره‌سازی دارد (۲۱). خشک کردن دوباره پس از پیش‌آماده‌سازی برای نگهداری بذر، حفظ ماندگاری بذر و تحمل نسبت به تنش‌های غیرزیستی بسیار مهم است (۳۰). برای خشک‌کردن بذرها پس از پیش‌آماده‌سازی می‌توان از دو روش خشک‌کردن سریع و یا آهسته استفاده کرد (۳۱). در روش خشک‌کردن سریع بذرها در محیطی با رطوبت نسبی پایین (حدود ۳۰ درصد)، دمای بالا (۳۰-۴۰ درجه سانتی‌گراد) و یا هر دو قرار می‌گیرند (۲۳). بدین منظور ممکن است از ظرف‌های مهر و موم شده حاوی محلول‌های نمکی نظیر کلسیم کلراید (این ترکیب رطوبت نسبی ظرف را در حد ۳۳ درصد حفظ می‌کند) که رطوبت نسبی محیط را تا حد زیادی کاهش می‌دهند و قرار دادن آن‌ها در دمای بالا به مدت چند ساعت استفاده شود؛ در روش خشک‌کردن آهسته، بذرها در محیطی با رطوبت نسبی بالا (بیش از ۷۰ درصد) خشک می‌شوند (۳۲) و (۲۳). در این روش خشک شدن بذرها می‌تواند با قرار دادن بذرها در هوای آزاد و با استفاده از پنکه یا تهویه صورت گیرد در مجموع، هر روشی که باعث شود محتوای رطوبت بذرها پس از پیش‌آماده‌سازی به سرعت کاهش یابد، روش سریع و هر روشی که باعث شود محتوای رطوبت بذرها پیش‌آماده‌سازی شده با سرعت کمتر و در واقع در زمان بیشتری به مقدار اولیه خود (محتوای رطوبت بذر قبل از پیش‌آماده‌سازی) برسد، روش آهسته تلقی می‌شود (۳۱). سودا و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که خشک‌کردن بذرها پیش‌آماده‌سازی شده کلم با روش‌های مختلف باعث بیان الگوهای ژنی متفاوتی در بذرها می‌شود که می‌تواند باعث سنتز پروتئین‌های مختلفی شود؛ از این‌رو، نحوه خشک‌کردن بذرها پیش‌آماده‌سازی شده در

واکنش نسبت به شرایط محیط نگهداری و به دنبال آن جوانه‌زنی بسیار حائز اهمیت است (۳۳). اسشومبر و برادفورد (۲۰۰۵) بیان کردند که بذره‌های کاهو که پس از پیش‌آماده‌سازی با روش آهسته خشک شدند از سرعت جوانه‌زنی بالاتری برخوردار بودند، اما قابلیت زنده‌مانی در بذره‌های خشک شده با روش سریع بیشتر بود (۲۳). در بذره‌های گوجه‌فرنگی و کرفس عکس آن رخ داد و خشک کردن بذرها به وسیله روش آهسته باعث افزایش قابلیت ماندگاری بذرها در مقایسه با روش خشک کردن سریع شد (۲۶ و ۳۴). دیمیر و همکاران (۲۰۰۵) نیز بیان کردند که بنیه و طول عمر بذرهایی که بعد از پیش‌آماده‌سازی توسط روش‌های آهسته خشک می‌شوند، بیشتر است (۳۲).

از آنجایی که بهینه‌سازی پیش‌آماده‌سازی بذر و همچنین روش‌های افزایش کارایی این روش بر روی گیاه دانه‌روغنی گلرنگ به عنوان یک گیاه صنعتی و بومی ایران می‌تواند بسیار حائز اهمیت باشد که این موضوع ذخیره‌سازی بذره‌های پیش‌آماده‌سازی شده را برای مدت زمان طولانی‌تری فراهم می‌نماید که امکان استفاده عملی از پیش‌آماده‌سازی را در کشاورزی فراهم نماید، بنابراین این مطالعه با هدف بررسی **اثرات پیش‌آماده‌سازی (آب مقطر (هیدرو) و هورمون سالیسیلیک اسید) و تیمارهای پس از پیش‌آماده‌سازی شامل شوک حرارتی، تنش اسمزی و روش‌های خشک کردن و دستیابی به روش بهینه بر کیفیت بذره‌های رقم سینا گلرنگ در طی زوال مصنوعی انجام شد.**

مواد و روش‌ها

مواد و محل انجام آزمایش

در این پژوهش از بذره‌های گلرنگ رقم سینا استفاده شد. بذره‌های گلرنگ از موسسه کنترل، ثبت و گواهی نهال و بذر کرج تهیه شد. بذره‌های رقم مذکور در مزرعه آموزشی و پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در تاریخ ۱۲ اسفند سال ۱۳۹۷ کشت شدند. در زمان رسیدگی بذرها به صورت دستی برداشت شدند و جهت اعمال تیمارهای پیش‌آماده‌سازی و پس از پیش‌آماده‌سازی به آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شدند.

اعمال تیمارهای پیش‌آماده‌سازی

در این پژوهش برای پیش‌آماده‌سازی بذره‌های گلرنگ از آب مقطر (هیدرو) به عنوان سطح صفر و هورمون سالیسیلیک اسید (۵۰ پی پی ام) استفاده شد. تیمار بدون پیش‌آماده‌سازی نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. در روش پیش‌آماده‌سازی، بذرها درون بشر به حالت غوطه‌ور در آب با نسبت ۱ به ۵ (به ازای هر گرم بذر ۵ میلی‌لیتر آب استفاده شد) به مدت ۶ ساعت قرار گرفتند. در طی مدت آبنوشی به منظور اکسیژن‌رسانی و جلوگیری از خسارات ناشی از کمبود اکسیژن، هوادهی با استفاده از پمپ آکواریوم صورت گرفت (۳۵). هوادهی به صورتی انجام شد که بذرها در طی آبنوشی به صورت معلق در آب بودند. تیمار شاهد (بدون پیش‌آماده‌سازی) نیز اعمال شد.

روش‌های خشک کردن بذره‌های پیش‌آماده‌سازی شده

پس از اتمام پیش‌آماده‌سازی، بذرها با دو روش آرام و سریع خشک شدند (۲۱). در روش سریع، بذرها در ظرف‌های وکیوم با ابعاد ۱۳×۹×۴ با استفاده از توری سیمی روی ۱۵۰ گرم سیلیکاژل قرار گرفتند تا رطوبت بذرها کاهش یابد و به رطوبت اولیه برسد. در روش آرام ابتدا بذره‌های پیش‌آماده‌سازی شده روی توری سیمی در ظرف‌های وکیوم حاوی ۴۰ میلی-لیتر محلول اشباع سدیم کلرید به مدت ۷۲ ساعت قرار گرفتند. پس از گذشت این زمان، بذرها از این محیط خارج و به

ظرف‌های حاوی سیلیکاژل منتقل شدند، تا به رطوبت اولیه خود برسند. لازم به ذکر است که هر دو روش خشک‌کردن در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت.

اعمال تیمارهای شوک حرارتی و تنش اسمزی در بذره‌ای پیش‌آماده‌سازی شده

تیمارهای این بخش با توجه به روش بروگینک و همکاران (۱۹۹۹) با کمی تغییرات طراحی و اجرا شد. به‌منظور اعمال شوک حرارتی به بذره‌ای پیش‌آماده‌سازی شده به دو صورت عمل گردید (۲۱):

روش اول: بذرها بلافاصله پس از اتمام آب‌نوشی (پیش‌آماده‌سازی) به لوله‌های فالكون ۱۴ میلی‌لیتری منتقل شدند و به مدت ۱/۵ و ۳ ساعت در بن ماری با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از اتمام این مدت بذرها توسط روش سریع خشک شد.

روش دوم: بذرها پس از اتمام پیش‌آماده‌سازی در ظرف‌های وکیوم توسط توری سیمی روی ۱۵۰ گرم سیلیکاژل قرار گرفتند و به مدت ۸ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد. لازم به ذکر است که رطوبت بذرها طی این مدت به مقدار اولیه خود رسید.

به‌منظور اعمال تیمارهای تنش اسمزی، بذره‌ای پیش‌آماده‌سازی شده بلافاصله به پتری‌دیش‌های شیشه‌ای با قطر ۱۴ سانتی‌متر و یک لایه کاغذ صافی، حاوی ۱۵ میلی‌لیتر محلول پلی‌اتیلن گلاکول ۶۰۰۰ با پتانسیل‌های آب ۱/۵- و ۲/۵- مگاپاسکال در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. پس از گذشت ۷۲ ساعت، بذره‌ای تیمارهای مختلف توسط آب مقطر شسته شدند و در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به روش سریع خشک شدند.

آزمون زوال کنترل شده

آزمون زوال کنترل شده با استفاده از روش بروگینک و همکاران (۱۹۹۹) با کمی تغییرات طراحی و اجرا شد (۲۱). پس از اعمال تیمارهای مختلف و همچنین روش‌های خشک‌کردن، بذره‌ای هر تیمار به‌طور جداگانه توسط توری سیمی درون ظرف‌های وکیوم حاوی ۴۰ میلی‌لیتر محلول اشباع سدیم کلرید قرار گرفتند (مشابه با روش خشک‌کردن آرام) و به مدت ۴۸ ساعت به دمای ۵ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. این کار باعث شد که رطوبت بذرها افزایش یابد و به مقدار ۲۰ درصد (برمبنای وزن تر) برسد. سپس بذرها در لوله‌های فالكون ۵۰ میلی‌متری قرار گرفت. به‌منظور اطمینان از عدم تبادل رطوبت بذرها با محیط بیرون درب فالكون‌ها توسط چسب پلاستیکی پلمپ شد. فالكون‌ها به بن ماری با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند و به مدت ۶ روز نگهداری و در فواصل مختلف از تیمارهای بذری نمونه‌گیری و آزمون جوانه‌زنی روی بذرها انجام شد.

آزمون جوانه‌زنی

آزمون جوانه‌زنی در تمامی تیمارهای آزمایش در سه تکرار انجام شد. به این منظور سه تکرار ۲۵ بذری از هر تیمار درون پتری‌دیش‌هایی با قطر ۹ سانتی‌متر و حاوی یک لایه کاغذ صافی و ۵ میلی‌لیتر آب مقطر قرار گرفت و به دمای ۲۰ درجه - سانتی‌گراد منتقل شد. شمارش بذره‌ای جوانه زده در طی روز ۲ الی ۳ بار انجام شد. معیار جوانه‌زنی خروج ریشه‌چه و رسیدن طول آن به ۲ میلی‌متر یا بیشتر در نظر گرفته شد (۳۶). همچنین، در پایان آزمون تعداد گیاهچه‌های طبیعی در طول آزمون شمارش شد. گیاهچه‌هایی طبیعی در نظر گرفته شدند که اندام اصلی آن‌ها (ریشه‌چه و ساقه‌چه)، به‌طور کامل و طبیعی رشد کرده بودند (۳۶). در پایان طول گیاهچه‌های طبیعی به وسیله خط‌کشی با دقت یک میلی‌متر اندازه‌گیری شدند. همچنین،

وزن خشک گیاهچه‌های طبیعی پس از خشک کردن گیاهچه‌ها در آون با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت اندازه‌گیری شد. در نهایت میانگین طول گیاهچه و وزن خشک گزارش شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

به منظور توصیف تغییرات درصد جوانه‌زنی در مقابل زمان (ساعت) از مدل لجیستیک سه پارامتره (رابطه ۴-۱) استفاده شد (۳۴).

$$y = \frac{G \max}{1 + \left(\frac{t}{T_{50}}\right)^b} \quad \text{رابطه ۴-۱:}$$

در این رابطه y درصد جوانه‌زنی تجمعی در زمان t ، $G \max$ حداکثر درصد جوانه‌زنی تجمعی، b یکنواختی جوانه‌زنی (تندی شیب منحنی) و T_{50} زمان تا رسیدن به ۵۰ درصد حداکثر جوانه‌زنی می‌باشد. پس از برازش مدل لجیستیک به داده‌های درصد جوانه‌زنی تجمعی در مقابل زمان برای هر تیمار، زمان تا رسیدن به ۲۰ درصد جوانه‌زنی بر اساس جمعیت بذری (T_{20}^{SP}) با استفاده از پارامترهای مدل طبق روش ارائه شده توسط قادری‌فر و گرزین (۱۳۹۸) محاسبه شد (۳۱). در مرحله بعد با معکوس کردن T_{20}^{SP} سرعت جوانه‌زنی محاسبه شد (رابطه ۴-۲):

$$R_{20}^{SP} = \frac{1}{T_{20}^{SP}} \quad \text{رابطه ۴-۲:}$$

در این رابطه R_{20}^{SP} سرعت جوانه‌زنی بر اساس زمان تا رسیدن به ۲۰ درصد جوانه‌زنی بر اساس جمعیت بذری می‌باشد. علت استفاده از T_{20}^{SP} به جای T_{50} (زمان تا رسیدن به ۵۰ درصد حداکثر جوانه‌زنی) پرهیز از مقایسه صدک‌های مختلف برای جوانه‌زنی به دلیل تفاوت در حداکثر درصد جوانه‌زنی در دماهای مختلف بود.

تمامی تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از برنامه آماری SAS 9.0.1 انجام شد و برای رسم شکل‌ها از نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۱۰ استفاده شد. تمام آزمایش‌ها به صورت فاکتوریل سه عاملی در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شدند و برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون **LSD** استفاده گردید (۳۷).

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر ساده هر یک از عوامل آزمایشی پیش‌آماده‌سازی، زوال، شوک حرارتی، برهمکنش‌های دوگانه و سه‌گانه آن‌ها بر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول گیاهچه طبیعی، طول گیاهچه و وزن خشک گیاهچه معنی‌دار بود (جدول ۱). با افزایش طول دوره زوال درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، درصد گیاهچه طبیعی، طول گیاهچه و وزن خشک گیاهچه در بذره‌های شاهد و پیش‌آماده‌سازی شده کاهش یافت و در سطح ۶ روز زوال به صفر رسید (شکل ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، درصد گیاهچه‌های طبیعی، طول و وزن خشک گیاهچه گلرنگ تحت تأثیر پیش‌آماده‌سازی، زوال و شوک حرارتی

Table 1- Analysis of variance for germination percentage, germination rate, normal seedling percentage, seedling length and dry weight of safflower seedling under priming, controlled deterioration and heat shock

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه- زنی Germination rate	گیاهچه طبیعی Normal seedling	طول گیاهچه seedling Length	وزن خشک گیاهچه Dry weight of seedling
زوال Deterioration	3	28794**	0.0082**	1934**	334**	286**
پیش‌آماده‌سازی Priming	2	3582**	0.00059**	3361**	7.44**	3.05**
شوک حرارتی Heat shock	2	386**	0.00021**	641**	9.52**	3.01**
زوال × پیش‌آماده‌سازی D × P	6	1521**	0.00021**	1262**	29**	18**
زوال × شوک حرارتی D × H	6	81**	0.0001**	373**	5.36**	1.4*
پیش‌آماده‌سازی × شوک حرارتی P × H	4	175**	0.000061**	221**	3.01**	3.88**
زوال × پیش‌آماده‌سازی × شوک حرارتی D × P × H	12	81**	0.000033**	154**	3.92**	2.84**
خطای آزمایش Error	72	10.92	0.0000005	5.84	0.14	0.52
ضریب تغییرات (%) Coefficient of variation (%)	-	9.31	4.20	8.47	9.32	17.72

* و ** به ترتیب معنی‌داری در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد را نشان می‌دهد.

* and ** indicate significance at 5 and 1 % probability levels, respectively.

در سطح زوال صفر، شوک حرارتی به مدت ۸ ساعت در بذره‌ای پیش‌آماده‌سازی شده به‌ترتیب با آب مقطر (هیدرو) و هورمون سالیسیلیک اسید باعث افزایش درصد جوانه‌زنی به میزان ۱۰ و ۱۳ درصد، سرعت جوانه‌زنی به میزان ۲۲/۵ و ۳۷/۵ درصد گردید و همچنین پیش‌آماده‌سازی بذرها با آب مقطر (هیدرو) و با هورمون، درصد گیاهچه طبیعی را به میزان ۱۵ و ۲۰ درصد، طول گیاهچه را به میزان ۷۸/۶۰ و ۱۲۰ درصد و وزن خشک گیاهچه را ۲۹/۷۸ و ۴۷/۹۱ درصد در مقایسه با شاهد افزایش دادند. در تیمار ۲ روز زوال، بذره‌ای شاهد در مقایسه با بذره‌ای پیش‌آماده‌سازی شده از درصد جوانه‌زنی (۸۴ درصد)، سرعت جوانه‌زنی (۰/۰۲۷ بر ساعت) و درصد گیاهچه طبیعی (۷۰/۶۷ درصد) بالاتری داشتند، اما طول گیاهچه (۵۰/۲۲ میلی‌متر) و وزن خشک گیاهچه (۵/۱۶ میلی‌گرم) پایین‌تری را دارا بودند (شکل ۱). به‌طور کلی، در هر یک از عوامل آزمایشی پیش‌آماده‌سازی با آب مقطر (هیدرو) و هورمون و افزایش زمان شوک حرارتی باعث افزایش هر یک از صفات مورد بررسی شد، هر چند که در برخی موارد اختلاف بین زمان‌های شوک حرارتی معنی‌دار نبود. در تیمار ۴ روز زوال، بذره‌ای شاهد، درصد جوانه‌زنی (۳۵ درصد)، سرعت جوانه‌زنی (۰/۰۱۸ بر ساعت)، درصد گیاهچه طبیعی (۲۹/۳۳ درصد)، طول گیاهچه (۵۲ میلی‌متر) و وزن خشک گیاهچه (۵/۳۹ میلی‌گرم) بالاتری در مقایسه با بذره‌ای پیش‌آماده‌سازی شده + شوک حرارتی برخوردار بودند. همچنین، در تیمار ۴ روز زوال، بالاترین درصد جوانه‌زنی (۲۵ درصد)، سرعت جوانه‌زنی (۰/۰۰۹ بر ساعت)، درصد گیاهچه طبیعی (۱۲ درصد)، طول گیاهچه (۳۳ میلی‌متر) و وزن خشک گیاهچه (۳/۴۴ میلی‌گرم) در بذره‌ای

پیش‌آماده‌سازی شده با آب مقطر (هیدرو) در تیمار شوک حرارتی ۸ ساعت و در بذره‌های پیش‌آماده‌سازی شده با هورمون در تیمار شوک حرارتی ۳ ساعت (۴/۸۳ میلی‌گرم) مشاهده شد (شکل ۱).

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، در شرایط کاربرد شوک حرارتی به‌عنوان تیمارهای پس از پیش‌آماده‌سازی، شدت کاهش قابلیت جوانه‌زنی و رشد گیاهچه در بذره‌های پیش‌آماده‌سازی شده بیشتر از بذره‌های بدون پیش‌آماده‌سازی بود (شکل ۱). به‌طور کلی، زوال بذر با تغییرات مختلف سلولی، متابولیکی و شیمیایی از جمله پراکسیداسیون لیپیدها، اختلال در غشاهای DNA، آسیب RNA و سنتز پروتئین همراه است و اثرات مضر بسیاری روی بذر ایجاد می‌کند (۳۸). انبارداری بذر باعث کاهش محتوای پروتئین می‌شود که ممکن است مرتبط با اکسیداسیون اسیدهای آمینه ناشی از افزایش فعالیت تنفسی و پیشرفت در روند زوال بذره‌های ذخیره شده باشد (۱۲). هنگامی که در طی پیش‌آماده‌سازی به بذرها اجازه داده می‌شود آب جذب کنند، تحمل به پسابیدگی به‌تدریج کاهش یافته و خشک‌کردن بذرها منجر به ایجاد اثرات مخرب در ساختار بذر می‌گردد (۳۹). این موضوع می‌تواند در کاهش قابلیت انبارداری بذره‌های پیش‌آماده‌سازی شده موثر باشد. با این حال، بسته به تیمار پیش‌آماده‌سازی و نوع روش خشک کردن می‌توان طول عمر بذره‌های پیش‌آماده‌سازی شده را افزایش داد (۲۷).

اعمال تیمار شوک حرارتی بلافاصله پس از پیش‌آماده‌سازی تنها در تیمار بدون زوال (صفر روز زوال) باعث برتری بذره‌های پیش‌آماده‌سازی شده نسبت به بذره‌های بدون پیش‌آماده‌سازی شد، اما با وقوع دوره‌های مختلف زوال، بذره‌های بدون پیش‌آماده‌سازی از قابلیت جوانه‌زنی و رشد گیاهچه بالاتری برخوردار بودند (شکل ۱). با این وجود، استفاده از تیمار شوک حرارتی به مدت ۸ ساعت باعث بهبود قابلیت جوانه‌زنی و رشد گیاهچه در تیمارهای ۰ و ۲ روز زوال در بذره‌های پیش‌آماده‌سازی شده با آب مقطر (هیدرو) و هورمون در مقایسه با زمان‌های کمتر شوک حرارتی شد؛ البته در سطوح ۲ و ۴ روز زوال برای بذره‌های پیش‌آماده‌سازی شده با سالیسیلیک اسید شوک حرارتی به مدت ۳ ساعت کارایی بهتری داشت (شکل ۱). درواقع بذره‌های پیش‌آماده‌سازی شده دارای مکانیسم‌های مربوط به طول عمر (تحمل به پسابیدگی) هستند که توسط تیمار پیش‌آماده‌سازی مختل می‌شود (۴۰). به‌عنوان مثال، نشان داده شد که در بذره‌های برنج پیش‌آماده‌سازی شده، از دست دادن طول عمر با کاهش متابولیسم نشاسته، تجمع مالون دی‌آلدهید و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی همراه است (۴۱) و (۳۳). مطالعه اثرات شوک حرارتی بر کیفیت و طول عمر بذره‌های گوجه‌فرنگی نشان داد که شوک حرارتی از طریق افزایش سطح mRNA ژن‌های مرتبط با پروتئین‌های شوک حرارتی (HSP) باعث افزایش طول عمر بذره‌های پیش‌آماده‌سازی شده گوجه‌فرنگی شد (۴۰). در بذره‌های سویا نیز افزایش سطح رونوشت ژن‌های پروتئین‌های شوک حرارتی (HSP) و پروتئین‌های شوک حرارتی کوچک (HSPs) با طول عمر بذر همبستگی داشت (۴۲). توانایی زنده‌ماندن در طول ذخیره‌سازی با DNA و سیستم‌های ترمیم پروتئین نیز مرتبط است که با حضور مشخص پروتئین‌هایی مانند لیگازهای DNA (۴۳) و پروتئین ال-ایزواسپارتیل متیل ترانسفراز (PMT) (۴۴) نشان داده می‌شود. مشاهده شد که بیان بیش از حد OsHSP18.2، یک HSP سیتوزولی کلاس II، تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) را کاهش می‌دهد و امکان افزایش سرعت جوانه‌زنی را پس از زوال کنترل شده در بذر آراییدوپسیس پس از شوک حرارتی فراهم می‌کند (۴۴)، که نشان‌دهنده سم‌زدایی ROS در طول ذخیره‌سازی است.

اثر هر یک از عوامل آزمایشی شامل پیش‌آماده‌سازی، زوال، تنش اسمزی (به جز درصد جوانه‌زنی و درصد گیاهچه طبیعی)، اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه آن‌ها بر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، گیاهچه طبیعی، طول گیاهچه و وزن خشک گیاهچه نیز معنی‌دار بود (جدول ۲). پیش‌آماده‌سازی + تنش اسمزی در تمام سطوح زوال باعث کاهش درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، درصد گیاهچه طبیعی، طول گیاهچه و وزن خشک گیاهچه در مقایسه با شاهد شد (شکل ۲). میزان کاهش هر یک از صفات ذکر شده با افزایش طول دوره زوال در بذره‌های پیش‌آماده‌سازی شده بیشتر از بذره‌های شاهد بود. در تیمار

دو روز زوال بیشترین درصد جوانه‌زنی (۶۹/۳۳ درصد)، سرعت جوانه‌زنی (۰/۰۴۰ بر ساعت) و درصد گیاهچه طبیعی (۵۸/۶۶ درصد)

جدول ۲- تجزیه واریانس برای درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، گیاهچه طبیعی، طول و وزن خشک گیاهچه گلرنگ تحت تأثیر پیش‌آماده‌سازی، زوال و تنش اسمزی.

Table 2- Analysis of variance for germination percentage, germination rate, normal seedling, length and dry weight of safflower seedling under the priming, deterioration and osmotic stress.

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	گیاهچه طبیعی Normal seedling	طول گیاهچه Length seedling	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight
زوال Deterioration	3	9154**	0.0034**	3871**	87**	109**
پیش‌آماده‌سازی priming	2	8028**	0.001**	8624**	19**	15**
تنش اسمزی Osmotic stress	1	8ns	0.0000005**	0.88ns	0.62*	0.45**
زوال × پیش‌آماده‌سازی D×P	6	1379**	0.00013**	1330**	5.84**	8.10**
زوال × تنش اسمزی D×O	3	8.59*	0.000033**	19**	6.54**	12**
پیش‌آماده‌سازی × تنش اسمزی P×O	2	98**	0.0001**	150**	0.54**	0.66**
زوال × پیش‌آماده‌سازی × تنش اسمزی D×P×O	6	87**	0.00016**	77**	12**	9**
خطای آزمایش Error	48	2.19	0.0000005	0.94	0.1	0.05
ضریب تغییرات (%) Coefficient of variation (%)		5.72	5.32	5.46	10.68	7.31

ns و ** به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد را نشان می‌دهد.

ns, * and ** indicate non-significance and significance at 5 and 1 % probability levels, respectively.

در تیمار شاهد (بدون پیش‌آماده‌سازی) مشاهده شد و میزان هر سه صفت مذکور در بذره‌ای پیش‌آماده‌سازی شده تحت تنش اسمزی به شدت کاهش یافت. به علاوه، در سطح دو روز زوال بذره‌ای تحت پیش‌آماده‌سازی با آب مقطر (هیدرو) از درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، درصد گیاهچه طبیعی، طول گیاهچه و وزن خشک گیاهچه بالاتری در مقایسه با بذره‌ای پیش‌آماده‌سازی شده با سالیسیلیک اسید برخوردار بود. (شکل ۲). در تمامی بذره‌ای پیش‌آماده‌سازی شده درصد جوانه‌زنی در تیمار چهار روز زوال نزدیک به صفر بود، اما بذره‌ای شاهد دارای ۳۴/۶۶ درصد جوانه‌زنی بودند. در تیمار شش روز زوال درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، درصد گیاهچه طبیعی، طول گیاهچه و وزن خشک گیاهچه تمامی بذره‌ای شاهد و پیش‌آماده‌سازی شده برابر صفر بود. همچنین در تیمار بدون زوال، بالاترین درصد جوانه‌زنی (۶۹/۳۳ درصد)، بیشترین سرعت جوانه‌زنی (۰/۰۴۰ بر ساعت) و بالاترین درصد گیاهچه طبیعی (۵۸/۶۶ درصد) در بذره‌ای شاهد مشاهده شد. (شکل ۲).

جدول ۳- تجزیه واریانس برای درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، گیاهچه طبیعی، طول و وزن خشک گیاهچه گلرنگ رقم سینا تحت تأثیر پیش‌آماده‌سازی، زوال و روش خشک کردن بذر.

Table 3- Analysis of variance for germination percentage, germination rate, normal seedling, length and dry weight of safflower seedling under the influence of priming, controlled deterioration and seed drying method.

وزن خشک گیاهچه dry weight of seedling	طول گیاهچه Length seedling	گیاهچه طبیعی Normal seedling	سرعت جوانه- زنی germination rate	درصد جوانه- زنی germination percentage	درجه آزادی df	منابع تغییرات S.O.V
206**	232**	19122**	0.0078**	24445**	3	زوال Deterioration
15**	33**	38ns	0.00048**	28ns	2	پیش‌آماده‌سازی Priming
0.67ns	3.73**	80ns	0.00023**	410**	1	خشک کردن Drying method
3.42**	7.02**	62*	0.00017**	69*	6	زوال × پیش‌آماده‌سازی D×P
0.21ns	0.63**	10.29ns	0.000082**	54	3	زوال × خشک کردن D×DM
0.17ns	1.06**	40ns	0.0002**	122*	2	پیش‌آماده‌سازی × خشک کردن P×DM
0.88*	1.38**	13ns	0.0001**	85*	6	زوال × پیش‌آماده‌سازی × خشک کردن D×P×DM
0.33	0.12	24	0.0000007	28	48	خطای آزمایش Error
11.47	6.66	12.07	3.44	11.14		ضریب تغییرات (%) Coefficient of variation (%)

ns, * و ** به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد را نشان می‌دهد.

ns, * and ** indicate non-significance and significance at 5 and 1 % probability levels, respectively.

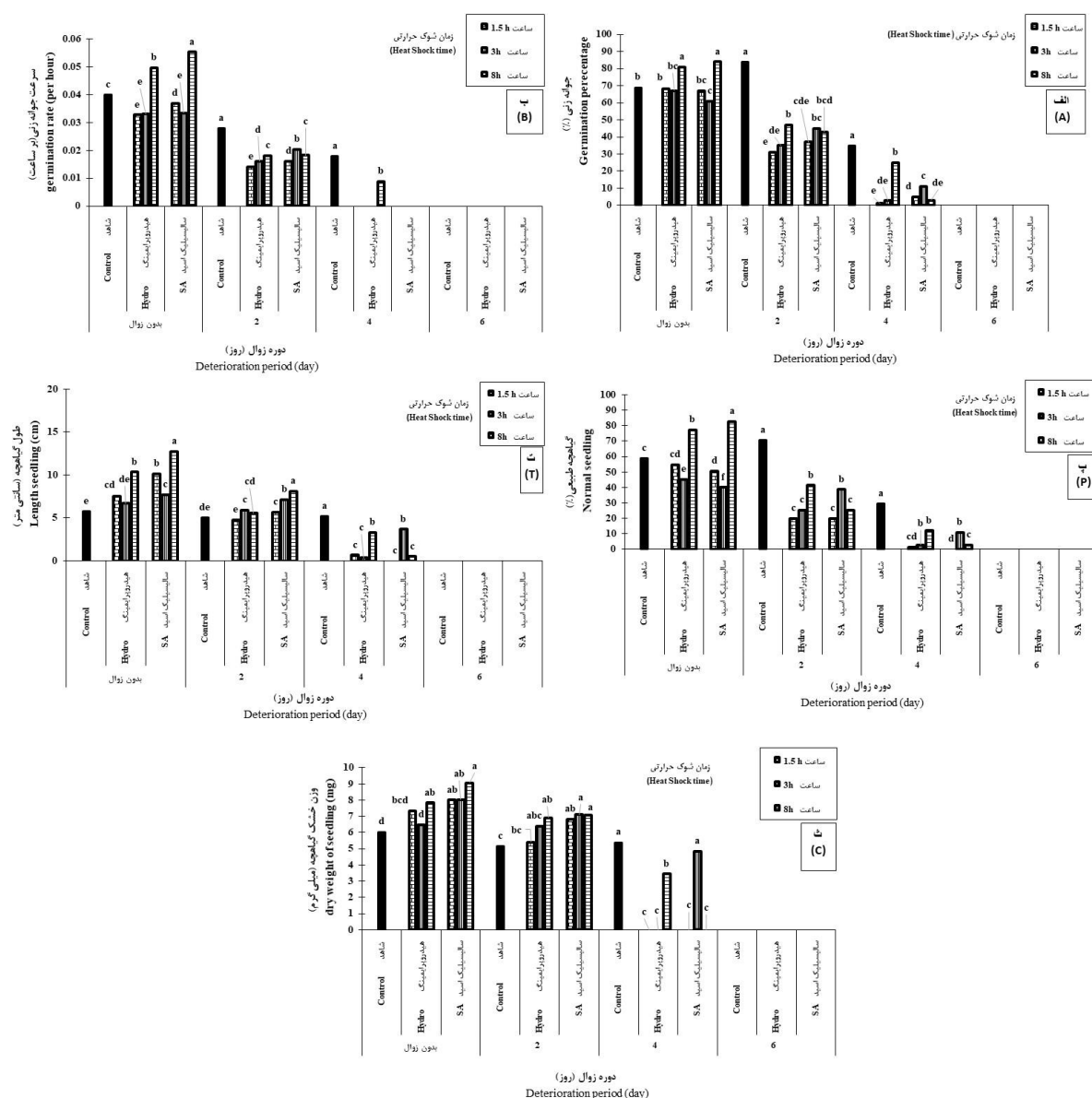
اعمال تنش اسمزی ۱/۵- و ۲/۵- مگاپاسکال پس از پیش‌آماده‌سازی باعث کاهش قابلیت جوانه‌زنی و رشد گیاهچه در مقایسه با بذرهای بدون پیش‌آماده‌سازی در هر دو شرایط با و بدون زوال شد (شکل ۲). هر چند که بروگینک و همکاران (۱۹۹۹) گزارش کردند که اعمال تنش اسمزی بلافاصله پس از پیش‌آماده‌سازی باعث افزایش طول عمر بذرهای پیش‌آماده‌سازی شده گل حنا می‌شود (۲۱)، اما ملک و همکاران (۲۰۱۹) نشان داد که در کلزا اعمال تنش اسمزی طول عمر بذرهای پیش‌آماده‌سازی شده را نسبت به شاهد کاهش داد (۲۸). در مطالعه حاضر نیز اعمال تنش اسمزی منجر به افزایش طول عمر بذرهای پیش‌آماده‌سازی شده نسبت به شاهد نشد.

نتایج تجزیه واریانس روش‌های خشک کردن بذر پس از پیش‌آماده‌سازی در طی زوال در جدول ۳ ارائه شده است. بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها، اثر ساده زوال بر تمامی صفات مورد بررسی معنی‌دار بود. اثر ساده پیش‌آماده‌سازی تنها بر سرعت جوانه‌زنی، طول و وزن خشک گیاهچه معنی‌دار بود. اثر ساده روش خشک کردن بذر بر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و طول گیاهچه معنی‌دار بود. اثر متقابل دوگانه زوال × پیش‌آماده‌سازی بر تمامی صفات، اثر

مقابل زوال × روش خشک کردن بر سرعت جوانه‌زنی و طول گیاهچه، اثر متقابل پیش‌آماده‌سازی × روش خشک کردن بر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و طول گیاهچه و اثر متقابل زوال × پیش‌آماده‌سازی × روش خشک کردن بر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول گیاهچه و وزن خشک گیاهچه معنی‌دار بود (جدول ۳). در سطح زوال صفر، بذره‌ای پیش‌آماده‌سازی شده + روش خشک کردن آرام باعث افزایش درصد جوانه‌زنی بذرها به ترتیب ۱۸ و ۱۲ درصد در مقایسه با بذره‌ای شاهد شد. در تیمار ۲ روز زوال، به ترتیب در روش پیش‌آماده‌سازی (آب مقطر (هیدرو) و ۵۰ پی پی ام)، روش خشک کردن آرام ۸۴ و ۸۰ درصد جوانه‌زنی در مقایسه با روش خشک کردن سریع ۷۸/۶۶ و ۷۲ درصد مشاهده شد. همچنین، در سطح ۴ روز زوال، پیش‌آماده‌سازی با آب مقطر (هیدرو) + روش خشک کردن آرام (۵۲ درصد) و پیش‌آماده‌سازی با ۵۰ پی پی ام سالیسیلیک اسید + روش خشک کردن آرام (۴۰ درصد) و یا سریع (۴۱/۳۳ درصد) باعث افزایش درصد جوانه‌زنی بذرها در مقایسه با شاهد (۳۴/۶۶ درصد) شدند (شکل ۳-الف). بذره‌ای پیش‌آماده‌سازی شده + روش خشک کردن آرام و سریع باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی بذره‌ای رقم سینا در مقایسه با بذره‌ای شاهد در سطح زوال صفر روز شد. در تیمار ۲ روز زوال، روش خشک کردن آرام و سریع در هر دو روش پیش‌آماده‌سازی باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی شد. همچنین بذره‌ای پیش‌آماده‌سازی شده با هورمون در سطح زوال ۲ روز دارای بیشترین سرعت جوانه‌زنی بود. همچنین، تیمارهای پیش‌آماده‌سازی با آب مقطر (هیدرو) + روش خشک کردن آرام و یا سریع و پیش‌آماده‌سازی با هورمون + روش خشک کردن آرام و یا سریع باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی بذرها در مقایسه با شاهد در سطح ۴ روز زوال شدند (شکل ۳-ب). در تیمار صفر روز زوال، درصد گیاهچه طبیعی در هر دو روش پیش‌آماده‌سازی و هر دو روش خشک کردن بالاتر از بذره‌ای شاهد بود (شکل ۳-پ). در تیمارهای ۲ و ۴ روز زوال اختلاف قابل توجهی بین بذره‌ای شاهد و بذره‌ای پیش‌آماده‌سازی شده تحت روش‌های مختلف خشک کردن از لحاظ درصد گیاهچه طبیعی مشاهده نشد به جز روش خشک کردن آرام در روش پیش‌آماده‌سازی با آب مقطر (هیدرو) در سطح ۴ روز زوال که از درصد گیاهچه طبیعی بالاتری در مقایسه با سایر تیمارها برخوردار بود (شکل ۳، پ). از طرفی، طول و وزن خشک گیاهچه در بذره‌ای پیش‌آماده‌سازی شده در سطوح مختلف زوال صرف نظر از روش خشک کردن بالاتر از بذره‌ای شاهد بود (شکل ۳، ت و ث). در پیش‌آماده‌سازی بذرها با آب مقطر (هیدرو) و هورمون و در سطوح مختلف زوال، بذره‌ای تحت روش خشک کردن سریع از طول گیاهچه بالاتری در مقایسه با بذره‌ای تحت روش خشک کردن آرام برخوردار بودند (شکل ۳، ت). از لحاظ وزن خشک گیاهچه، در سطح ۴ روز زوال، پیش‌آماده‌سازی با آب مقطر (هیدرو)، روش خشک کردن سریع از وزن خشک بالاتری در مقایسه با روش خشک کردن آرام برخوردار بود و در سایر تیمارها اختلافی بین روش‌های خشک کردن از لحاظ وزن خشک گیاهچه وجود نداشت (شکل ۳، ث).

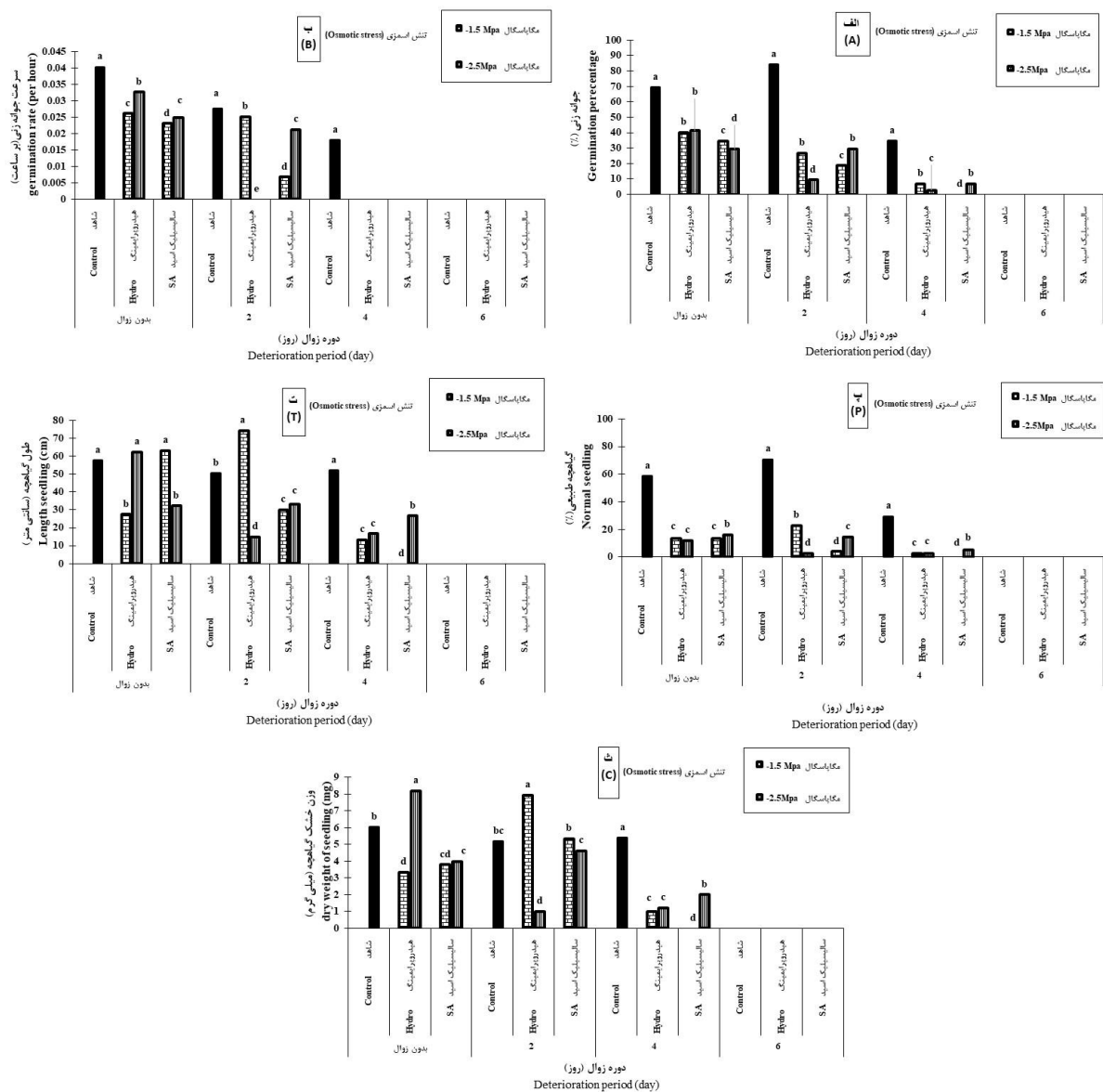
در مجموع، عدم استفاده از شوک حرارتی و تنش اسمزی پس از پیش‌آماده‌سازی در بذره‌ای گلرنگ به نتایج مطلوب‌تری منتهی شد، زیرا قابلیت جوانه‌زنی و رشد گیاهچه در بذره‌ای پیش‌آماده‌سازی شده گلرنگ که بلافاصله پس از پیش‌آماده‌سازی تنها در معرض روش‌های خشک شدن قرار گرفتند، بیشتر از بذره‌ای بود که قبل از خشک شدن در معرض شوک حرارتی و یا تنش اسمزی قرار گرفتند. هر دو روش خشک کردن باعث بهبود قابلیت جوانه‌زنی و رشد گیاهچه بذره‌ای پیش‌آماده‌سازی شده گلرنگ شدند، به طوری که قابلیت جوانه‌زنی و رشد گیاهچه بذره‌ای پیش‌آماده‌سازی شده یا بیشتر از بذره‌ای بدون پیش‌آماده‌سازی بود و یا اختلاف معنی‌داری با آن نداشت. از این رو، تنها در شرایط اعمال روش‌های خشک کردن پس از پیش‌آماده‌سازی، قابلیت ماندگاری بذره‌ای پیش‌آماده‌سازی شده گلرنگ در هنگام ذخیره‌سازی افزایش می‌یابد. با توجه به کاهش تحمل به پسابدگی پس از پیش‌آماده‌سازی، روش خشک کردن می‌تواند نقش مهمی در تعیین کیفیت و طول عمر بذرها در طی ذخیره‌سازی داشته باشد (۴۵). روش‌های مختلف خشک کردن بذره‌ای پیش‌آماده‌سازی شده می‌توانند باعث

بروز الگوهای متفاوتی از بیان ژن شوند و در نتیجه کیفیت و طول عمر بذرها در روش‌های مختلف خشک کردن متفاوت باشد (۳۳). به‌طور کلی، خشک کردن به روش آرام به منزله ادامه فرآیند جوانه‌زنی به مدت طولانی‌تر می‌باشد و پیشرفت بیش از حد متابولیسم جوانه‌زنی در بذره‌های پیش‌آماده‌سازی شده با کاهش تحمل به پسابیدگی، تخریب ساختارهای غشا به‌ویژه در محور جنین و افزایش نشت الکترولیت‌ها همراه است (۲۸). از این‌رو، روش خشک کردن سریع منجر به حفظ ساختار غشاها می‌شود و می‌تواند به افزایش طول عمر بذر کمک کند (۴۶ و ۳۲). افزایش تجمع اتانول در روش خشک کردن آرام از اثرات منفی دیگر در این روش به شمار می‌رود (۴۷). با این وجود، این یافته‌ها ممکن است در تمامی شرایط صادق نباشند، زیرا در برخی مطالعات استفاده از روش خشک کردن آرام باعث دستیابی به نتایج مطلوب‌تری شد (۲۳).



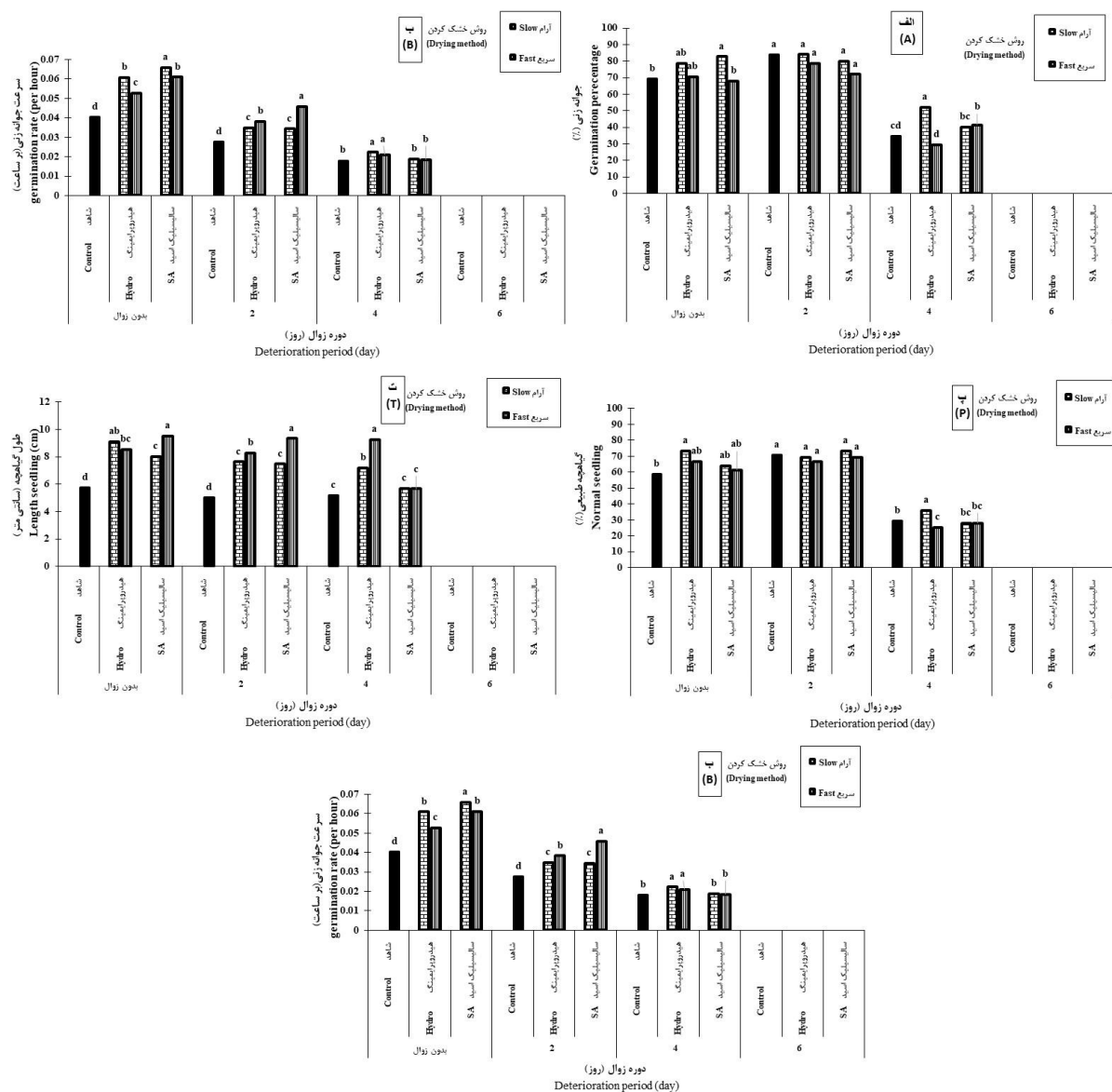
شکل ۱- درصد جوانه‌زنی (الف)، سرعت جوانه‌زنی (ب)، درصد گیاهچه طبیعی (پ)، طول گیاهچه (ت) و وزن خشک گیاهچه (ث) بذره‌های گلرنگ تحت تاثیر تیمارهای پیش‌آماده‌سازی، شوک حرارتی و زوال کنترل شده.

Figure 1- Germination percentage (A), germination rate (B), normal seedling percentage (P), seedling length (T) and seedling dry weight (C) of safflower seeds under the priming treatments, heat shock and controlled deterioration.



شکل ۲- درصد جوانه زنی (الف)، سرعت جوانه زنی (ب)، درصد گیاهچه طبیعی (پ)، طول گیاهچه (ت) و وزن خشک گیاهچه (ث) بذره‌های گلرنگ رقم سینا تحت تاثیر تیمارهای پیش‌آماده‌سازی، تنش اسمزی و زوال کنترل شده.

Figure 2- Germination percentage (A), germination rate (B), normal seedling percentage (P), seedling length (T) and seedling dry weight (C) of safflower seeds under the priming treatments, osmotic stress and controlled deterioration.



شکل ۳- درصد جوانه زنی (الف)، سرعت جوانه زنی (ب)، درصد گیاهچه طبیعی (پ)، طول گیاهچه (ت) و وزن خشک گیاهچه (ث) بذرهای گلرنگ رقم سینا تحت تاثیر تیمارهای پیش آماده سازی، روش خشک کردن و زوال کنترل شده.

Figure 3- Germination percentage (A), germination rate (B), normal seedling percentage (P), seedling length (T) and seedling dry weight (C) of safflower seeds under the priming treatments, drying method and controlled deterioration.

نتیجه گیری

به طور کلی، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که، پیش آماده سازی بذر بسته به شرایط، نه تنها کیفیت بذر را طی دوره ذخیره سازی کاهش نمی دهد بلکه با انتخاب تیمارهای مناسب، قابل افزایش نیز می باشد. در این پژوهش، کاربرد تیمارهای شوک حرارتی و نیز تنش اسمزی بلافاصله پس از پیش آماده سازی و قبل از خشک کردن بذر منجر به کاهش قابلیت جوانه زنی و رشد گیاهچه بذرهای پیش آماده سازی شده گلرنگ در مقایسه با بذرهای بدون پیش آماده سازی در شرایط زوال مصنوعی شد. این در حالی بود که زمانی که بذرهای پس از پیش آماده سازی بلافاصله به وسیله یکی از روش های آرام و یا سریع خشک شدند و هیچ تیمار اضافی به کار نرفت، قابلیت جوانه زنی و رشد گیاهچه در بذرهای پیش آماده سازی شده نسبت به بذرهای بدون پیش آماده سازی در سطوح مختلف زوال افزایش هم داشت. به طور خلاصه، خشک کردن بذر با روش مناسب

بلافاصله پس از پیش آماده سازی می تواند منجر به افزایش طول عمر بذرهای پیش آماده سازی شده در طی دوره ذخیره سازی شود.

فهرست منابع

- 1-Maghsoudi, E., Yadavi, A., Balouchi, H., Dehnavi, M. M., Piri, R., & Mastinu, A. (2024). Improving the physiological properties and yield of safflower by combining organic and chemical nitrogen in different irrigation cut-off conditions. *Industrial Crops and Products*, 222, 1-13.
- 2-Nile, S. H., Thiruvengadam, M., Wang, Y., Samynathan, R., Shariati, M. A., Rebezov, M., Nile, A., Sun, M., Venkidasamy, B., Xiao, J., & Kai, G. (2022). Nano-priming as emerging seed priming technology for sustainable agriculture—recent developments and future perspectives. *Journal of Nanobiotechnology*, 20(1), 1-31.
- 3-Thakur, M., Tiwari, S., Kataria, S., & Anand, A. (2022). Recent advances in seed priming strategies for enhancing planting value of vegetable seeds. *Scientia Horticulturae*, 305, p.111355.
- 4- Fallah, S., Malekzadeh, S., & Pessarakli, M. (2018). Seed priming improves seedling emergence and reduces oxidative stress in *Nigella sativa* under soil moisture stress. *Journal of Plant Nutrition*, 41(1), 29-40.
- 5- Silva, B. N. P., Masetto, T. E., & Rocha, L. G. (2024). An insight into seed priming response of *Crotalaria ochroleuca* and *Crotalaria spectabilis* during storage. *Brazilian Journal of Biology*, 84, p.e279806.
- 6- Tu, K., Cheng, Y., Pan, T., Wang, J., & Sun, Q. (2022). Effects of seed priming on vitality and preservation of pepper seeds. *Agriculture*, 12(5), p.603.
- 7-Pagano, A., Macovei, A., & Balestrazzi, A. (2023). Molecular dynamics of seed priming at the crossroads between basic and applied research. *Plant Cell Reports*, 42(4), 657-688.
- 8- Ren, M., Tan, B., Xu, J., Yang, Z., Zheng, H., Tang, Q., Zhang, X., & Wang, W. (2023). Priming methods affected deterioration speed of primed rice seeds by regulating reactive oxygen species accumulation, seed respiration and starch degradation. *Frontiers in Plant Science*, 14, p.1267103.
- 9- Sano, N., & Seo, M. (2019). Cell cycle inhibitors improve seed storability after priming treatments. *Journal of plant research*, 132, 263-271.
- 10- Sibande, G. A. K., Kabambe, V. H., Maliro, M. F. A., & Karoshi, V. (2015). Effect of priming techniques and seed storage period on soybean (*Glycine max* L.) germination. *Journal of Dynamics in Agricultural Research*, 2(5), 46-53.
- 11- Batista, T. B., Fernandez, G. J., Da Silva, T. A., Maia, J., & Da Silva, E. A. A. (2020). Transcriptome analysis in osmo-primed tomato seeds with enhanced longevity by heat shock treatment. *AoB PLANTS*, 12 (5) [online].
- 12- Piri, R., Moradi, A., & Hosseini-Moghaddam, M. (2018). Effect of accelerated aging and seed priming on germination and some biochemical indices of cumin (*Cuminum cyminum* L.). *Iranian Journal of Seed Science and Research*, 5(1), 69-81.
- 13- Singh, N., Bhuker, A., Pandey, V., Punia, H., Sourabh, Singh, B., Ahmad, A., Tyagi, A., & Malik, A. (2024). Nano-enhanced storage of American cotton using metal-oxide nanoparticles for improving seed quality traits. *Scientific Reports*, 14(1), 24445.

- 14- Bore, E. K., Ishikawa, E., Libron, J. A. M. A., Goto, K., Odama, E., Nakao, Y., Yabuta, S., & Sakagami, J. I. (2023). Primed seeds of NERICA 4 stored for long periods under high temperature and humidity conditions maintain germination rates. *Applied Sciences*, 13(5), 2869.
- 15- Bora, P. P., Barua, M., Deka, S.D., Das, P., & Barua, P. K. (2023). Influence of seed storage and priming on naturally aged seeds of aromatic Joha Rice. *International Journal of Environment and Climate Change*, 13(11), 372-383.
- 16- Ali, N., Rab, A., & Shah, Z. (2013). Role of pre storage seed priming in controlling seed deterioration during storage. *Sarhad Journal of Agriculture*, 29(3), 379-386.
- 17-Rasoolzadeh, L., Salehi Shanjani, P., & Jafari, A. A. (2020). Effects of seed priming on germination characteristics of *Achillea millefolium* seeds under different ageing treatment. *Journal of Medicinal plants and By-product*, 9(1), 79-89.
- 18-Kaya, M. D., Ergin, N., Harmancı, P., & Kulan, E. G. (2024). Seed priming as a method of preservation and restoration of sunflower seeds. *OCL*, 31 (4), 1-7
- 19- Jovicic, D., Ovuka, J., Nikolic, Z., Petrovic, G., Marinkovic, D., Stojanovic, M., & Tamindzic, G. (2022). Potential of two hydration treatments for improvement of sunflower seed vigour. *Seed Science and Technology*, 50(3), 357-366.
- 20- Panghal, V.P.S., Bhuker, A., Duhan, D.S., & Kumar, A. (2023). Maintaining onion seed quality during storage through seed priming. *Agricultural Reviews*, 44(2), 269-272.
- 21-Bruggink, G. T., Ooms, J., & Van der Toorn, P. (1999). Induction of longevity in primed seeds. *Seed Science Research*, 9(1): 49-53.
- 22- Adetunji, A.E., Adetunji, T.L., Varghese, B., Ser Shen., & Pammenter, N.W. (2021). Oxidative stress, ageing and methods of seed invigoration: an overview and perspectives. *Agronomy*, 11(12), p.2369.
- 23- Schwember, A. R., & Bradford, K. J. (2005). Drying rates following priming affect temperature sensitivity of germination and longevity of lettuce seeds. *HortScience*, 40(3), 778-781.
- 24- Fabrisin, I., Sano, N., Seo, M., & North, H. M. (2021). Ageing beautifully: can the benefits of seed priming be separated from a reduced lifespan trade-off?. *Journal of Experimental Botany*, 72(7): 2312-2333.
- 25- Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M., & Foolad, M. R. (2007). Heat tolerance in plants: an overview. *Environmental and Experimental Botany*, 61(3), 199-223.
- 26- Gurusinghe, S., Powell, A. L., & Bradford, K. J. (2002). Enhanced expression of BiP is associated with treatments that extend storage longevity of primed tomato seeds. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 127(4), 528-534.
- 27- Ansari, O., Sharifzadeh, F., Moradi, A., Azadi, M. S., & Younesi, E. (2013). Heat shock treatment can improve some seed germination indexes and enzyme activity in primed seeds with gibberellin of mountain rye (*Secale montanum*) under accelerated aging conditions. *Cercetari Agronomice in Moldova*, 4, 156.
- 28- Malek, M., Ghaderifar, F. Torabi, B., & Sadeghipour, H. R. (2019). Rapeseed seed viability reaction to priming treatments and drying conditions of primed seeds. *Journal of Agronomy*, 22(1), 27-4. [In Persian with English Summary].

- 29- Ventura, L., Dona, M., Macovei, A., Carbonera, D., Buttafava, A., Mondoni, A., Rossi, G., & Balestrazzi, A. (2012). Understanding the molecular pathways associated with seed vigor. *Plant Physiology and Biochemistry*, 60, 196-206.
- 30- Ratikanta, K. M. (2011). Seed priming: an efficient farmers' technology to improve seedling vigour, seedling establishment and crop productivity. *International Journal of Bio-resource and Stress Management*, 2, 297.
- 31- Ghaderifar, F., & Gorzin, M. (2018). Applied researches in seed technology. *Publications of Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources*. 240 p.
- 32- Demir, I., Ermis, S., & Okcu, G. (2005). Effect of dehydration temperature and relative humidity after priming on quality of pepper seeds. *Seed Science and Technology*, 33(3), 563-569.
- 33- Soeda, Y., Konings, M. C., Vorst, O., Van Houwelingen, A. M., Stoop, G. M., Maliepaard, C. A., Kodde, J., Bino, R. J., Groot, S. P., & Van Der Geest, A. H. (2005). Gene expression programs during *Brassica oleracea* seed maturation, osmopriming, and germination are indicators of progression of the germination process and the stress tolerance level. *Plant Physiology*, 137(1), 354-368.
- 34- Coolbear, P., Toledo, P., & Seetagos, U. (1992). Effects of temperature of pre-sowing hydration treatment and subsequent drying rates on the germination performance of celery seed. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 19(1), 9-14.
- 35- Bujalski, W., & Nienow, A. (1991). Large-scale osmotic priming of onion seeds: a comparison of different strategies for oxygenation. *Scientia Horticulturae*, 46(2), 13-24.
- 36- ISTA, 2009. International Rules for Seed Testing. *International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland*, pp: 48.
- 37- Ghaderi-Far, F., Alimagham, S. M., Kameli, A. M., & Jamali, M. (2012). Isabgol (*Plantago ovata* Forsk) seed germination and emergence as affected by environmental factors and planting depth. *International Journal of Plant Production*, 6, 185-194.
- 38- Li, W., Niu, Y., Zheng, Y., & Wang, Z. (2022). Advances in the understanding of reactive oxygen species-dependent regulation on seed dormancy, germination, and deterioration in crops. *Frontiers in Plant Science*, 13, p.826809.
- 39- Kumar, A., Nayak, A.K., Hanjagi, P.S., Kumari, K., Vijayakumar, S., Mohanty, S., Tripathi, R., & Panneerselvam, P. (2021). Submergence stress in rice: Adaptive mechanisms, coping strategies and future research needs. *Environmental and Experimental Botany*. 186, p.104448.
- 40- Hussain, S., Zheng, M., Khan, F., Khaliq, A., Fahad, S., Peng, S., Huang, J., Cui, K., & Nie, L. (2015). Benefits of rice seed priming are offset permanently by prolonged storage and the storage conditions. *Scientific Reports*, 5(1): 8101.
- 41- Lima, J. J. P., Buitink, J., Lalanne, D., Rossi, R. F., Pelletier, S., da Silva, E. A. A., & Leprince, O. (2017). Molecular characterization of the acquisition of longevity during seed maturation in soybean. *Plos One*, 12(7), 1-25.
- 42- Waterworth, W. M., Masnavi, G., Bhardwaj, R. M., Jiang, Q., Bray, C. M., & West, C. E. (2010). A plant DNA ligase is an important determinant of seed longevity. *The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology*, 63(5), 848-860.

- 43- Oge, L., Bourdais, G., Bove, J., Collet, B., Godin, B., Granier, F., Boutin, J. P., Job, D., Jullien, M. & Grappin, P. (2008). Protein repair L-isoaspartyl methyltransferase1 is involved in both seed longevity and germination vigor in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 20(11), 3022-3037.
- 44- Kaur, H., Petla, B. P., & Majee, M. (2016). Small heat shock proteins: roles in development, desiccation tolerance and seed longevity. In: Asea AAA, Calderwood S.; Kaur, P, eds. Heat shock proteins and plants. *New York: Springer*, 3-18.
- 45- Wang, W., He, A., Peng, S., Huang, J., Cui, K., & Nie, L. (2018). The effect of storage condition and duration on the deterioration of primed rice seeds. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1-17.
- 46- Bewley, J. D., Bradford, K., & Hilhorst, H. (2013). Seeds: physiology of development, germination and dormancy. *Springer Science and Business Media*. 392 pp
- 47- Kittiwatchana, W., Imsabai, W., Chanprame, S., & Thongket, T. (2021). Effects of drying rates on quality of Thai hot-chili (*Capsicum annuum* L.) seed after priming. *Agriculture and Natural Resources*, 55(5), 863-872.

Investigating the effects of heat shock, osmotic stress and drying methods on the viability of safflower primed seeds during deterioration period

Abstract

Background and purpose: In recent decades, seed priming has become a popular technique for enhancing germination rate and uniformity in the field, as well as promoting better seedling establishment and faster adaptation to adverse environmental conditions during germination and seedling growth. However, the practical application of this method has been limited due to the decline in seed quality and longevity associated with priming. Thus, this study aims to investigate the impact of post-priming treatments, such as heat shock, osmotic stress, and drying methods, on the longevity of safflower seeds under various deterioration periods.

Materials and methods: In this study, the seeds of the Sina cultivar were used. First, the seeds were immersed in distilled water (hydro) and salicylic acid solution. After the completion of the imbibed phase, they were subjected to heat shock treatments (1.5, 3 and 8 hours at 45 °C), osmotic stress (-1.5 and -2.5 MPa applied by polyethylene glycol), and two slow and fast drying methods. The treatment without priming was also considered as a control. Finally, the seeds were subjected to controlled deterioration for 0, 2, 4, and 6 days at 45 °C.

Results: The results indicated that as the duration of deterioration increased, the germination ability and seedling growth decreased. In the treatment where deterioration lasted for 6 days, the seeds died completely. The decline in quality of primed seeds was more severe under the conditions of heat shock and osmotic stress after priming, compared to the control seeds. However, heat shock (8 hours) resulted in improved quality of the primed seeds compared to shorter heat shock durations. The primed seeds with salicylic acid and distilled water (hydro) showed a 13% and 10% increase compared to the control treatment, respectively. Applying drying treatments after priming, without the use of heat shock and osmotic stress treatments, resulted in maintaining and even increasing the germination and seedling growth of primed seeds compared to unprimed seeds at various levels of deterioration. Both drying methods improved the germination and seedling growth of primed seeds, resulting in greater germination and seedling growth compared to non-primed seeds.

Conclusion: In general, it is advisable to employ an appropriate method to dry primed safflower seeds in order to maintain or enhance their longevity during the priming process and after the completion of the soaking period.

Keywords: Controlled deterioration, Seed enhancement treatments, Seed longevity, Storage.