فصلنامه بوم‌شناسی گیاهان زراعی
جلد ۱۵، شماره ۲، صفحات ۵۷ – ۴۹
(تابستان ۱۳۹۸)

اثر پیری کنترل شده بر جوانه‌زنی، فعالیت بیوشیمیایی و آنزیمی گندم سیاه

آرزو پراور✉، سعیده ملکی فراهانی، شکوفه غلامی

گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران ✉ paravararezoo@yahoo.com **(مسئول مکاتبات)**

چکیده به منظور بررسی اثر پیری کنترل شده بر جوانه‌زنی، فعالیت بیوشیمیایی و آنزیمی گندم سیاه یک آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشگاه شاهد اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل مدت زمان پیری ۲، ۴ و ۷ روزه و محتوای رطوبت بذر ۱۰، ۲۰ و ۳۰٪ بود. صفاتی از قبیل درصد جوانه‌زنی، مدت زمان جوانه‌زنی، هدایت الکتریکی، پراکسیداسیون لیپید و فعالیت آنزیم کاتالاز اندازه‌گیری شد. اثر مدت زمان پیری، محتوای رطوبتی بذر و برهمکنش آنها بر صفات فوق آزمایش معنی‌دار بود. بالاترین میزان جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم کاتالاز در بذرهای پیر شده به مدت ۲ روز با محتوای رطوبتی ۲۰٪ مشاهده شد. مدت زمان جوانه‌زنی، هدایت الکتریکی و پراکسیداسیون لیپید در بذرهای پیر شده به مدت ۷ روز با محتوای رطوبتی ۳۰٪ به بیشترین مقدار خود رسید. همچنین، با افزایش محتوای رطوبتی و مدت زمان پیری بذر، سازوکارهای دخیل در پیری بذر افزایش یافته و با تأثیر بر فسفولیپیدهای غشای سلولی افزایش هدایت الکتریکی و پراکسیداسیون لیپید و کاهش جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم کاتالاز مشاهده شد. بنابراین، توصیه می‌شود برای جلوگیری از زوال بذرهای گندم سیاه در ذخیره‌سازی طولانی مدت و کوتاه مدت میزان محتوای رطوبتی ۱۰٪ باشد.

شناسه مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ پژوهش: ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۱/۳۱

تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۵/۲۷

واژه‌های کلیدی

- آنزیم کاتالاز
- پراکسیداسیون لیپید
- زوال بذر
- گندم گاوی
- ماندگاری بذر

این مقاله با دسترسی آزاد تحت شرایط و قوانین The Creative Commons of BY - NC - ND انتشار یافته است.

DOI: 10.22034/aej.2019.1872308.1101

مقدمه گندم سیاه[1]گیاهی یک‌ساله از تیره علف هفت‌بند، بومی آمریکاست و در مزارع شمال شرقی و شمال ایالات متحده کشت آن رایج است که به دلیل داشتن پروتئین غیرگلوتنی با ترکیب متعادل اسید آمینه شرایط محیطی نسبت به دیگر محصولات دانه‌ای کمتر مورد توجه قرار گرفته است. با این حال، گندم سیاه به شرایط نامطلوب رشد محیطی سازگاری خاصی دارد.[۲]

ماندگاری بذر یکی از ویژگی‌های مهمی است که از دیدگاه بوم‌شناختی و کشاورزی مورد توجه قرار گرفته است. بذرها بعد از برداشت بدون تردید دچار زوال می‌شوند و کیفیت اولیه خود را در طول انبارداری از دست می‌دهند. با پیشرفت تکنولوژی و صنعتی شدن محصولات کشاورزی تولیدی، نیاز به انبار کردن طولانی مدت بذر دیده می‌شود و هر چند به اندازه کافی به فرایند ذخیره سازی بذر توجه نشده است.[۱۵]

جوانه‌زنی و رشد گیاهچه یکی از مهمترین مراحل رشد گیاه است که تعیین کننده درجه موفقیت سیستم‌های زراعی در تولید می‌باشد که این مراحل به شدت تحت تأثیر کیفیت بذر است.[۱۳] فرایند زوال بذر بیشترین تأثیر را بر کیفیت بذر دارد و به عنوان یک مشکل جدی در بخش کشاورزی مطرح است.[۱۸] دوره زوال بذر منجر به از دست دادن بنیه بذر، حیات و قابلیت جوانه‌زنی می‌شود.[۱۳] با اعمال پیری روی بذرها، بذرهای با کیفیت کم، سریع‌تر از بذرهای با کیفیت بالا دچار زوال می‌شوند بنابراین، بذرهای با کیفیت بالا می‌توانند بهتر سبز شوند و در نهایت گیاهچه‌های بهتری تولید کنند.[۱۹]

چندین تغییر بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی در بذرهای زوال یافته اتفاق می‌افتد. نشت گونه‌های فعال اکسیژن از زنجیره انتقال الکترون میتوکندری در طی دوره زوال بذر به طور ناگهانی افزایش می‌یابد که به نوبه خود باعث آسیب اکسیداتیو اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها، چربی‌ها می‌گردد. بر اثر پیری، ماده ژنتیکی تخریب شده و این امر باعث اختلال در نسخه‌برداری و در نهایت عدم ساخت آنزیم‌های ضروری مورد نیاز برای مراحل اولیه جوانه‌زنی نظیر آمیلازها و آنتی‌اکسیدان‌ها می‌گردد.[۱۲] بدون فعالیت آنزیم‌ها، ذخایر بذر هیدرولیز نشده و در نتیجه مولکول‌های لازم برای ساخت حامل‌های انرژی مانند ATP قابل دسترس نخواهد بود.[۱۹] کاهش یکپارچگی غشای پلاسمایی، افزایش نشت الکترولیت، تغییر ساختمان مولکولی اسیدهای نوکلئیک و کاهش فعالیت آنزیم‌ها از مهمترین تغییراتی است که در زمان پیری بذر ایجاد می‌شود.[۲۰]

زئا و همکاران (۲۰۱۵) علت اصلی زوال بذرهای یولاف را، افزایش پراکسیداسیون لیپید و شروع فعالیت‌های رادیکال‌های آزاد در میتوکندری گزارش کردند و یادآور شدند تولید رادیکال‌های آزاد از طریق اکسیداسیون موجب وقوع پدیده پراکسیداسیون لیپیدی در بذرهای یولاف شد.[۱۹] *کنگ و همکاران (۲۰۱۵)* گزارش کردند که تجمع گونه‌های فعال اکسیژن در میتوکندری، کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت نظیر کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز را به همراه داشت.[۱۱] گزارش شده که افزایش محتوای رطوبتی بذر در دوره ذخیره سازی بذرهای جاتروفا[2]تجمع گونه فعال اکسیژن و پراکسیداسیون لیپید افزایش یافت و باعث تخریب غشاء سلولی، کاهش فعالیت‌های ATP در میتوکندری و کاهش جوانه‌زنی بذرهای زوال یافته شد.[۱۶] *لی و همکاران (۲۰۱۲)* نشان دادند تخریب غشاء سلول فاکتور کلیدی در کاهش جوانه‌زنی و افزایش هدایت الکتریکی بذرهای پیر شده نارون[3] بود.[۱۲]

[1] *Fagopyrum esculentum* Moench

[2] *Jatropha curcas*

[3] *Ulmus pumila* L.

رزا و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که دما و رطوبت مهمترین عوامل تأثیرگذار بر دوره ذخیره سازی بذرهای آشلانتوس[1]نیز بود، به عبارتی زمانی که دما و رطوبت نسبی در محیط ذخیره‌سازی افزایش یافت فعالیت‌های بیوشیمیایی، تنفس و اسیدهای چرب افزایش یافت و میزان جوانه‌زنی بذرهای پیر شده نسبت به شاهد کاهش یافت.[۱۴] *پراور و همکاران (۲۰۱۸)* گزارش کردند که با افزایش محتوای رطوبتی و زمان ذخیره‌سازی میزان جوانه‌زنی، وزن خشک گیاهچه و فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش یافت اما محتوای پراکسیداسیون لیپید افزایش یافت.[۱۳] در آزمایشی ذخیره‌سازی بذرهای کلزا در شرایط دمایی و رطوبتی گزارش شد و نشان دادند که افزایش دما و رطوبت بذر اثر منفی بر قابلیت جوانه‌زنی و شاخص‌های بنیه گیاهچه کلزا داشت.[۳]

بذر به عنوان واحد بنیادین تکوین از دیر باز مورد توجه بوده است و چیزی بیشتر از ماده مورد کاشت برای گیاهان هستند. سیستم های اکولوژیکی و مناظر طبیعی در سراسر دنیا به بذر وابسته هستند.[۴] به ندرت پیش می‌آید که بذرها بلافاصله بعد از برداشت، کاشته شوند و معمولا مدتی را تحت شرایط کنترل شده ذخیره می شوند. ذخیره سازی بذر بذر تا فصل بعدی رشد یا زمان فروش یکی از مراحل مهم در صنعت بذر است.[۲۰] بنابراین، عدم توجه دقیق و کافی به شرایط ذخیره سازی بذر گندم سیاه می تواند منجر به تنش اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپید بذرهای ذخیره شده شود که این امر استفاده گسترده از این گیاه را به عنوان بذر صنعتی یا دارویی محدود می سازد. شرایط پیری کنترل شده در بذر گندم سیاه در مطالعات دیگر تاکنون بررسی نشده است. هدف از انجام این پژوهش بررسی تاثیر شرایط ذخیره‌سازی کنترل شده بر جوانه‌زنی، فعالیت بیوشیمیایی و آنزیمی گندم سیاه است.

مواد و روش‌ها نمونه بذری بذرهای گندم سیاه از مزرعه تحقیقاتی شهرکرد با طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۵۱ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۲۰ دقیقه شمالی و ارتفاع ۲۰۱۶/۴ متر از سطح دریا تهیه شد.

تعیین محتوای رطوبتی بذر با استفاده از روش ایستا[۹] انجام گرفت. مقدار ۴/۵ گرم از نمونه بذر در شرایط دمایی ۱۳۳–۱۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۱ ساعت نگهداری و خشک شد. سپس بذرها به مدت ۳۰–۴۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری و در نهایت نمونه بذری دوباره توزین و محتوای رطوبتی آن اندازه‌گیری شد.

ابتدا رطوبت بذرها تا ۱۰، ۲۰ و ۳۰٪ افزایش داده شد. برای این منظور، از نمونه بذری سه تکرار به تعداد ۴۰۰ بذر به طور تصادفی شمارش و جدا شده و سپس مقدار آب لازم برای رسیدن به هر یک از سطوح رطوبت بذر مورد نظر محاسبه شد (معادله ۱) و به نمونه‌های بذری افزوده شد.

$$w2 = \frac{w1(A-B)}{1-A} \qquad \text{معادله (۱)}$$

A درصد رطوبت مورد نظر، B درصد رطوبت اولیه بذر، W_1 جرم اولیه توده بذر و W_2 جرم آب مقطر برحسب گرم بود.[۶] سپس بذرها داخل پاکت‌های آلومینیومی قرار گرفته و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰ درجه سلسیوس نگهداری شدند تا به رطوبت مورد نظر برسند.[۹]

بعد از تنظیم رطوبت بذر، پاکت‌های آلومینیومی سربسته برای ایجاد فرسودگی در بذرها، به مدت ۲، ۴ و ۷ روز در ظروف پتری سترون در آون با دمای ۴۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند. به هر ظرف پتری حدود ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون افزوده شد. بذرها در دمای ۱۰ درجه سلسیوس، ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی و ۷۵٪ رطوبت نسبی هوا

[1] *Amaranthus crueentus* L.

برای جوانه‌زنی در ژرمیناتور قرار داده شدند. طول دوره جوانه‌زنی ۱۴ روز در نظر گرفته شد. در هر تیمار، ۲۵ بذر داخل ظرف‌های پتری روی کاغذ واتمن شماره ۱ قرار داده شد.

برای محاسبه درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و متوسط زمان جوانه‌زنی از نرم‌افزار Germin استفاده شد.[۱۷]

جهت انجام آزمون هدایت الکتریکی، از هر تیمار سه تکرار ۱۰۰ بذری به تصادف انتخاب گردید. ابتدا وزن نمونه‌ها اندازه گیری و سپس نمونه‌ها به صورت جداگانه داخل ظروف در بسته با فویل آلومینیومی حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر به مدت ۲۴ ساعت غوطه‌ور شدند و یک ظرف محتوی آب دو بار تقطیر بدون بذر نیز به عنوان شاخصی از کیفیت آب (شاهد) در نظر گرفته شد. ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش ظروف محتوی آب دو بار تقطیر شده در دمای ۲۰ درجه سلسیوس قرار داده شد تا از لحاظ دما به تعادل برسند. بعد از مدت ۲۴ ساعت با استفاده از دستگاه هدایت‌سنج، هدایت الکتریکی بر حسب میکروزیمنس بر سانتی‌متر بر گرم هر ظرف اندازه‌گیری شد. سپس جهت تعیین میزان هدایت الکتریکی هر گرم نمونه بذر با استفاده از فرمول هدایت الکتریکی تعیین شد که به صورت عدد خوانده شده از دستگاه تقسیم بر وزن خشک ۱۰۰ عدد بذر به دست آمد.[۹]

به منظور برآورد میزان پراکسیداسیون لیپید، میزان تولید مالون دی آلدئید[1]در کل بذر اندازه‌گیری شد تا عملکرد سلول‌ها از نظر پراکسیداسیون لیپید بررسی شود. در این روش حدود ۰/۲۰۰ میلی گرم بذر خشک را با ۰/۵ میلی لیتر از تریکلرو استیک اسید ۵٪ در دمای ۴ درجه کوبیده و به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند سپس از مایع شفاف به دست آمده، به منظور سنجش مالون دی آلدئید استفاده شد.[۷]

فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان کاتالاز بذرهای پیر شده و پیر نشده گندم سیاه سنجیده شد تا سازوکارهای مسؤول حفاظت از گیاه در مقابل تنش اکسیداتیو مشخص شود. بدین جهت، مخلوط واکنشی محتوی ۰/۶ میلی‌لیتر از آنزیم استخراج شده، ۰/۱ میلی‌لیتر از پراکسیدهیدروژن (۱۰ میلی‌مول بر لیتر) و ۲ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات (۳۰ میلی مول بر لیتر و pH = 7) است. جذب در ۲۴۰ نانومتر قرائت شد.[۱] میزان پروتئین بذرهای پیر شده و پیر نشده طبق روش *برادفورد (۱۹۷۶)* سنجیده شد.[۵] ۵۰ میکرولیتر از هر عصاره به حجم ۱۰۰ میکرولیتر رسانده شد و سپس ۵ میلی‌لیتر محلول برادفورد به آن اضافه گردید و بعد از ورتکس کردن و گذشت ۱۵ دقیقه، جذب محلول در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد.

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشگاه شاهد اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل مدت زمان دوره پیری ۰، ۲، ۴ و ۷ روز، محتوای رطوبت بذر ۱۰، ۲۰ و۳۰٪ بود. تجزیه واریانس با استفاده از نرم افزار SAS 9.3.1 و مقایسه میانگین با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام گرفت.

نتایج و بحث

درصد و مدت زمان جوانه‌زنی

اثر مدت زمان پیری، محتوای رطوبتی بذر و اثر متقابل مدت زمان پیری و محتوای رطوبتی بذر بر میزان جوانه‌زنی در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۱). میزان جوانه‌زنی در بذرهای پیر نشده به ۹۰٪ رسید اما با افزایش محتوای رطوبتی و مدت زمان پیری جوانه‌زنی بذرهای پیر شده در مدت زمان ۷ روز پیری با محتوای رطوبتی ۳۰٪ تنها ۴۲/۶٪ بود. میزان جوانه-زنی بذرهای پیر شده در دو روز پیری با افزایش محتوای رطوبتی تا سطح ۲۰٪ به بیشترین مقدار رسید. جوانه‌زنی به طور

[1] malondialdehyde

جدول ۱) تجزیه واریانس جوانه‌زنی، فعالیت بیوشیمیایی و آنزیمی بذر گندم سیاه با محتوای رطوبتی و مدت زمان پیری بذر متفاوت

Table 1) Variance analysis of seed germination and biochemical and enzymatic activity of buck wheat seeds with different aging duration and moisture content

Source of variation	df	mean of squares				
		germination percentage	mean germination time	electrical conductivity	lipid peroxidation	catalase enzyme activity
Ageing duration (A)	3	31112.92**	2217.59**	0.26×10^{-1}**	3207.73**	9.4×10^{-8}**
Seed moisture content (B)	2	71.84**	319.10**	0.3×10^{-1}**	557.12**	1.5×10^{-7}**
A × B	6	144.04**	5.69**	0.2×10^{-2}**	77.12**	2.6×10^{-8}**
Error	24	5.19	2.96	2.69	2.69	2.6×10^{-10}
CV (%)		3.64	6.31	4.28	1.75	6.67

*: **significant at 1% and 5% level of probability

* : ** معنی‌دار سطح احتمال ۱ و ۵٪

معنی‌داری تحت تأثیر محتوای رطوبتی بذر و مدت زمان پیری کاهش یافت (جدول ۲). درصد جوانه‌زنی یکی از مهمترین شاخص‌هایی است که توانایی جوانه‌زنی بذر را نشان می‌دهد و می‌تواند توانایی جوانه‌زنی توده‌های بذری را در شرایط متفاوت ذخیره‌سازی نشان دهد.[۱۹]

این نتایج مطابق با یافته *پراور و همکاران (۲۰۱۸)* است که بیان کردند با افزایش مدت زمان پیری و محتوای رطوبتی بذر میزان جوانه‌زنی بذرهای بالنگو کاهش یافت و یادآور شدن که علت کاهش جوانه‌زنی در شرایط زوال به دلیل پراکسیداسیون چربی، خسارت به غشاهای سلولی، آسیب به فرایند سنتز RNA، تخریب DNA، رسوب و غیر فعال شدن آنزیم‌ها است.[۱۳] همچنین مطابق به این نتایج پژوهشگران گزارش کردند کاهش جوانه‌زنی بذرهای یولاف با افزایش محتوای رطوبتی بذر و مدت زمان پیری بذر ارتباط مثبت و معنی‌داری دارد.[۱۹] در بررسی اثرات پیری بذر بر بذرهای کلم پژوهشگران اعلام کردند کاهش جوانه‌زنی در بذرهای پیر شده کلم به دلیل تغییر در متابولیسم اولیه بذر مثل تغییراتی از قبیل کاهش ساکارز و نشاسته می‌باشد.[۱۰]

اثر مدت زمان پیری، محتوای رطوبتی بذر و اثر متقابل مدت زمان پیری و محتوای رطوبتی بذر بر مدت زمان جوانه‌زنی معنی‌دار بود (جدول ۱). با افزایش محتوای رطوبتی و مدت زمان پیری مدت زمان جوانه‌زنی به طور معنی‌داری افزایش یافت به طوری که مدت زمان جوانه‌زنی در بذرهای پیر شده با محتوای رطوبتی ۳۰٪ در مدت زمان هفت روز پیری به بیشترین مقدار رسید. همچنین، بذرهای پیر نشده کمترین مدت زمان جوانه‌زنی را نسبت به بذرهای پیر شده داشت (جدول ۲). پژوهشگران گزارش کردند که با افزایش محتوای رطوبتی و مدت زمان پیری، مدت زمان جوانه‌زنی بذرهای پیر شده بالنگو نیز افزایش یافت و یادآور شدند که افزایش مدت زمان پیری منجر به کاهش میزان جوانه‌زنی و افزایش مدت زمان جوانه زنی بذرهای بالنگو شد.[۱۳] مطالعات نشان داده که علت وقفه در زمان جوانه‌زنی بذرهای پیر شده به علت این است که بذر برای تعمیر خسارت‌های وارد شده به غشاء و دیگر قسمت‌های سلول و همچنین آغاز مجدد فعالیت سیستم آنتی اکسیدانتی و جلوگیری از بروز تنش اکسیداتیو نیاز به زمان دارد و ترمیم این خسارت‌ها فقط پس از جذب آب توسط بذر امکان پذیر است. در نتیجه مدت زمان لازم برای تکمیل فرایند جوانه‌زنی در بذرهای زوال‌یافته افزایش می‌یابد.[۴]

جدول ۲) اثر مدت زمان پیری و محتوای رطوبتی بذر بر جوانه زنی بذر، فعالیت بیوشیمیایی و آنزیمی گندم سیاه

Table 2) The effect of ageing duration and seed moisture content on germination, biochemical and enzymatic activity of buck wheat

Ageing duration (day)	seed moisture content (%)	germination percentage (%)	mean germination time (hours)	electrical conductivity (µs/cm.g)	lipid peroxidation (Nm/g)	catalase enzyme activity (µg protein/ml)
Non-ageing	10	90.04 a	59.33 h	2.03 g	70.45 g	0.00041 f
	20	90.04 a	59.33 h	2.03 g	70.45 g	0.00041 f
	30	90.04 a	59.33 h	2.03 g	70.45 g	0.00041 f
2	10	78.11 c	68.33 h	2.23 fg	78.76 f	0.00055 b
	20	86.56 b	75.13 f	2.60 e	91.06 e	0.00066 a
	30	80.56 c	82.00 de	3.00 d	93.16 e	0.00049 c
4	10	59.91 d	85.33 cd	2.30 f	91.85 e	0.00049 c
	20	55.06 e	86.66 c	3.20 c	106.60 c	0.00046 d
	30	48.74 f	95.80 b	3.20 c	106.60 c	0.000044 e
7	10	52.33 e	95.80 b	2.50 e	101.50 d	0.00055 b
	20	51.53 e	93.80 b	3.80 b	117.30 b	0.00049 c
	30	42.60 g	105.10 a	4.30 a	124.30 a	0.00046 d

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ با آزمون دانکن می‌باشد.

Similar letters in each column shows non- significant difference according to Duncan test at 5% level.

هدایت الکتریکی

اثر مدت زمان پیری، محتوای رطوبتی بذر و اثر متقابل مدت زمان پیری و محتوای رطوبتی بذر بر هدایت الکتریکی در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۱). مشاهده شد که بذرهای پیر نشده نسبت به بذرهای پیر شده کمترین مقدار هدایت الکتریکی را داشتند. با افزایش محتوای رطوبتی بذر و مدت زمان پیری بذر، هدایت الکتریکی به بیشترین مقدار خود رسید به طوری که بیشترین هدایت الکتریکی در بذرهای پیر شده با محتوای رطوبتی ۳۰٪ در مدت زمان هفت روز پیری مشاهده شد (جدول ۲). این نتایج با بررسی‌های *ساهو و همکاران (۲۰۱۷)* مطابق است که نشان داده افزایش مدت زمان ذخیره‌سازی بذر گیاه کارانجین[1]منجر به افزایش هدایت الکتریکی شد به طوری که این تغییر افزایش، کاهش توانایی جوانه‌زنی بذرهای *کارانجین* را به همراه داشت.[۱۵] کاهش توانایی جوانه‌زنی نیز به دلیل تغییر ساختار غشاء سلولی است که منجر به تجمع تغییرات مضر در داخل سلول‌های بذر می‌شود که این تغییرات با تخریب غشاء، خسارت به DNA و پراکسیداسیون لیپید همراه است.[۱۶]

پراکسیداسیون لیپید

اثر مدت زمان پیری، محتوای رطوبتی بذر و اثر متقابل مدت زمان پیری و محتوای رطوبتی بذر بر پراکسیداسیون لیپید معنی‌دار بود (جدول ۱). بذرهای پیر نشده کمترین مقدار پراکسیداسیون لیپید را داشتند. با افزایش محتوای رطوبتی و مدت زمان پیری، میزان پراکسیداسیون لیپیدبه طور معنی‌داری افزایش یافت و که بیشترین پراکسیداسیون لیپید در بذرهای پیر شده با محتوای رطوبتی ۳۰٪ در مدت زمان هفت روز پیری مشاهده شد (جدول ۲). این نتایج با یافته‌های پژوهشگران همخوانی دارد که نشان دادند با افزایش مدت زمان پیری و محتوای رطوبتی بذر بالنگو، پراکسیداسیون لیپید در بذر مرطوب

[1] *Pongamia pinnat*

نسبت به بذر خشک با رطوبت ۵٪ به بیشترین میزان خود رسید و یادآور شدند افزایش پراکسیداسیون لیپید به دلیل این است که سیتوپلاسم در بذرهای خشک دارای تحرک مولکولی کم و پایداری بالایی است که به محافظت از ساختار میتوکندری در طی روند پیری کمک می‌کند که در واقع این افزایش افزایش رطوبت باعث تبدیل فاز سیتوپلاسمی از حالت شیشه‌ای به سیال شده و در نتیجه این حالت به راحتی به ساختار میتوکندری آسیب می‌رساند.[۱۳] افزایش تجمع پراکسید هیدروژن به‌طور غیرمستقیم افزایش پراکسیداسیون لیپید را سبب می‌شود.[۱۹] تجمع مالون دی‌آلدئید با پراکسیداسیون لیپید در ارتباط است که منجر به تجمع گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود، این تجمع به ساختارهای اسیدهای چرب غیراشباع حمله کرده و منجر به زوال بذر می‌شود.[۱۶] افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز با افزایش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن ارتباط دارد به طوری که این آنزیم سلول را در برابر گونه‌های فعال اکسیژن در شرایط ذخیره‌سازی محافظت می‌کند.[۱۱]

فعالیت آنزیم کاتالاز

اثر مدت زمان پیری، محتوای رطوبتی بذر و اثر متقابل مدت زمان پیری و محتوای رطوبتی بذر بر فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۱). کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاتالاز با افزایش محتوای رطوبت و مدت زمان پیری بذر مشاهده شد. بذرهای پیر شده نسبت به بذرهای پیر نشده بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز را داشتند (جدول ۲). همچنین، پژوهشگران نشان دادند که فعالیت آنزیم کاتالاز در بذور زوال یافته با افزایش مدت زمان پیری و افزایش دما به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد. همچنین رطوبت اضافه شده به بذرهای خشک باعث افزایش فعالیت متابولیکی درون سلول شده در نتیجه افزایش پراکسید هیدروژن و کاهش فعالیت سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی را به همراه دارد.[۱۶] *کنگ و همکاران (۲۰۱۵)* گزارش کردند با افزایش محتوای رطوبتی تا سطح ۱۰٪ فعالیت آنزیم کاتالاز به بیشترین مقدار خود رسید اما با بیشتر شدن محتوای رطوبتی و مدت زمان پیری، فعالیت آنزیم کاهش یافت و علت آن را به این دلیل دانستند که شرایط ذخیره سازی در رطوبت بالا سبب تولید پراکسید هیدروژن، کاهش فعالیت ATP، تخریب غشاء سلولی دانستند.[۱۱]

نتیجه‌گیری کلی با افزایش محتوای رطوبتی و مدت زمان پیری بذر، میزان جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم کاتالاز بذرهای پیر شده کاهش یافت و ذخیره سازی بذرهای در شرایط رطوبتی ۲۰٪ به مدت دو روز پیری بیشترین تأثیر معنی‌داری بر افزایش میزان جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم کاتالاز داشت. بنابراین، زیاد شدن فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط زوال بذر منجر به تحریک رشد و بیشتر شدن درصد جوانه‌زنی شد که این نشان‌دهنده ارتباط فعالیت آنزیمی آنزیمی آنتی‌اکسیدان با شاخص‌های جوانه‌زنی است. بذرهای پیر شده با محتوای رطوبتی ۳۰٪ در مدت زمان هفت روز پیری بیشتر دچار زوال شده به دلیل این که که بیشترین میزان مدت زمان جوانه‌زنی، هدایت الکتریکی و پراکسیداسیون لیپید و کمترین جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم کاتالاز را در این شرایط ذکر شده داشتند. بنابراین، هر چه محتوای رطوبتی بذر و مدت زمان پیری بذر گندم سیاه در مدت ذخیره‌سازی افزایش یابد سازوکارهای دخیل در پیری بذر افزایش یافته و بیشترین تأثیر منفی را بر میزان جوانه‌زنی و فعالیت آنزیمی کاتالاز این بذر می‌گذارد که در نتیجه این اثر منفی نشان دهنده زوال بذر است.

References

1. Aebi H (1984) Catalase in vitro. Methods Enzymology 105: 121–126.
2. Aghighi-Shahverdi M, Paravar A, Ghasemzadeh M, Navabi, A (2018). The study of germination, biochemical and enzymatic characteristics of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) affected by drought and salinity stresses. Iranian Journal of Seed Science and Research 5(3): 31-45. [in Persian with English abstract]
3. Alivand R, Tavakol-Afshari R, Sharifzadeh F (2013) Effects of gibberellin, salicylic acid, and ascorbic acid on improvement of germination characteristics of deteriorated seeds of *Brassica napus*. Iranian Journal of Field Crop Science 43(4): 561-571. [in Persian with English abstract]
4. Bewley JD, Bradford KJ, Hilhorst HWM, Nonogaki H (2013) Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy (3rd ed). Springer Press: New York.
5. Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72(1-2): 248-254.
6. Hampton JG, TeKrony DM, the ISTA Vigour Test Committee (1995) Handbook of Vigour Test Methods (3rd ed). International Seed Testing Association: Zurich.
7. Heath RL, Packer L (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics 125(1)*:* 189–198.
8. Hoseini-Khah FS, Parsa S, Tavakkol-Afshari R, Jami Al-Ahmadi M, Esmaeili A (2014) Effects of salicylic acid and giberellic acid on improvement and prevailing seed deterioration in two sesame cultivars. Iranian Journal of Field Crop Science 45(4): 613-624. [in Persian]
9. International Seed Testing Association (2010) International Rules for Seed Testing. International Seed Testing: Zurich.
10. Jiang FL, Bo LP, Xu JJ, Wu Z (2018) Changes in respiration and structure of non-heading Chinese cabbage seeds during gradual artificial aging. Scientia Horticulturae 238: 14-22.
11. Kong L, Huo H, Mao P (2015) Antioxidant response and related gene expression in aged oat seed. Frontiers in Plant Science 6(158): 1-9.
12. Li Y, Wang Y, Xue H, Pritchard HW, Wang X (2017) Changes in the mitochondrial protein profile due to ROS eruption during ageing of elm (*Ulmus pumila* L.) seeds. Plant Physiology and Biochemistry 114: 72-87.
13. Paravar A, Maleki-Farahani S, Rezazadeh A (2018) effect of drought stress during seed development on seed vigour, membrane peroxidation and antioxidant activity in different species of Balangu (*Lallemantia* sp.). Journal of Crops Improvement 20(1): 145-159. [in Persian with English abstract]
14. Rosa TDA, Nadal AP, Maldaner HR, Soares VN, Gadotti GI, Villela FA (2018) Electrical conductivity and accelerated aging in amaranth (*Amaranthus crueentus* L.) seeds. Journal of Seed Science 40(1): 44-51.
15. Sahu B, Sahu AK, Thomas V, Naithani SC (2017) Reactive oxygen species, lipid peroxidation, protein oxidation and antioxidative enzymes in dehydrating Karanj (*Pongamia pinnata*) seeds during storage. South African Journal of Botany 112: 383-390.
16. Silva LJD, Dias DCF, Sekita, MC, Finger FL (2018) Lipid peroxidation and antioxidant enzymes of *Jatropha curcas* L. seeds stored at different maturity stages. Acta Scientiarum. Agronomy 40(34978): 2-10.
17. Soltani A, Maddah V (2010) Simple, Applied Programs for Education and Research in Agronomy. Shahid Beheshti University Press: Tehran. [in Persian]
18. Van Treuren R, Bas N, Kodde J, Groot SP Kik C (2018) Rapid loss of seed viability in *ex situ* conserved wheat and barley at 4° C as compared to −20° C storage. Conservation Physiology 6(1): 13-23.
19. Xia F, Wang X, Li M, Mao P (2015) Mitochondrial structural and antioxidant system responses to aging in oat (*Avena sativa* L.) seeds with different moisture contents. Plant Physiology and Biochemistry 94: 122-129.
20. Zhang YX, Xu HH, Liu SJ, Li. N, Wang WQ, Møller IM, Song SQ (2016) Proteomic analysis reveals different involvement of embryo and endosperm proteins during aging of Yliangyou 2 hybrid rice seeds. Frontiers in Plant Science 7: 1-17.

Effect of seed deterioration on germination, biochemical and enzymatic activity of buckwheat

Agroecology Journal
Vol. 15, No. 2 (49 - 57)
(summer 2019)

Arezoo Paravar✉ Saeideh Maleki Farahani, Shokofeh Gholami

Department of Crop Production and Plant Breeding, Shahed University, Tehran, Iran,
✉ paravararezoo@yahoo.com **(corresponding author)**

Received: 20 April 2019 **Accepted:** 18 August 2019

Abstract To determine the effect of seed deterioration on germination, biochemical and enzymatic activity of buckwheat, an experiment was conducted as factorial based on completely randomized design in Seed Science and Technology Laboratory of Shahed University, Iran. The treatments consisted of ageing duration (non-aging, 2, 4 and 7 days) and seed moisture content (10, 20 and 30%). Parameters such as germination percentage, mean germination time, electrical conductivity, lipid peroxidation and catalase activity were measured. The effect of aging duration, seed moisture content and their interaction on traits were significant. Germination percentage, mean germination time, electrical conductivity, lipid peroxidation, and catalase enzyme activity were significantly affected by aging duration and seed moisture content. The highest germination percentage and catalase enzyme activity in aged seeds was observed during two days with 20% moisture content. Mean germination time, electrical conductivity and lipid peroxidation in aged seeds for seven days was in the highest level in seeds with 30% moisture content. Seed moisture content and aging duration increased the mechanisms involved in seed aging and cell membrane phospholipids affected by deterioration, which increased the electrical conductivity and lipid peroxidation and reduced germination and catalase enzyme activity. To prevent buckwheat seed deterioration in long and short term storage, it is recommended that seed moisture content is kept about 10%.

Keywords

- catalase enzyme activity
- electrical conductivity
- *Fagopyrum esculentum*
- lipid peroxidation
- seed deterioration

This open-access article is distributed under the terms of the Creative Commons-BY-NC-ND which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

DOI: 10.22034/aei.2019.1872308.1101