مقاله پژوهشی

نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال شانزدهم، شماره ۶۲، تابستان ۱۴۰۰ / صفحات: ۴۹-۳۵
Doi: 10.30495/iper.2021.679513 Dor: 20.1001.1.76712423.1400.16.62.3.3

تغییرات شاخص‌های جوانه‌زنی و فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانتی بذرهای پنبه (*Gossypium hirsutum* L.) طی زوال

امید سنچولی[1]، فرشید قادری‌فر[1*]، حمیدرضا صادقی‌پور[2]

[1]گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

[2]گروه زیست‌شناسی، دانشگاه گلستان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۵/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۷/۲۱

چکیده

بذرها در طی انبارداری زوال یافته و پیر می‌شوند به طوری که سرعت این فرآیند به دما و رطوبت بذر در طی انبارداری بستگی دارد. این آزمایش به منظور مطالعه فعالیت سیستم آنتی اکسیدانتی در بذرهای پنبه رقم ارمغان در طی زوال صورت گرفت. برای ایجاد سطوح مختلف زوال از آزمون تسریع پیری استفاده شد. بذرهای پنبه به‌مدت ۰، ٤٨، ٩٦، ١٤٤ و١٩٢ ساعت در دمای ٤٣ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۱۰۰ درصد قرار گرفتند. نتایج نشان داد با افزایش دوره زوال هدایت الکتریکی غشاء، پراکسیداسیون لیپید و پراکسید هیدروژن افزایش یافت. افزایش پراکسید هیدروژن همراه با کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز و افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز و مقدار اسید آسکوربیک بود که نشاندهنده تاثیر کاهنده دوره زوال بر فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به آنزیم پراکسیداز و اسید آسکوربیک بود. همچنین با افزایش دوره زوال درصد، سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی کاهش یافت. به‌طور کلی نتایج این تحقیق بیانگر این مطلب است که یکی از دلایل اصلی زوال بذر در بذرهای پنبه، تنش اکسیداتیو ناشی از تجمع گونه‌های اکسیژن فعال و کاهش کارایی سیستم آنتی اکسیدانتی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: انبارداری بذر، پیری، قدرت بذر، تنش اکسیداتیو، گونه های اکسیژن فعال.

مقدمه

زوال بذر یک فرآیند اجتناب‌ناپذیر است و در کلیه بذرهای گیاهان رخ می‌دهد به‌طوری که شدت آن به کیفیت اولیه بذر، دما و رطوبت بذر در طی انبارداری بستگی دارد. هر چه رطوبت بذر و دما در طی انبارداری بالا باشد، بذرها سریع‌تر زوال می یابند و کاهش این عوامل، باعث افزایش دوره انبارداری بذرها می‌گردد (Basra et al., 2003).

مکانیزم‌های مختلفی برای علل زوال توسط محققین گزارش شده است که شامل غیر فعال شدن آنزیم‌های دخیل در جوانه زنی، افزایش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیز کننده، تجمع محصولات آمادوری و مایلارد و افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال[2] (ROS) می‌باشد(Bailly et al., 2008; Hussain et al., 2015; Murthy et al., 2003). اما با این وجود، یکی از دلایل اصلی زوال بذر، تولید و تجمع بیش از حد ROS در سطح سلول می‌باشد.

میتوکندری به همراه سیتوزول مسئول تولید انرژی برای متابولیسم بذر و همچنین مکان اصلی تولید ROS می‌باشد. بذرها نیز همانند تمام موجودات تنفس انجام می‌دهند و حتی در رطوبت‌های بسیار کم نیز تنفس توسط بذر صورت می گیرد. از این‌رو در

*نویسنده مسئول: farshidghadertifar@yahoo. com

2. Reactive oxygen species

بذرهای زنده نیز تولید ROS در هر شرایط رطوبتی و دمایی صورت می‌گیرد (Xia et al., 2015).

گزارشات حاکی از آن است که ROS باعث خسارت به بذر و در نتیجه باعث کاهش کارایی بذر می‌گردد (Lehner et al., 2008; Pukacka and Ratajczak, 2005). در مقابل جلوگیری از این خسارت، بذرها دارای یک سیستم دفاعی به نام آنتی اکسیدانت می‌باشند (Ghaderi-Far et al., 2014; Kibinza et al., 2011). در بذرها دو گروه سیستم آنتی اکسیدانت وجود دارد که اولی سیستم آنتی اکسیدانت غیرآنزیمی و دومی سیستم آنتی اکسیدانت آنزیمی است (Bailly, 2004). این دو سیستم به کمک هم از خسارت احتمالی ROS در بذرها جلوگیری می‌کنند. سیستم آنتی اکسیدانت غیرآنزیمی شامل اسید آسکوربیک، اسید آمینه پرولین وگلوتاتیون و آنتی‌اکسیدان محلول در فاز لیپیدی همچون توکوفرول است. این سیستم بیشتر در رطوبت‌های پایین در طی انبارداری فعال هستند و از خسارت ROS جلوگیری می‌کنند. اما در رطوبت‌های بالا، هم سیستم غیرآنزیمی و هم سیستم آنزیمی مسئولیت پالایش و سم‌زدایی ROS را به عهده دارند (McDonald, 1999). در سیستم آنزیمی، آنزیم‌هایی از قبیل کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیدار، گلوتاتیون ردوکتاز و سوپر اکسید دیسموتاز فعالیت دارند (Asada, 1992; Bowler et al., 1992). از این رو در شرایط مطلوب انبارداری، سیستم آنتی‌اکسیدانت موجود در بذر، صدمات ROS را کاهش می‌دهد. اما اگر شرایط انبارداری نامناسب باشد و دما و رطوبت بذر در طی انبارداری بالا باشد، تولید ROS در بذرها به‌دلیل مختل شدن ساختار و عمل میتوکندری، افزایش می‌یابد و در این شرایط سیستم دفاعی قادر به پالایش آنها نمی‌باشد و در نتیجه منجر به خسارت به غشاء سلول ها و مختل شدن ساختار غشاء، افزایش نشت مواد از بذرها و تغییرات DNA می‌گردد و پیامد نهایی آن کاهش قابلیت حیات و قدرت بذر می‌باشد (Kranner et al., 2011; Mao et al., 2018; Zhang et al., 2017).

گزارشات مختلف حاکی از آن است که در طی زوال، فعالیت سیستم آنتی اکسیدانتی دستخوش تغییر شده و منجر به تجمع زیاد ROS در بذرهای زوال یافته می‌گردد. در مطالعه‌ای روی بذرهای یولاف زراعی مشاهده شد زوال منجر به کاهش فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز گردید اما بین تیمارهای شاهد و بذرهای زوال یافته از لحاظ فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، مونودی هیدرو آسکوربات ردوکتاز و دی هیدرو آسکوربات ردوکتاز اختلافی وجود نداشت (Mao et al., 2018). Zhang و همکاران (۲۰۱۷) بیان داشتند که در طی انبارداری بذرهای گندم، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و دی هیدروژناز کاهش می‌یابد، که این کاهش با افت چشمگیر درصد جوانه‌زنی همراه بود. همچنین در بذرهای زوال یافته نخود ایرانی نیز کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در طی زوال گزارش شده است (Shaaban et al., 2017). در مطالعه ای دیگر، Bailly و همکاران (۱۹۹۶) گزارش کردند که با افزایش دوره زوال، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون ردوکتاز در بذرهای آفتابگردان کاهش می‌یابد.

پنبه یکی از گیاهان دومنظوره می‌باشد که از الیاف آن در صنعت نساجی و از بذرهای آن در روغن‌کشی استفاده می‌شود. بذرهای پنبه حدود ۲۰ درصد روغن دارد که بیشتر اسید چرب آن را اسید اولئیک، اسید لینولئیک، اسید پالمتیک و اسید استئاریک تشکیل می‌دهد (Dowd et al., 2010; Sawan et al., 2006). نظر به اینکه بذرهای روغنی مستعد پراکسیداسیون لیپید ناشی از تولید گونه‌های اکسیژن فعال در طی انبارداری می‌باشند، هدف این مطالعه بررسی سیستم

آنتی‌اکسیدانت غیرآنزیمی و آنزیمی بذرهای پنبه در طی انبارداری و ارتباط آن با کاهش شاخص های جوانه زنی بود.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش از بذرهای پنبه رقم ارمغان استفاده شد. بذرهای این رقم از موسسه تحقیقات پنبه کشور تهیه گردید و کلیه آزمایش ها در آزمایشگاه بذر گروه زراعت دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در سال ۱۳۹۰ اجرا شد. به‌منظور بررسی مکانیزم‌های زوال در بذرهای این رقم از آزمون تسریع پیری استفاده شد. برای این کار بذرهای پنبه در داخل ظروف پلاستیکی به ابعاد ۳/۵×۱۱×۱۱ سانتی‌متر که حاوی ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر بود، قرار داده شد. سپس درب ظرف‌ها کاملاً بسته شده و در دمای ثابت۴۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۰، ٤٨، ٩٦، ١٤٤ و ۱۹۲ساعت در داخل انکوباتور قرار داده شد. در طول آزمایش رطوبت نسبی داخل ظرف‌های پلاستیکی ۱۰۰ درصد بود. پس از گذشت زمان‌های مورد نظر، بذرها از ظرف‌ها خارج شده و در محیط آزمایشگاه خشک شده و آزمون‌های جوانه‌زنی، آزمون هدایت الکتریکی و آزمایشات بیوشیمیایی انجام شد.

آزمون جوانه‌زنی: برای انجام آزمون جوانه‌زنی در هر دما، ۳ تکرار۵۰ تایی از بذر شمارش و روی دو عدد کاغذ حوله‌ای به ابعاد ٤٥×۳۰ سانتی‌متر قرار گرفته و با کاغذی دیگر روی بذرها پوشانده شد (روش ساندویچ). برای جلوگیری از تبخیر رطوبت، حوله‌های کاغذی درون پلاستیک گذاشته شد. شمارش بذرها روزانه سه بار صورت می‌گرفت. معیار جوانه زنی خروج ریشه‌چه، به اندازه ۲ میلی‌متر یا بیشتر بود (Tahmasebi et al., 2015).

برای محاسبه درصد، سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی از برنامه germin استفاده شد (Soltani and Maddah, 2010). این برنامه از طریق درون یابی خطی درصد جوانه زنی تجمعی در مقابل زمان، صدک‌های مختلف جوانه زنی را محاسبه می‌کند. پس از محاسبه صدک‌های مختلف جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی از معکوس زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی (1/D50) محاسبه شد. یکنواختی جوانه‌زنی نیز از تفاضل زمان تا ۹۰ درصد جوانه زنی (D90) از زمان تا ۱۰ درصد جوانه‌زنی (D10) حاصل شد (GU=D90-D10).

آزمون رشد گیاهچه و قدرت گیاهچه: برای انجام آزمون رشدگیاهچه ۳ تکرار ۱۰ تایی از بذر شمارش و بر روی دو عدد کاغذ حوله‌ای به ابعاد ٤٥×۳۰ سانتی‌متر قرار گرفته و با کاغذی دیگر روی بذرها پوشانده شد (روش ساندویچ). برای جلوگیری از کاهش رطوبت، کاغذهای حوله‌ای درون پلاستیک گذاشته و سپس در داخل انکوباتور و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت هفت روز قرار گرفتند. در روز هفتم، طول و وزن خشک گیاهچه‌های طبیعی اندازه‌گیری شد. شاخص قدرت گیاهچه با کمک فرمول زیر محاسبه شد (Verma et al., 2003):

فرمول (۱)

درصد جوانه زنی × وزن خشک گیاهچه

(گرم)=شاخص قدرت گیاهچه

آزمون هدایت‌الکتریکی: برای انجام آزمون هدایت الکتریکی از هر رقم تعداد ۵۰ بذر در ۳ تکرار پس از توزین در بشرهای ۵۰۰ میلی لیتری قرار گرفتند و ۲۵۰ میلی لیتر آب مقطر (به‌منظور هم‌دمایی آب مقطر ٢٤ ساعت قبل در انکوباتور ۲۰ درجه قرار داده شده بود) به آن‌ها اضافه شد و بشرها با فویل بسته شدند و به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بعد از این مدت هدایت الکتریکی نمونه ها اندازه گیری و نتایج به صورت میکروزیمنس بر

سانتی‌متر بر گرم محاسبه شد (Hampton and TeKrony, 1995).

اندازه گیری لیپید هیدروپراکسیدها: به‌منظور برآورد میزان لیپید هیدروپراکسیدها، از روش استفاده شده توسط Griffiths و همکاران (۲۰۰۰) استفاده شد. ۰/۲ گرم بذر با ۱ میلی‌لیتر اسید استیک ۰/۱۵ مولار و ۲/۵ میلی‌لیتر کلروفرم و ۵ میلی‌لیتر متانول به‌مدت ۲ دقیقه بر روی یخ عصاره‌گیری شد. هاون و دسته هاون پس از انتقال عصاره به‌دست آمده به لوله آزمایش، با ۲/۲۵ میلی‌لیتر کلروفرم و ۲/۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر شستشو شد. این محلول نیز به عصاره قبلی اضافه گردید. عصاره به دست آمده با سرعت پائین و حدود ۱۰۰۰g به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق سانتریفوژ شد. پس از سانتریفوژ، فاز بالایی را دور ریخته و از فاز پائینی که در تاریکی و داخل یخ نگه داشته شده بود، برای اندازه‌گیری میزان لیپید هیدروپراکسید استفاده شد. در دو لوله آزمایش میزان ۱۰۰ میکرولیتر، یا مقادیر بیشتر (معمولاً یک میلی‌لیتر بسته به نمونه گیاهی) از فاز پائینی را به کمک گاز نیتروژن تبخیر کرده و بقایای به جا مانده در لوله شماره ۱ با ۱۰۰ میکرولیتر متانول و در لوله شماره ۲ با ۵۰ میکرولیتر متانول و ۵۰ میکرولیتر محلول تری فنیل فسفین (TPP) ۲۵ میلی‌مولار مجدداً حل شد. هر دو لوله به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق نگه‌داری شد و پس از این مدت به هر دو لوله مقدار ۹۰۰ میکرولیتر معرف فاکس اضافه گردید و پس از ۳۰ دقیقه که لوله‌ها در تاریکی و دمای اتاق قرار گرفتند میزان جذب نور هرکدام در طول موج ۵۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر مدل (UV-1800 240V) قرائت شد. محلول بلانک حاوی ۱۰۰ میکرولیتر کلروفرم است که پس از تبخیر و اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر متانول تیمارهای بعدی روی آن انجام شد. نتایج به صورت میکرومول بر گرم وزن تر بذر گزارش شد.

اندازه‌گیری پراکسید هیدروژن: اندازه‌گیری میزان پراکسید هیدروژن به روش Velicova و همکاران (۲۰۰۰) انجام شد. برای این کار، ۰/۲ گرم بذر پوست کنده پنبه با ۳ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد در هاون چینی سرد ساییده و هموژنیزه گردید و عصاره حاصل به میکروتیوپ‌ها منتقل شد. میکروتیوپ‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۱۵۰۰۰gو دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. از عصاره حاصل برای اندازه‌گیری میزان پراکسید هیدروژن استفاده شد.

استخراج و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز و محتوای اسید آسکوربیک: اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز و میزان اسید آسکوربیک در بذرهای پنبه در تیمارهای مختلف زوال صورت گرفت. برای استخراج آنزیم کاتالاز از روش Kar و Mishra (۱۹۷٦) استفاده شد. برای استخراج آنزیم کاتالاز یک گرم بذر پوست کنده پنبه با ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج در هاون چینی درون ظرف یخ ساییده و عصاره حاصل در میکروتیوب ریخته شد. میکروتیوب‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ شده و فاز میانی در زیر لایه لیپیدی برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم استفاده شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Luck (۱۹٦۲) استفاده شد. سپس تغییرات جذب نور در طول موج ۲٤۰ نانومتر برای مدت زمان ۲ دقیقه اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم بر اساس آب اکسیژنه تجزیه شده در هر دقیقه به ازای هر گرم وزن تر بیان شد.

استخراج آنزیم پراکسیداز به روش Murthy و همکاران (۲۰۰۲) انجام شد. برای استخراج آنزیم پراکسیداز یک گرم بذر پوست کنده پنبه با ۳ میلی لیتر بافر استخراج در هاون چینی درون ظرف یخ ساییده و هموژنیزه و عصاره حاصل پس از انتقال به

میکروتیوب، به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ شدند. پس از سانتریفیوژ، فاز میانی در زیر لایه لیپیدی برای اندازه گیری فعالیت آنزیم استفاده شد. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش Resenda و همکاران (۲۰۰۲) با اندکی تغییرات انجام شد. تغییرات جذب نور در اثر تولید پورپوروگالین از پیروگالول در طول موج ٤٢٠ نانومتر برای مدت زمان ۲ دقیقه با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

استخراج و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با روش ارائه شده توسط Murthy و همکاران (۲۰۰۲) صورت گرفت. برای این کار مقدار ۰/۲ گرم بذر با ۲ میلی متر بافر استخراج در هاون چینی سرد ساییده و هموژنیزه و عصاره حاصل پس از انتقال به میکروتیوب، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی گراد در ۱۵۰۰۰g سانتریفیوژ شدند و عصاره حاصل برای اندازه گیری فعالیت انزیم آسکوربات پراکسیداز استفاده شد. تغییرات جذب نور ر طول موج ۲۹۰ نانومتر برای مدت زمان ۳ دقیقه با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

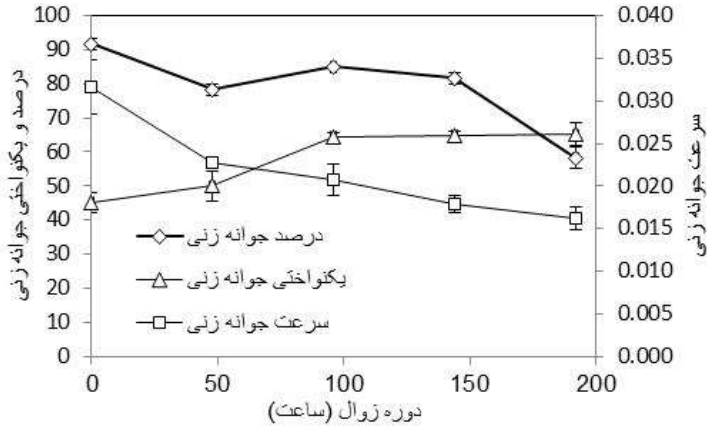
اندازه‌گیری میزان اسید آسکوربیک به روش ارائه شده توسط Zhang و همکاران (۲۰۰۹) همراه با تغییراتی صورت گرفت. برای این کار ۰/۲ گرم بذر با ۲ میلی لیتر اسید پرکلریک ۰/۵ میلی‌مولار در هاون سرد ساییده و در لوله‌های اپندروف ریخته و در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۱۰۰۰۰ g به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و از فاز بالایی برای تجزیه مقدار اسید آسکوربیک استفاده شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از محلول حاوی عصاره درون لوله آزمایش ریخته و به آن مقادیر ۱ میلی‌لیتر کلریدآهن و ۱ میلی‌لیتر سیانید آهن پتاسیم اضافه شد. سپس حجم آن را با آب مقطر به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد و لوله‌های حاوی نمونه به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) نگه‌داری شد و سپس جذب نور در طول موج ۷۳۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد.

تجزیه و تحلیل آماری

کلیه تجزیه و تحلیل داده‌ها در قالب طرح کاملا تصادفی با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS انجام شد (Soltani, 2007).

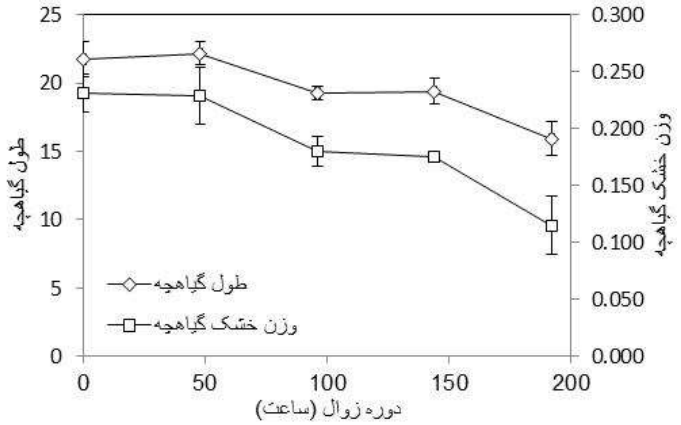
نتایج

در شکل ۱، واکنش مولفه‌های جوانه زنی بذرهای پنبه رقم ارمغان در پاسخ به دوره‌های زوال ارائه شده است. همانطور که مشاهده می‌شود با افزایش دوره زوال درصد و سرعت جوانه‌زنی کاهش یافت که درصد کاهش در سرعت جوانه‌زنی بذرها بیشتر از کاهش درصد جوانه‌زنی بود. به طوری که این کاهش برای درصد جوانه‌زنی در دوره‌های ٤٨، ٩٦، ١٤٤ و ۱۹۲ساعت زوال نسبت به شاهد به‌ترتیب ۱۵، ۷، ۱۱ و ۳٦ درصد و برای سرعت جوانه‌زنی به ترتیب ۲۸، ۳۵، ٤٤ و ٤٩ درصد بود. یکنواختی جوانه‌زنی نیز یکی از مولفه های جوانه‌زنی می باشد و هر چه مقدار عددی آن کوچکتر باشد، نشاندهنده جوانه‌زنی یکنواخت محموله بذری مورد نظر می باشد. با افزایش شدت زوال، یکنواختی جوانه‌زنی کاهش یافت که این کاهش در تیمارهای ٩٦، ١٤٤ و ١٩٢ ساعت مشهودتر بود و درصد کاهش یکنواختی در این تیمارها نسبت به شاهد در حدود ۳۰ درصد بود (شکل ۱).



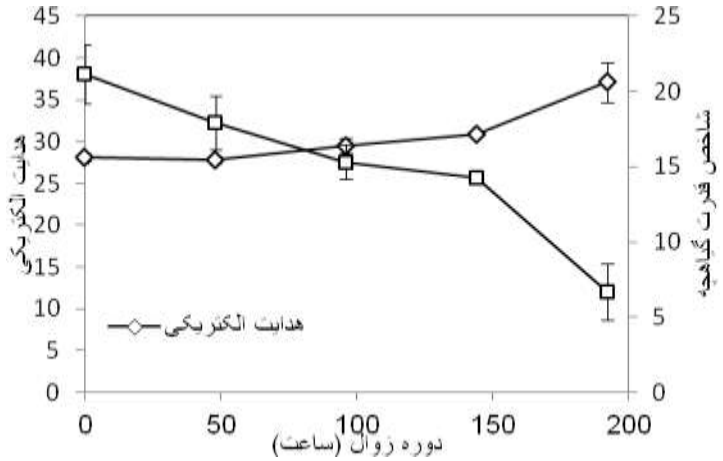
شکل ۱: اثرات دوره زوال بر درصد، یکنواختی (ساعت) و سرعت جوانه‌زنی بذرهای پنبه.
میله‌های عمودی نشاندهنده انحراف معیار هر تیمار می‌باشد.

طول و وزن خشک گیاهچه نیز تحت تاثیر دوره زوال قرار گرفت (شکل۲). با افزایش دوره زوال هم طول و هم وزن خشک گیاهچه کاهش یافت که درصد کاهش در وزن خشک گیاهچه بیشتر از طول گیاهچه بود. درصد کاهش طول گیاهچه و وزن خشک گیاهچه در تیمار زوال شدید (۱۹۲ساعت زوال) نسبت به شاهد به‌ترتیب ۲۷ و ۵۰ درصد بود.



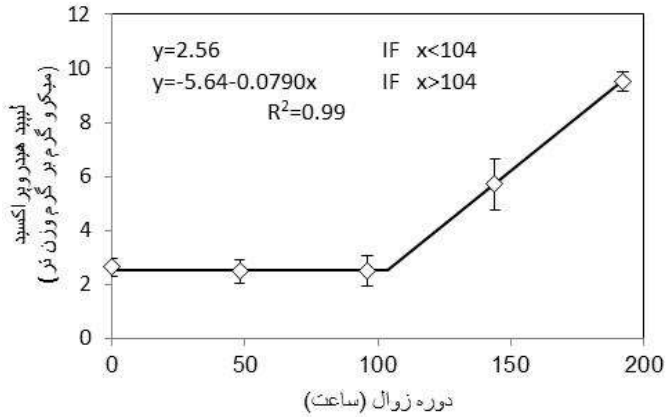
شکل ۲: اثرات دوره زوال بر طول (سانتی متر) و وزن خشک (گرم) گیاهچه بذرهای پنبه.
میله‌های عمودی نشاندهنده انحراف معیار هر تیمار می‌باشد.

شاخص قدرت گیاهچه و آزمون هدایت الکتریکی از پارامترهای مهم قدرت بذر می باشد. با افزایش دوره زوال، شاخص قدرت گیاهچه کاهش یافت (شکل ۳). این کاهش در دوره‌های ٤٨، ٩٦، ١٤٤ و ١٩٢ ساعت زوال نسبت به شاهد به ترتیب ١٥، ٢٨، ٣٢ و ٦٨ درصد بود. هدایت الکتریکی نیز تحت تاثیر زوال قرار گرفت. با افزایش دوره زوال هدایت الکتریکی بذرها که نشاندهنده آسیب به غشاءها است، افزایش یافت (شکل ۳). مقدار عددی این شاخص در تیمار ۰، ٤٨، ٩٦، ١٤٤ و ١٩٢ ساعت زوال به ترتیب ٢٨/٠، ٢٧/٨، ٢٩/٥، ٣٠/٩ و ٣٧/١ میکروزیمنس بر سانتی متر برگرم بذر بود.



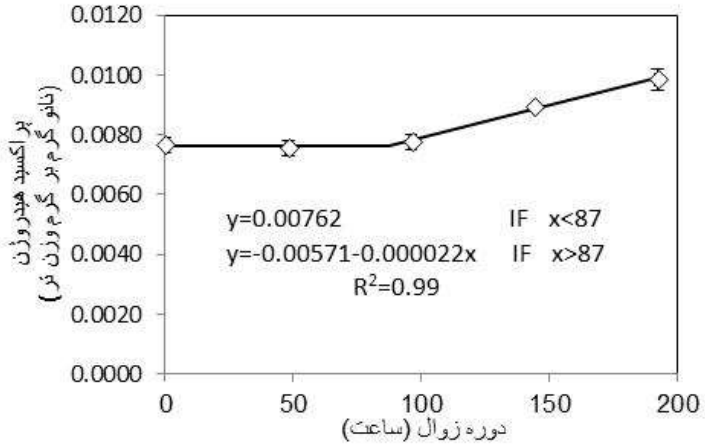
شکل ۳: اثرات دوره زوال بر هدایت‌الکتریکی (میکروزیمنس بر سانتی متر بر گرم) و شاخص قدرت گیاهچه بذرهای پنبه. میله‌های عمودی نشاندهنده انحراف معیار هر تیمار می باشد.

لیپید هیدروپراکسیدها که شاخصی از پراکسیداسیون لیپید می‌باشد نیز تحت تاثیر دوره زوال قرار گرفت (شکل ٤). با افزایش دوره زوال از صفر تا ۱۰٤ساعت زوال، این پارامتر تحت تاثیر زوال قرار نگرفت اما با افزایش بیشتر دوره زوال، مقدار لیپید هیدروپراکسید در بذرهای پنبه به صورت خطی افزایش یافت.



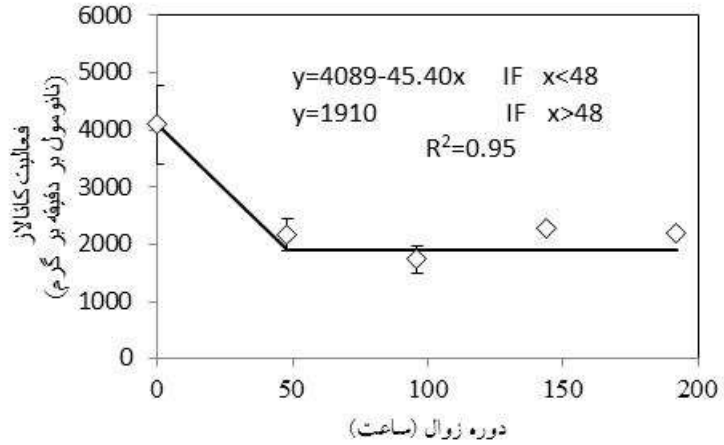
شکل ٤: اثرات دوره زوال بر مقدار لیپید هیدروپراکسید بذرهای پنبه. به داده های مقدار لیپید هیدروپراکسید در مقابل دوره زوال مدل دو تکه‌ای برازش داده شد. میله‌های عمودی نشاندهنده انحراف معیار هر تیمار می باشد.

همانند لیپید هیدروپراکسیدها، پراکسید هیدروژن نیز در طی زوال دستخوش تغییر شد که الگوی تغییر پراکسید هیدروژن مشابه لیپید هیدروپراکسیدها بود (شکل ٥). با افزایش دوره زوال تا ۸۷ ساعت، تولید پراکسید هیدروژن در بذرها ثابت بود و با افزایش دوره زوال از ۸۷ به ۱۹۲ساعت، تولید آن به صورت خطی افزایش یافت.

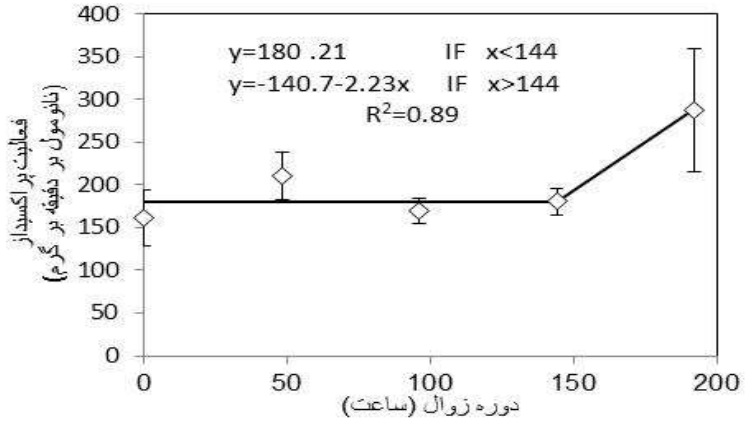


شکل ۵: اثرات دوره زوال بر مقدار پراکسید هیدروژن بذرهای پنبه. به داده‌های مقدار پراکسید هیدروژن در مقابل دوره زوال مدل دو تکه ای برازش داده شد. میله‌های عمودی نشاندهنده انحراف معیار هر تیمار می باشد.

فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در بذرهای پنبه در دوره‌های مختلف زوال اندازه‌گیری شد (شکل های ٦ و ٧). فعالیت آنزیم کاتالاز در پاسخ به دوره‌های زوال کاهشی بود (شکل ٦). با افزایش دوره زوال تا ٤٨ ساعت، فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش یافت و با افزایش بیشتر دوره زوال، تغییری در فعالیت این آنزیم مشاهده نشد و از یک الگوی ثابت تبعیت کرد. در حالی این الگو در آنزیم پراکسیداز برعکس بوده و فعالیت این آنزیم یک روند افزایشی داشت. به طوری که تا ١٤٤ ساعت زوال، فعالیت این آنزیم ثابت بود و با افزایش بیشتر دوره زوال (۱۹۲ساعت)، فعالیت این آنزیم به شدت افزایش یافت. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز در تیمارهای مختلف قابل اندازه‌گیری نبود که بیانگر فعالیت بسیار پایین این آنزیم در بذرهای خشک بود.

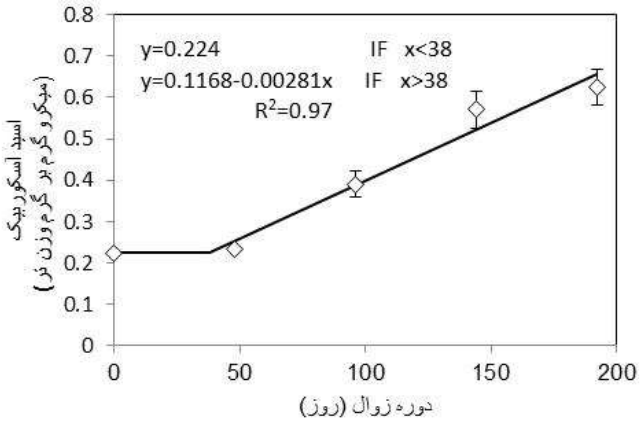


شکل ٦: اثرات دوره زوال بر فعالیت آنزیم کاتالاز بذرهای پنبه. به داده های فعالیت آنزیم در مقابل دوره زوال مدل دو تکه‌ای برازش داده شد. میله‌های عمودی نشاندهنده انحراف معیار هر تیمار می‌باشد.



شکل ۷: اثرات دوره زوال بر فعالیت آنزیم پراکسیداز بذرهای پنبه. به داده های فعالیت آنزیم پراکسیداز در مقابل دوره زوال مدل دو تکه‌ای برازش داده شد. میله های عمودی نشاندهنده انحراف معیار هر تیمار می باشد.

مقدار اسید آسکوربیک در بذرهای پنبه در طی زوال دستخوش تغییر شد (شکل ۸). با افزایش دوره زوال تا ۳۸ ساعت، مقدار این ترکیب در بذرها ثابت بود و با افزایش تدریجی دوره زوال از ۳۸ به ۱۹۲ ساعت، مقدار اسید آسکوربیک به صورت خطی افزایش یافت. به طوری که مقدار این ترکیب در بذرهای شاهد و ۱۹۲ ساعت زوال به‌ترتیب ۲/٦٤١ و ۹/۵۱۵ میکرو گرم بر گرم وزن تر بود.



شکل ۸: اثرات دوره زوال بر مقدار اسید آسکوربیک بذرهای پنبه. به داده‌های مقدار اسید آسکوربیک در مقابل دوره زوال مدل دو تکه ای برازش داده شد. میله های عمودی نشاندهنده انحراف معیار هر تیمار می باشد.

بحث

پیری بذر فرآیندی اجتناب ناپذیر است و در بذرهای همه گونه‌های گیاهی و در هر شرایط نگهداری رخ می‌دهد و سرعت آن بسته به محوله بذری و شرایط انبارداری متفاوت می‌باشد. در این مطالعه مشاهده شد که مولفه‌های جوانه‌زنی بذرهای پنبه از قبیل درصد، سرعت و یکنواختی با افزایش دوره زوال کاهش یافت (شکل ۱). کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی در بذرهای گیاهان مختلف نیز گزارش شده است (Bao et al., 2011; Corbineau et al., 2002). درصد کاهش مولفه‌های جوانه‌زنی با کاهش طول و وزن خشک گیاهچه نیز همراه بود

(شکل ۲). علت کاهش رشد گیاهچه‌های ناشی از بذرهای زوال یافته را می‌توان در وهله اول به کاهش انتقال ذخایر از لپه‌ها به محور جنینی و در وهله دوم به کاهش کارایی تبدیل ذخایر به تولید گیاهچه نسبت داد (Soltani et al., 2006). Shaaban و همکاران (۲۰۱۶) بیان داشتند که زوال منجر به کاهش انتقال ذخایر و کارایی استفاده از ذخایر در بذرهای نخود می‌گردد. این کاهش انتقال ذخایر و کارایی استفاده از ذخایر را می‌توان به کاهش فعالیت‌های آنزیم‌های دخیل در شکستن ذخایر و جوانه‌زنی نسبت داد.

شاخص قدرت گیاهچه نیز تحت تاثیر زوال قرار گرفت (شکل ۳). در واقع این شاخص از حاصل ضرب درصد جوانه زنی در وزن خشک گیاهچه های تولید شده در تیمارهای مختلف زوال به دست می‌آید. با افزایش دوره زوال، این شاخص کاهش یافت، که درصد کاهش این شاخص در مقایسه با مولفه های جوانه‌زنی در تیمارهای زوال شدید بیشتر بود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت در بذرهای پنبه، قدرت بذر بیشتر از قابلیت حیات بذر تحت تاثیر زوال قرار می‌گیرند و قدرت بذر اولین مولفه‌ای است که تحت تاثیر زوال قرار می‌گیرد.

هدایت الکتریکی بذرهای زوال یافته نیز دستخوش تغییر شد (شکل۳). همگام با کاهش درصد جوانه‌زنی و قدرت بذر، هدایت الکتریکی بذرها افزایش یافت. افزایش هدایت الکتریکی نشاندهنده نشت بیشتر مواد از بذرها و کاهش قدرت بذر می‌باشد. افزایش هدایت الکتریکی در بذرهای مختلف طی انبارداری گزارش شده است (Tahmasebi et al., 2015). در واقع افزایش هدایت الکتریکی نشاندهنده خسارت به غشاء ها در اثر تولید و تجمع ROS و پراکسیداسیون لیپید می‌باشد (Pukacka and Ratajczak, 2005). برای روشن شدن این موضوع در این تحقیق لیپید هیدروپراکسیدها که یکی از محصولات پراکسیداسیون لیپد می‌باشد، اندازه‌گیری شد. همانطور که در شکل ٤ مشاهده می‌شود در طی زوال بذرهای پنبه مقدار این ترکیب افزایش یافت به‌طوری که این افزایش با افزایش هدایت‌الکتریکی بذرها همراه بود. اکثر محققان برای بررسی خسارت به غشاء در اثر پراکسیداسیون لیپید، مالون دی آلدئید[1] را اندازه گیری می‌کنند (Sung and Jeng, 1994). اما در برخی گزارشات حاکی از آن است که با اینکه بذرها در طی زوال آسیب می‌بینند و هدایت الکتریکی آنها افزایش می‌یابد، اما مقدار مالون دی آلدئید افزایش نمی‌یابد و از این رو پراکسیداسیون لیپید را در طی زوال گزارش نمی‌کنند (De Paula et al., 1996; Mira et al., 2011). عدم ارتباط زوال با پراکسیداسیون لیپید را می‌توان با نوع ترکیبات اسیدهای چرب بذرها ارتباط داد. در واقع، مالون دی آلدئید تنها از اسیدهای چرب با ۳ یا تعداد بیشتری پیوند دوگانه شکل می‌گیرد در صورتی که بذرهای پنبه اغلب دارای سطوح بالایی از اسیدهای چرب با ۲ پیوند دوگانه یا کمتر می‌باشند (Dowd et al., 2010; Griffiths et al, 2000; Sawan et al., 2006). بنابراین در این مطالعه برای درک بهتر مکانیزم زوال در بذرهای پنبه، لیپید هیدروپراکسیدها اندازه گیری شد.

یکی از دلایل اصلی زوال بذرها، تولید و تجمع ROSمی‌باشد. پراکسیداسیون لیپید در نتیجه افزایش ROS رخ می‌دهد. علت این امر را می توان به واکنش ROS ها با مولکول های از قبیل پروتئین‌ها، لیپیدها و نوکلئیک اسید ارتباط داد، که منجر به آسیب به غشاء شده و باعث افزایش هدایت الکتریکی بذرهای زوال یافته می‌گردد (McDonald, 1999). یکی از انواع ROS، پراکسید هیدروژن می‌باشد. زنجیره تنفس میتوکندریایی یکی از مهم‌ترین منابع تولید ROS است بطوری که نشت الکترون از این زنجیره سبب تولید

1. Malondialdehyde

رادیکال سوپراکسید شده و پس از آن پراکسید هیدروژن از متابولیسم رادیکال سوپراکسید تولید می‌شود (Moller, 2001). همانطور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود زوال منجر به افزایش پراکسید هیدروژن در بذرهای پنبه شد که این افزایش با افزایش و تجمع لیپید هیدروپراکسیدها و افزایش هدایت‌الکتریکی بذرها همراه بود. در واقع می‌توان گفت در طی زوال بذرهای پنبه ROS با تجمع بیش از حد در سلول ها منجر به خسارت به غشاءها شده و کارایی سلول را کاهش می‌دهند. این نتایج با نتایج محققان دیگر همخوانی داشت. Kibinza و همکاران (۲۰۱۱) و Xia و همکاران (۲۰۱۵) بیان داشتند که در طی انبارداری نامناسب کیفیت بذرهای گیاهان آفتابگردان و یولاف کاهش می‌یابد، که این کاهش با تجمع گونه های اکسیژن فعال همراه بود.

افزایش و تجمع گونه‌های اکسیژن فعال (در این تحقیق پراکسید هیدروژن) و افزایش هدایت الکتریکی و لیپید هیدروپرکسیدها همراه با کاهش قابلیت حیات و قدرت بذر، نشاندهنده کاهش کارایی سیستم آنتی‌اکسیدان در بذرهای پنبه می‌باشد. همانطور که در شکل ٦ مشاهده می‌شود فعالیت آنزیم کاتالاز با افزایش دوره زوال، کاهش یافت. کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در طی زوال توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است (Kong et al., 2015; Lehner et al., 2008). همانند آنزیم کاتالاز، فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز تحت تاثیر دوره زوال قرار گرفت (شکل ۷). فعالیت این آنزیم با افزایش دوره زوال تا ١٤٤ ساعت ثابت بود اما با افزایش بیشتر دوره زوال تا ۱۹۲ ساعت، فعالیت این آنزیم به صورت خطی افزایش یافت. آنزیم پراکسیداز یکی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مهم در گیاهان می‌باشد که می‌توانند با اکسید کردن آسکوربات، پراکسید هیدروژن را غیرسمی و آن را به آب تبدیل کنند. این آنزیم توانایی واکنش مستقیم با رادیکال سوپراکسید و سایر ROS را نیز دارند که می‌تواند شدت آسیب را کاهش دهد (Foyer and Noctor, 2011). Verma et al., (2003) گزارش کردند که با افزایش دوره زوال فعالیت آنزیم پراکسیداز در بذرهای کلزا کاهش می‌یابد. پراکسیداز آنزیمی است که در شرایط تنش‌زا (همچون زوال بذر) می‌تواند القاء شود و چه بسا افزایش فعالیت پراکسیداز در اواخر دوره زوال بذرهای پنبه پاسخی به تنش‌های اکسایشی و یا پاتوژنی موجود در بذر باشد (Golubenko et al., 2007). در این مطالعه فعالیت این آنزیم قابل اندازه‌گیری نبود. این امر بیانگر این مطلب است که در بذرهای خشک پنبه فعالیت این آنزیم بسیار پایین است و شاید بتوان گفت با توجه به محتوای رطوبتی بذر احتمال انجام واکنش این آنزیم بسیار اندک باشد (Murthy and Sun, 2000).

در این مطالعه از میان آنتی‌اکسیدانت‌های غیر آنزیمی، اسید آسکوربیک اندازه‌گیری شد زیرا این ترکیب مستقیما در مسیر Asada-Halliwell شرکت دارد و نقش مهمی در حذف ROS بازی می‌کند (Pukacka and Ratajczak, 2005). با افزایش دوره زوال مقدار اسید آسکوربیک در بذرهای پنبه افزایش یافت (شکل ۸). توانایی اسید آسکوربیک برای اعطای الکترون در محدوده وسیعی از واکنش‌های آنزیمی و غیرآنزیمی، آن را به مهم‌ترین ترکیب سم‌زدای ROS در فاز آبی تبدیل کرده است و می‌تواند به طور مستقیم $^{-}O^{\bullet}_{2}$، $HO^{\bullet}$ و $^{1}O_{2}$ را پالایش کند و H_2O_2 را از طریق واکنش با آسکوربات پراکسیداز به H_2O تبدیل کند (Foyer and Noctor, 2011).

با افزایش دوره زوال در بذرهای پنبه، فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش و فعالیت آنزیم پراکسداز به همراه اسید آسکوربیک افزایش یافت و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز قابل اندازه‌گیری نبود.

کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بر اثر زوال بذر به کاهش سنتز پروتئین‌ها و همچنین نامحلول و غیرفعال شدن آنزیم‌ها نسبت داده شده است (Basra et al., 2003; Priestley, 1986). سوالی که پیش می‌آید این است که چرا با وجود بالا بودن فعالیت آنزیم پراکسیداز و اسید آسکوربیک در شدت زوال های بالا، پیری بذرهای پنبه رخ می دهد. جواب این سوال را می توان در سه بخش پاسخ داد. در بخش اول، کاتالاز یکی از آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی مؤثر در سیستم دفاعی در مقابله با تنش‌های غیرزنده است. این آنزیم می‌تواند به‌طور مستقیم پراکسیدهیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل کند و سمیت آن را خنثی نماید (Sarvajeet and Narendra, 2010). این آنزیم یکی از سریع‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های شناخته شده است که می‌تواند در کمتر از یک دقیقه شش میلیون مولکول پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل نماید (Azpilicueta et al., 2007). Kibinza و همکاران (۲۰۱۱) بیان داشتند که آنزیم کاتالاز آنزیمی کلیدی برای ترمیم خسارت وارده در اثر فعالیت گونه های اکسیژن فعال است و کاهش فعالیت این آنزیم به واسطه عدم ترمیم خسارت وارد به بذر، باعث کاهش قابلیت حیات بذر می‌گردد. در بخش دوم، با آن که میزان اسید آسکوربیک افزایش یافت اما این ترکیب به کمک آنزیم آسکوربات پراکسیداز موجب تجزیه و احیاء پراکسیدهیدروژن به آب می‌گردد (Foyer and Noctor, 2011) و با حذف پراکسیدهیدروژن علاوه بر کاهش خسارت ناشی از آن مانع تشکیل رادیکال خطرناک هیدروکسیل از پراکسیدهیدروژن و رادیکال سوپراکسید در طی واکنش هابر- وایس می‌گردد (McDonald, 1999; Sung and Jeng, 1994). نظر به اینکه در بذرهای زوال یافته و خشک پنبه فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز پایین می باشد و در نتیجه ممکن است کارایی اسید آسکوربیک کاهش یابد و افزایش مقدار آن در بذرهای زوال یافته احتمالاً مربوط به انباشته شدن فرم اکسیدی آن باشد که در پالایش و سم زدایی ROS نقش کمی دارد. در بخش سوم می توان به این نکته اشاره کرد که با این که اسید آسکوربیک دارای نقش مثبت به صورت مکانیزم دفاعی آنتی آکسیدانت دارد اما ممکن است دارای اثرات منفی نیز باشد. نظر به اینکه در این تحقیق بذرها خشک هستند در این شرایط ممکن است اسید آسکوربیک با یون های آهن واکنش نشان دهد (واکنش فنتون[1]) و باعث آزاد شدن یون هیدروکسیل گردد (De Tulio and Arrigoni, 2003). با توجه به این سه مورد می توان گفت که کارایی سیستم دفاعی آنتی اکسیدانت بذرهای پنبه در طی زوال کاهش یافته است که این کاهش با کاهش کیفیت بذر همراه بود.

نتیجه‌گیری نهایی

به‌طورکلی نتایج این تحقیق نشان داد که زوال منجر به افزایش هدایت الکتریکی و پراکسیداسیون لیپید در بذرهای پنبه شد. افزایش هدایت‌الکتریکی و پراکسیدسیون لیپید با تجمع ROS همراه بود. تجمع ROS نشاندهنده عدم کارایی سیستم آنتی‌اکسیدانتی در طی زوال می باشد. به‌عبارت دیگر به علت مختل شدن سیستم آنتی‌اکسیدانتی در بذرهای پنبه، این سیستم قادر به پالایش و سم زدایی ROS نبوده و در نتیجه منجر به کاهش کیفیت بذرهای پنبه در طی زوال می‌گردد. از این رو می‌توان مکانیزم اصلی زوال در بذرهای پنبه را افزایش تولید ROS و اختلال در سیستم آنتی‌اکسیدانتی بذر نسبت داد. برای روشن شدن بهتر این مکانیزم، لازم است که بذرهای زوال یافته پنبه، تحت تیمار پرایمینگ (به عنوان یکی از تیمارهای افزایش‌دهنده سیستم آنتی‌اکسیدانتی) قرار گیرند و سپس کیفیت بذر به همراه میزان ROS و فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانت آنزیمی و غیر آنزیمی اندازه‌گیری شود.

1. Fenton reaction

References

Asada, K. (1992). Ascorbate peroxidase – a hydrogen peroxide scavenging enzyme in plants. Physiologia Plantarum. 85: 235-241.

Azpilicueta, C.E., Benavides, M.P., Tomaro, M.L. and Gallego, S.M. (2007). Mechanism of CATA3 induction by cadmium in sunflower leaves. Plant Physiology and Biochemistry. 45: 589-595.

Bailly, C. (2004). Active oxygen species and anti-oxidants in seed biology. Seed Science Research. 14: 93-107.

Bailly, C., Benamar, A., Corbineau, F. and Come, D. (1996). Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seeds as related to deterioration during accelerated aging. Physiologia Plantarum. 97: 104-110.

Bailly, C., El-Maarouf-Bouteau, H. and Corbineau, F. (2008). From intracellular signaling networks to cell death: the dual role of reactive oxygen species in seed physiology. Comptes Rendus Biologies. 331: 806-814.

Bao, J., Sha, S. and Zhang, S. (2011). Changes in germinability, lipid peroxidation, and antioxidant enzyme activities in pear stock (*Pyrus betulaefolia* Bge.) seeds during room- and low temperature storage. Acta Physiological Plantarum. 33: 2035-2040.

Basra, S.M.A., Ahmad, N., Khan, M.M., Iqbal, N. and Cheema, M.A. (2003). Assessment of cottonseed deterioration during accelerated ageing. Seed Science and Technology. 31: 531-540.

Bowler, C., Van Montagu, M. and Inze, D. (1992). Superoxide dismutase and stress tolerance. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 43: 83-116.

Corbineau, F., Gay-Mathieu, C., Vinel, D. and Come, D. (2002). Decrease in sunflower seed viability caused by high temperature as related to energy metabolism, membrane damage and lipid composition. Physiologia Plantarum. 116: 489-496.

De Paula, M., Perez-Otaola, M., Darder, M., Torres, M., Frutos, G. and Martinez-Honduvilla, C.J. (1996). Function of the ascorbate-glutathione cycle in aged sunflower seeds. Physiologia Plantarum. 96: 543-550.

De Tulio, M.C. and Arrigoni, O. (2003). The ascorbic acid system in seeds: to protect and to serve. Seed Science Research. 13: 249-260.

Dowd, M.K., Boykin, D.L., Meredith, W.R., Campbell, B.T., Bourland, F.M., Gannaway, J.R., Glass, K.M. and Zhang, J. (2010). Fatty acid profiles of cottonseed genotypes from the national cotton variety trials. The Journal of Cotton Science. 14: 64-73.

Foyer, C.H. and Noctor, G. (2011). Ascorbate and glutathione: The heart of the redox hub. Plant Physiology. 155: 12–18.

Ghaderifar, F., Soltani, A. and Sadeghipour, H.H. (2014). Changes in soluble carbohydrates and the activity of enzymes for purifying active oxygen species in pumpkin seeds during storage at different temperatures and seed moisture content. Crop Production Publication. 7 (1): 157-179. (In persian with english abstract)

Golubenko, Z., Akhunov, A., Khashimova, N., Bresneva, Y., Mustakimova, E., Ibragimov, F., Abdurashidova, N. and Stipanovic, R. (2007). Induction of peroxidase as a disease resistance response in resistant (*Hibiscus trionum*) and susceptible (*Althea armeniaca*) species in the family Malvaceae. Phytopathology. 35: 401-413.

Griffiths, G., Leverentz, M., Silkowski, H., Gill, N. and Sanchez-serrano, J.J. (2000). Lipid hydroperoxide levels in plant tissues. Journal of Experimental Botany. 55: 555-558.

Hampton, J.G. and TeKrony, D.M. (1995). Handbook of Vigor Test Methods. The International Seed Testing Associastion, Zurich.

Hussain, S., Zheng, M., Khan, F., Khaliq, A., Fahad, S., Peng, S., Huang, J., Cui, K. and Nie, L. (2015). Benefits of rice seed priming are offset permanently by

prolonged storage and the storage conditions. Science Reports. 5: 1-12.

Kar, M. and Mishra, D. (1976). Catalase, peroxidase and plolyphenl oxidase activities during rice leaf senescence. Plant Physiology. 57: 315-319.

Kibinza, S., Bazin, J., Bailly, C., Farrant, J.M. and Corbineau, F. (2011). Catalaze is a enzyme in seed recovery from ageing during priming. Plant Science. 181: 309-315.

Kong, L., Huo, H. and Moa, P. (2015). Antioxidant response and related gene expression in aged oat seed. Frontiers in Plant Science. 6: 1-9.

Kranner, I., Chen, H., Pritchard, H.W., Pearce, S.R. and Birtic, S. (2011). Inter-uncleosomal DNA fragmentation and loss of RNA integrity during seed ageing. Plant Growth Regulation. 63: 63-72.

Lehner, A., Mamadou, N., Poels, P., Come, D., Bailly, C. and Corbineau, F. (2008). Chenges in soluble carbohydrates, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in the embryo during aging in wheat grains. Journal Cereal Science. 47: 555-565.

Luck, H. (1962). Methods of enzymatic analysis.E.D. By H.U. Bergmeyer (1st edition), VerlageChemieWeinheim, pp: 885-894.

Mao, C., Zhu, Y., Cheng, H., Yan, H., Zhao, L., Tang, J., Ma, X. and Mao, P. (2018). Nitric oxide regulates seedling growth and mitochondrial responses in aged oat seeds. International of Journal Molecular Sciences. 19: 1-18.

McDonald, M.B. (1999). Seed deterioration: physiology, repair and assessment. Seed Science and Technology. 27: 177–237.

Mira, S., Estrelles, E., Gonzalez-Benito, M.E. and Corbineau, F. (2011). Biochemical changes induced in seeds of *Brassicaceae* wild species during aging. Acta Physiologiae Plantarum. 33: 1803-1809.

Moller, I.M. (2001). Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 52: 561–591.

Murthy U.M.N. and W.Q. Sun. (2000). Protein modification by the Amadori and Maillard reactions during seed storage: roles of sugar hydrolysis and lipid peroxidation. Journal of Experimental Botany. 51: 1221–1228.

Murthy U.M.N., Kumar, P.P. and Sun, W.Q. (2003). Mechanisms of seed ageing under different storage conditions for *Vigna radiate* (L.) Wilczec: Lipid peroxidation, sugar hydrolysis, Maillard reactions and their relationship to glass state transition. Journal of Experimental Botany. 54: 1057-1067.

Murthy U.M.N., Liang, Y., Kumar, P.P. and Sun, W.Q. (2002). Non-enzymatic protein modification by the Maillard reaction reduces the activities of scavenging enzymes in *Vigna radiate*. Physiologia Plantarum. 115: 213-220.

Noctor, G. and Foyer, C. (1998). Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 49: 249–279.

Priestley, D.A. (1986). Seed ageing. Ithaca, New York: Cornell University press. Pp:304.

Pukacka, S. and Ratajczak, E. (2005). Production and scavenging of reactive oxygen species in Fagus sylvatica seeds during storage at varied temperature and humidity. Journal of Plant Physiology. 162: 873-885.

Resenda, M.L.V., Nojosa. G.B.A., Cavalcanti, L.S., Aguilar, M.A.G., Silva, L.H.C.P., Perez, J.O., Andrade, G.C.G., Carvalho, G.A. and Castro, R.M . (2002). Induction of resistance in cocoa against *crinipellis perniciosa* and *verticillium dahliae* by acibenzolar-s-methyl (ASM). Plant Pathology. 51: 621-628.

Sarvajeet, S.G. and Narendra, T.(2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in a biotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry. 3: 1-22.

Sawan, Z.M., Hafez, S.A., Basyony, A.E. and Alkassas, A.R. (2006). Cotton seed, protein, oil yields and oil properties as affected by nitrogen

fertilization and foliar application of potassium and a plant growth retardant. World Journal of Agricultural Sciences. 2: 56-65.

Shaaban, M., Ghaderi-Far, F., Sadeghipour, H.R. and Yamchi, A. (2016). Effect of Accelerated Ageing and Natural Storage on Germination, Seedling Growth and Reserves Depletion of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Seeds. Iranian Journal of Seed Research. 3(2): 89-103. (In persian with english abstract)

Shaaban, M., Ghaderi-Far, F., Sadeghipour, H. and Yamchi, A. (2017). The effect of natural storage and accelerated ageing on quantitative and qualitative changes of storage proteins and catalase enzymes in chickpea seeds. Plant Process Function. 6 (21): 323-339. (In persian with english abstract)

Soltani, A. (2010). Application of SAS software in statistical analysis. Mashhad University press of Jihad. (In persian)

Soltani, A., Gholipoor, M. and Zeinali, E. (2006). Seed reserve utilization and seedling growth of wheat as affected by drought and salinity. Environmental and Experimental Botany. 55: 195-200.

Sung, J.M. and T.L. Jeng. (1994). Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes associated with accelerated aging of peanut seed. Physiologia Plantarum. 91: 51-55.

Tahmasebi, B., Ghaderifar, F., Sadeghipour, H. R. and Gallic, Q. (2015). Effect of accelerated ageing on germination parameters, fatty acids and lipid hydroperoxides of sunflower seeds (*Helianthus annuus* L.). Process and Plant Function. 4 (12): 73-83. (In persian with english abstract)

Velicova, V., Yordanov, I. and Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated plants. Plant Science. 151: 59-66.

Verma, S.S., Verma, U. and Tomer, R.P.S. (2003). Studies on seed quality parameters in deteriorating seeds in Brassica (*Brassica campestris*). Seed Science and Technology. 31: 389-396.

Xia, F., Wang, X., Li, M. and Mao, P. (2015). Mitochondrial structural and antioxidant system response to aging in oat (*Avena sativa* L.) seeds with different moisture contents. Plant Physiology and Biochemistry. 94: 122-129.

Xin, X., Tian, Q., Yin, G., Chen, X., Zhang, J., Ng, S. and Lu, X. (2014). Reduced mitochondrial and ascorbate-glutathione activity after artificial ageing in soybean seed. Journal of Plant Physiology. 171: 140-147.

Zhang, H., Jing, L., Kui, W., Xinzhen, D. and Quanmin, L. (2009). A simple and sensitive assay for ascorbate using potassium ferricyanide as spectroscopic probe regent. Analytical Biochemistry. 388: 40-46

Zhang, S.B., Lv, Y.Y., Wang, Y.L., Jia, F., Wang, J.S. and Hu, Y.S. (2017). Physiochemical changes in wheat of different hardnesses during storage. Journal of Stored Products Research. 72: 161-167

Journal of Plant Environmental Physiology, Serial 62, 16th year, Number 2, Summer 2021

Changes in germination indices and the activity of antioxidant system of cottonseed (*Gossypium hirsutum* L.) during deterioration

Sancholi, O.[1], Ghaderi-Far, F.[1]*, Sadeghipour, H.R.[2]
[1]Department of Agronomy, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Gorgan, Iran
[2]Department of Biology, Golestan University, Gorgan, Iran

Received date: 2018/08/18 Accepted date: 2018/10/13

Abstract

Seeds deteriorate and become aged during storage so that the rate of this process depends on the temperature and seed moisture content. This experiment was conducted to study changes in the activity of antioxidant system of cottonseeds during deterioration. An Accelerated aging test was used to create different levels of deterioration. Cottonseeds were incubated at 43 ℃ for 0, 48, 96, 144, and 192 hours and 100% relative humidity. Results showed that the membrane electrical conductivity, lipid peroxidation, and hydrogen peroxide increased with lengthening of deterioration periods. Increase in hydrogen peroxide was accompanied with decreased activity of catalase and the increased activity and content of peroxidase and ascorbic acid, respectively, which indicates declined activity of catalase due to aging as compared with peroxidase activity and ascorbic acid content. Also, with an increase in the period of deterioration, percent, rate, and uniformity of germination reduced. In general, the study indicated that the oxidative stress due to the accumulation of reactive oxygen species and the reduction of the antioxidant system is one of the main reasons for cottonseed viability loss during storage.

Keywords: Aging, Oxidative stress, Reactive oxygen species, Seed storage, Seed vigor.

*Corresponding author; farshidghaderifar@yahoo.com