

## تأثیر پیری زودرس بر جوانه‌زنی و فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌های بذر ارقام هیبرید ذرت (*Zea mays*)

فرشته دارابی<sup>۱\*</sup>، مریم ولی‌پور<sup>۲</sup>، رحیم ناصری<sup>۳</sup>، میثم مرادی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام

<sup>۲</sup> دانش‌آموخته کارشناسی ارشد زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام

<sup>۳</sup> دکتری زراعت، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام

<sup>۴</sup> مربی گروه علوم کشاورزی، دانشگاه پیام نور تهران

\* پست الکترونیک نویسنده مسئول: [f.darabi@ilam.ac.ir](mailto:f.darabi@ilam.ac.ir)

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۵/۰۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۲/۲۳)

### چکیده

شرایط نامساعد انبارداری، به‌خصوص رطوبت نسبی بالای محیط انبار و مهم‌تر از آن دما، به‌شدت بر کیفیت بذر گیاهان اثر می‌گذارد. به‌منظور بررسی اثر زوال بر روی جوانه‌زنی بذر ذرت و همچنین بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، سلامت غشاء و پروتئین‌های محلول بذر، پژوهشی در آزمایشگاه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه ایلام در سال ۱۳۹۴ به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام گرفت. ارقام هیبرید ذرت در شش سطح (سینگل کراس ۷۰۳، ۷۰۶، ۷۱۱، ۶۰۴، مبین و ۷۰۱) و پیری زودرس در چهار سطح (شاهد، پیری در چهار، هشت و ۱۲ روز با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۵ درصد) به‌عنوان فاکتورهای این آزمایش بودند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر متقابل پیری زودرس و هیبریدهای ذرت در تمامی صفات مورد بررسی معنی‌دار بود. درصد جوانه‌زنی، درصد گیاهچه‌های طبیعی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و پروتئین‌های محلول کاهش معنی‌داری را با افزایش مدت زمان اعمال تنش بین هیبریدها نشان داد. علاوه بر این همبستگی معنی‌داری بین داده‌های نشت الکترولیت‌ها و سایر صفات مشاهده شد. اگرچه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت به‌عنوان مکانیسم حفاظتی بذر، در تمام هیبریدهای ذرت در طول زوال بذر کاهش قابل‌توجهی را نشان داد، اما به‌طور کلی رقم سینگل کراس ۷۰۳ در مقایسه با سایر ارقام نسبت به شرایط زوال متحمل‌تر بود.

واژه‌های کلیدی: پراکسیداز، پروتئین، زوال بذر، کاتالاز، نشت الکترولیت

### جنبه‌های نوآوری:

- ۱- واکنش جوانه‌زنی شش رقم هیبرید ذرت به شرایط زوال بذر
- ۲- نقش فعالیت آنتی‌اکسیدانتی در بذرهای زوال یافته ارقام هیبرید ذرت.

### مقدمه

تقریباً در تمام نقاط کشور کشت می‌شود (نورمحمدی و همکاران، ۱۳۸۷). سالانه در کشور حدود ۱۳۰۰۰ تا ۱۵۰۰۰ تن بذر ذرت برای کشت ۴۵۰۰۰۰ تا ۵۵۰۰۰۰

ذرت (*Zea mays* L.) محصولی با قدرت تطابق‌پذیری و سازگاری به شرایط اقلیمی بالاست و

در نتیجه زوال بذر تشدید می‌شود (بالسویک-توبیک<sup>۴</sup>، ۲۰۰۱).

اکثراً بذر ذرت با رطوبت ۳۰-۲۲ درصد برداشت می‌شود و بعد از آن بذر را تا رطوبت ۱۵/۵ درصد یا کمتر به‌منظور جلوگیری از حمله‌ی میکروبی خشک می‌کنند. به‌طور کلی الگوهای پیری بذر بر اساس میزان آب موجود<sup>۵</sup> در بذر بیان می‌شود (والترز<sup>۶</sup>، ۱۹۹۸). فرسودگی یا پیری بذر به فرآیند از دست رفتن کیفیت بذر با گذشت زمان اطلاق می‌شود و توانایی بذر برای زنده ماندن را کاهش می‌دهد (اگراوال<sup>۷</sup>، ۲۰۰۵).

در طی انبارداری نامناسب بذرها دچار زوال می‌شوند و به دنبال آن قابلیت جوانه‌زنی و سبز شدن آن‌ها کاهش می‌یابد (سلطانی و همکاران، ۲۰۰۸؛ اکرم قادری و همکاران، ۱۳۸۶). زوال بذر در طی انبارداری بر حسب قابلیت جوانه‌زنی اندازه‌گیری می‌شود که ناشی از اثرات متقابل بین پارامترهای درون‌زاد (کیفیت بذر) و پارامترهای محیطی مثل تنش‌های زنده و غیرزنده طی انبارداری می‌باشد (برادفورد<sup>۸</sup>، ۱۹۷۶). فرایند زوال حتی در بهترین شرایط ذخیره و انبارداری هم رخ می‌دهد. عمر بذر توسط پتانسیل ذخیره فیزیولوژیکی و ژنتیکی تعیین می‌شود و عوامل ژنتیکی در هنگام برداشت و مدت انبارداری با عوامل محیطی اثر متقابل دارند (بیولی و بلک<sup>۹</sup>، ۱۹۹۴).

در طی فرایند جوانه‌زنی درحالی‌که محتوی رطوبت بذر افزایش می‌یابد گونه‌های فعال اکسیژن بر اثر تنفس در میتوکندری با فعالیت گلی‌اکسی‌زوم‌ها تولید می‌شوند، همچنین در زمان جوانه‌زنی گونه‌های فعال اکسیژن که در زمان خشک بودن بذر تولید شده و در بافت‌های مختلف محبوس شده‌اند آزاد می‌شوند (زمانی و همکاران، ۱۳۸۹). در طول انبارداری بذر گونه‌های فعال اکسیژن از قبیل رادیکال اکسیژن ( $O_2$ )، هیدروژن پراکسید ( $H_2O_2$ ) و رادیکال هیدروکسید ( $OH^\cdot$ ) در بافت‌های بذر پیر شده تجمع یافته و نقش اصلی را در

هکتار مزرعه ذرت دانه‌ای و علوفه‌ای مصرف می‌گردد که از این میزان بذر موردنیاز، حدود ۸۰ درصد در داخل کشور و با استفاده از ارقام داخلی و خارجی تولید می‌شود. بیش از ۹۵ درصد بذرها تولیدی فعلی کشور از هیبرید سینگل کراس ۷۰۴ می‌باشد (صیامی، ۱۳۸۸). بذر مهم‌ترین نهاده بخش کشاورزی است که زمینه ازدیاد، بقاء و گسترش گیاه را فراهم می‌کند و بذر با کیفیت، یک جزء کلیدی برای همه سامانه‌های زراعی است که برای اطمینان از دستیابی به تراکم مطلوب گیاهچه در مزرعه، موردنیاز است (توکل افشاری و همکاران، ۱۳۸۶). شناخت عوامل اثرگذار بر تولید بذر و کیفیت آن در مراحل تولید، برداشت، خشک کردن، بسته‌بندی، نگهداری، بازاریابی و رساندن به دست کشاورز دارای اهمیت فوق‌العاده‌ای است. کیفیت بذر بیانگر تأثیر توأم شرایط محیطی تولید بذر و شرایط برداشت، فراوری و انبارداری آن می‌باشد (غلامی تیلبنی و گلپایگانی<sup>۱</sup>، ۲۰۱۱).

به‌ندرت پیش می‌آید که بذر بلافاصله بعد از برداشت کاشته شود و معمولاً مدتی را تحت شرایط انبار طی می‌کند. در نتیجه زمان انبارداری و شرایط محیطی انبار (دما و رطوبت نسبی) بر جوانه‌زنی و بنیه بذر مؤثر است. جوانه‌زنی اولین مرحله‌ی رشد و نمو هر گیاهی است که از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد. علاوه بر جوانه‌زنی سرعت و یکنواختی جوانه‌زدن و بنیه بذر از پارامترهای مهم کیفیت بذر می‌باشد (محسن‌نسب<sup>۲</sup> و همکاران، ۲۰۱۰). از آنجایی که ذخیره بذر همیشه با کاهش در سیستم جوانه‌زنی بذر همراه است لذا شرایط ذخیره‌ای باید برای نگهداری منابع ژنتیکی و ذخیره تجاری بذر مناسب باشد (راجو<sup>۳</sup> و همکاران، ۲۰۰۷).

انبارداری بذر یکی از بهترین راهکارها برای حفظ تنوع گیاهی و ژرم پلاسماست. انبارداری بذر تا فصل بعدی کاشت یا زمان فروش بذر یکی از مراحل مهم در صنعت بذر است. عدم توجه دقیق و کافی به آن سبب می‌شود بذر دچار خسارت فیزیکی و فیزیولوژیکی شده و

<sup>4</sup> Balesevic-Tubic

<sup>5</sup> Moisture Content

<sup>6</sup> Walters

<sup>7</sup> Agrawal

<sup>8</sup> Bradford

<sup>9</sup> Bewley and Black

<sup>1</sup> Gholami Tilebeni and Golpayegani

<sup>2</sup> Mohsennasab

<sup>3</sup> Rajjou

پروتئین محلول به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. همچنین گزارش کرد که با افزایش زوال بذر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی کاهش یافت. علاوه‌براین دمیرکایا<sup>۶</sup> و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که با افزایش در زوال بذر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. لذا هدف از انجام این تحقیق بررسی زوال بذر در سه زمان مختلف با دما و رطوبت یکسان بود. در همین راستا درصد جوانه‌زنی، میانگین زمان جوانه‌زنی و تعداد گیاهچه‌های طبیعی به‌عنوان معیاری از کیفیت و زوال بذر و همچنین هدایت الکتریکی به‌عنوان روشی ساده برای بررسی میزان خسارت وارده به غشاء و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و پروتئین‌های محلول بذر به‌عنوان راه‌حلی در حذف گونه‌های فعال اکسیژن موردبررسی قرار گرفتند.

#### مواد و روش‌ها

به‌منظور شناخت مکانیسم‌های زوال بذر ذرت در هنگام انبار کردن از شش هیبرید سینگل کراس ذرت که از موسسه اصلاح و نهال بذر کرج تهیه شده بودند، استفاده شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۴ انجام شد. فاکتور اول شامل هیبریدهای مختلف ذرت در شش سطح (۷۰۳، ۷۰۶، ۷۱۱، ۶۰۴، مبین و ۷۰۱) و فاکتور دوم پیری مصنوعی (زودرس) در چهار سطح (شاهد، ۴، ۸ و ۱۲ روز پیری) بود. تیمار پیری مصنوعی بذرها در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت تقریباً اشباع در حد ۹۵٪ اعمال شد. برای اطمینان از صحت و کنترل دما و رطوبت از یک دستگاه رطوبت‌سنج و دماسنج دیجیتال مدل (TFA آلمان) در داخل دستگاه ژرمیناتور استفاده شد.

به‌منظور اندازه‌گیری درصد و میانگین زمان جوانه‌زنی بذرها از روش استاندارد ایستا<sup>۷</sup> (۱۹۹۹) استفاده شد. بدین منظور ۲۵ عدد بذر ضد عفونی‌شده پس از اعمال تیمار پیری زودرس آن‌ها را در پتری‌دیش

تعیین کاهش قدرت بذر دارند (پوکاکا و راتاجزک<sup>۱</sup>، ۲۰۰۵؛ کیبیناز<sup>۲</sup> و همکاران، ۲۰۰۶).

این عمل منجر به آغاز واکنش با اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه شده و تغییرات غیرقابل برگشتی در سلول رخ می‌دهد که در نهایت منجر به پراکسیداسیون لیپیدها و ازهم‌پاشیدگی و تخریب غشای سلولی می‌شوند (پوکاکا و راتاجزک، ۲۰۰۵؛ بیلی<sup>۳</sup> و همکاران، ۲۰۰۰). عدم توانایی بذر در تولید آنزیم‌های ضروری جهت سم‌زدایی و ترمیم یکی از پیامدهای آنزیم‌سازی ناقص و ناکار در بذور پیر شده است (توکل افشاری و همکاران، ۱۳۸۶).

به‌منظور خنثی کردن اثرات مضر گونه‌های فعال اکسیژن در بافت‌های گیاهی، سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانتی غیر آنزیمی مانند بتا-کاروتن، اسید آسکوربیک، آلفا توکوفرول و گلوکاتینون اکسیداز و سیستم‌های آنزیمی حذف‌کننده پراکسید مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در بافت‌های بذر (گیاه) وجود دارد (کیبیناز و همکاران، ۲۰۰۶).

فعالیت این آنزیم‌ها و سطوح بالای آنتی‌اکسیدانت موجود در بذر همگی در برابر خسارت اکسیداتیو مقاومت می‌کنند و خسارت به سلول را به حداقل می‌رسانند (آلشر<sup>۴</sup>، ۱۹۸۹). بذرها برای کنترل خسارت رادیکال‌های آزاد یک مکانیسم سم‌زدایی را توسعه می‌دهند که شامل تعدادی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مثل سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوکاتینون پراکسیداز می‌باشند (بیلی و همکاران، ۲۰۰۰). گزارش شده است که پیری فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و لیپواکسیژناز را کاهش می‌دهد (سونگ و جنگ<sup>۵</sup>، ۱۹۹۴).

صید محمدی (۱۳۹۱) با تحقیقی روی بذر گیاه روغنی کلزا گزارش کرد که با افزایش زوال بذر میزان

<sup>1</sup> Pukacka and Ratajczak

<sup>2</sup> Kibinza

<sup>3</sup> Bailly

<sup>4</sup> Alscher

<sup>5</sup> Sung and Jeng

<sup>6</sup> Demir Kaya

<sup>7</sup> ISTA

استریل (قطر ۹ سانتی‌متر) روی کاغذ صافی قرار داده و هر ۲۴ ساعت یک‌بار آب مقطر به آن اضافه شد. بذرهایی که طول ریشه‌چه آن‌ها به ۰/۵ میلی‌متر رسیده بودند، به‌عنوان بذر جوانه‌زده در نظر گرفته شد.

بذرهای جوانه‌زده به‌صورت روزانه در ساعات معین در مدت هشت روز شمارش و یادداشت‌برداری شد. اولین روز شمارش و آخرین روز شمارش بذرهای جوانه‌زده به ترتیب روز دوم و روز هشتم پس از شروع آزمایش بود. درصد جوانه‌زنی از طریق تعداد بذرهایی جوانه‌زده شده در روز آخر (هشتم) در نظر گرفته شد. میانگین زمان جوانه‌زنی<sup>۱</sup> بر اساس روش (بیلی و همکاران، ۲۰۰۰)، طبق رابطه زیر محاسبه شد:

$$MTG = \frac{[n1.1 + (n2 - n1).2 + (n3 - n2).3 + \dots + (n8 - n7).8]}{n8}$$

MTG = میانگین زمان جوانه‌زنی و n1 تا n8 درصد جوانه‌زنی در روز اول تا هشتم می‌باشد.

پس از آخرین روز جوانه‌زنی تعداد گیاهچه‌های طبیعی و غیرطبیعی شمارش و برحسب درصد گزارش شدند. گیاهچه‌های غیرطبیعی شامل گیاهچه‌های بدون سامانه ریشه اولیه، با ریشه‌های ثانویه ضعیف، دارای لکه‌های نکروزه در بافت و گیاهچه‌های دارای جوانه انتهایی آسیب‌دیده یا یک لپه از بین رفته در نظر گرفته شدند. به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آن‌تی‌اکسیدانت ابتدا بذرها در پتری دیش‌های استریل قرار داده شدند و سپس با افزودن ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر در دمای ۲۵ درجه و به مدت ۱۲ ساعت در اتاقک رشد قرار داده شدند. از آنجا که جنین بذر مهم‌ترین، حساس‌ترین و آسیب‌پذیرترین قسمت از بذر می‌باشد و با در نظر گرفتن این موضوع که اگر لپه‌های بذر آسیب ببینند بذر می‌تواند زنده بماند و رشد کند، ولی اگر جنین آسیب ببیند بذر توانایی تشکیل گیاهچه را از دست می‌دهد (مسویا و استفانو<sup>۲</sup>، ۲۰۱۰).

بر این اساس فعالیت آنزیم‌های آن‌تی‌اکسیدانت در جنین بذر بررسی گردید. برای این کار ابتدا پوشش بذر جدا و سپس جنین‌های جداشده در فویل آلومینیومی پیچیده و بلافاصله در نیتروژن مایع فریز شد تا شرایط

آنزیم‌ها ثابت بماند. سپس نمونه‌ها تا زمان اندازه‌گیری آنزیم‌ها در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. جهت استخراج عصاره آنزیمی، ابتدا ۰/۵ گرم نمونه از تازه‌ترین برگ کامل در نیتروژن مایع کاملاً خرد شده و سپس ۲ میلی‌لیتر بافر استخراج به آن اضافه و در هاون چینی کاملاً هم‌وزنیزه گردید. مخلوط حاصل در لوله اپندورف و به مدت ۱۵ دقیقه با ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد و پس از آن فاز بالایی جهت قرانت میزان پروتئین و فعالیت آنزیم‌ها جدا گردید. برای تهیه ۵۰ میلی‌لیتر بافر استخراج، ۰/۶۰۷ گرم تریس را با ۰/۰۵ گرم PVP<sup>۳</sup> در ۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر به‌خوبی حل کرده و سپس با اسید کلریدریک pH محلول به هشت و بعد از آن محلول به حجم نهایی ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد که از این بافر برای عصاره‌گیری پروتئین و آنزیم‌های آن‌تی‌اکسیدانتی استفاده گردید.

برای اندازه‌گیری میزان فعالیت کمی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از روش بیچامپ و فریدوویچ<sup>۴</sup> (۱۹۷۱) استفاده شد. اندازه‌گیری بر اساس توانایی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در متوقف کردن احیا فتوشیمیایی نیتروبلوتترازولیموم (NBT) توسط رادیکال‌های سوپراکسید در حضور ریوفلاوین در نور صورت می‌گیرد. برای اندازه‌گیری میزان غلظت کمی آنزیم پراکسیداز از روش چانس و ماهلی<sup>۵</sup> (۱۹۹۵) با اندکی تغییرات استفاده شد. اندازه‌گیری بر اساس میزان اکسید شدن گوایکول توسط این آنزیم انجام می‌شود.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز به کمک روش سین‌ها<sup>۶</sup> (۱۹۷۲) انجام گرفت. در این روش از واکنش کاهشی دی‌کرومات پتاسیم محلول در اسید استیک به کرومیک استات واسطه و تشکیل پرکرومیک اسید سبزرنگ در حضور هیدروژن پراکسید و حرارت استفاده می‌شود.

تعیین غلظت پروتئین به کمک روش برادفورد (۱۹۷۶) انجام شد. مبنای این روش اتصال رنگ

<sup>3</sup> Polyvinylpirovate

<sup>4</sup> Beauchamp and Fridovich

<sup>5</sup> Chance and Maehly

<sup>6</sup> Sinha

<sup>1</sup> Mean Time to Germination

<sup>2</sup> Msuya and Stefano

جوانه‌زنی به سه برابر افزایش پیدا کرده است. در شروع فرآیند جوانه‌زنی در بذره‌های پیر شده، بذر برای جبران خسارت‌های وارد شده به غشاء و دیگر قسمت‌های سلول، همچنین آغاز مجدد فعالیت سامانه آنتی‌اکسیدانتی و جلوگیری از بروز تنش اکسیداتیو نیاز به زمان به‌منظور جبران این خسارت‌ها دارد و این موضوع فقط پس از جذب آب توسط بذر امکان‌پذیر است (پریستلی، ۱۹۸۶). پیری بذر به‌طور کلی توسط کاهش در قدرت بذر مشخص شده است (تاتیک<sup>۴</sup> و همکاران، ۲۰۰۹؛ گوپتا و آنجا<sup>۵</sup>، ۲۰۰۴). اختلاف بین هیبریدها در میزان واکنش به تیمارهای مورد بررسی (پیری زودرس) در این آزمایش ممکن است به دلیل ویژگی‌های ژنتیکی آن‌ها باشد.

نتایج نشان داد که در تمام هیبریدها با افزایش مدت زمان پیری درصد گیاهچه‌های طبیعی کاهش یافت، به‌طوری که بیشترین و کمترین درصد گیاهچه‌های طبیعی به ترتیب در تیمار شاهد و ۱۲ روز پیری مشاهده شد (شکل ۳). کاهش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه به‌عنوان پیامدهای زوال بذر در مطالعات زیادی مشخص شده است (زمانی و همکاران، ۱۳۸۹؛ محمدی و همکاران، ۲۰۱۱). کاهش درصد گیاهچه‌های طبیعی در اثر پیری ممکن است مربوط به کاهش بنیه بذور باشد که در مورد علت کاهش بنیه گیاهچه در طی انبارداری و پیری زودرس دلایل مختلفی عنوان شده است. مهم‌ترین آنها افزایش پراکسیداسیون چربی بر اثر حمله رادیکال آزاد است که باعث برهم خوردن ساختار غشاءهای سلولی می‌شوند (بیلی و همکاران، ۲۰۰۰). در نتیجه این تغییرات منجر به کاهش کیفیت بذر، کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی، رشد کندتر گیاه، افزایش حساسیت به تنش‌های محیطی و کاهش عملکرد می‌شوند (غلامی و گلپایگانی، ۲۰۱۱). محمدی و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که پیری بذر باعث کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی می‌شود و کاهش

کوماکسی برلیانت بلو G250 موجود در معرف اسیدی به مولکول پروتئین است. اندازه‌گیری نشت الکتروولیت‌ها طبق روش تامللا<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۰۵) صورت گرفت.

پس از اندازه‌گیری و محاسبات صفات ذکر شده، نتایج به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS تجزیه واریانس و مقایسات میانگین با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال خطای ۵ درصد انجام شد.

### نتایج و بحث

تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده در تیمارهای مختلف پیری در بذر هیبریدهای ذرت نشان داد که برهمکنش تیمارهای اعمال شده بر تمامی صفات بررسی شده در سطح احتمال خطای پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

نتایج مقایسات میانگین درصد جوانه‌زنی در پاسخ به تیمار پیری زودرس نشان داد که در تمامی هیبریدها با افزایش مدت زمان پیری درصد جوانه‌زنی کاهش یافت، به‌طوری که کمترین میزان این شاخص در شرایط تیمار ۱۲ روز پیری به‌دست آمد (شکل ۱). دلایل اصلی کاهش جوانه‌زنی در طول زوال بذر مشخص نیست؛ اما دلایلی مانند پراکسیداسیون لیپید، اختلال در RNA و سنتز DNA برای تخریب سلول بذر ذکر شده است (مک دونالد<sup>۲</sup>، ۱۹۹۹؛ پریستلی<sup>۳</sup>، ۱۹۸۶).

نتایج مقایسه میانگین زمان جوانه‌زنی تحت تاثیر تیمار پیری زودرس نشان داد که میانگین زمان جوانه‌زنی تمامی هیبریدها در پاسخ به افزایش زمان پیری افزایش یافت. کمترین و بیشترین میزان جوانه‌زنی به ترتیب مربوط به تیمار شاهد و هیبرید Sc703 و ۱۲ روز پیری و هیبرید Sc701 بود (شکل ۲). به طور کلی در تیمار ۱۲ روز پیری تسریع شده و شاهد به ترتیب بیشترین و کمترین میانگین زمان جوانه‌زنی نشان داده شده است. تقریباً در تمام هیبریدها پس از اعمال دوره کامل پیری مصنوعی میانگین زمان

<sup>1</sup> Tammela

<sup>2</sup> McDonald

<sup>3</sup> Priestly

<sup>4</sup> Tatic

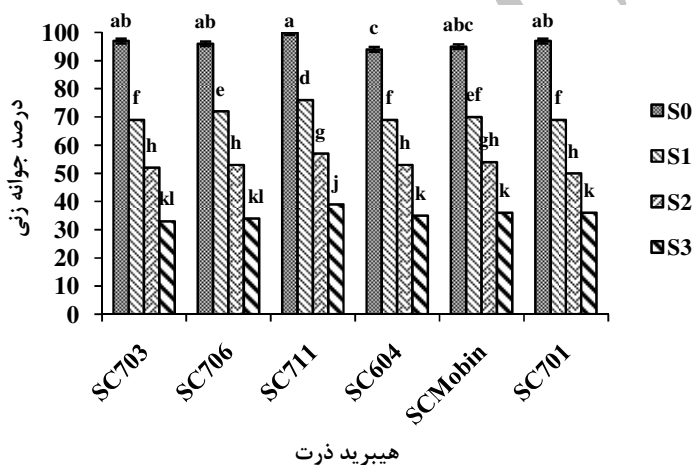
<sup>5</sup> Gupta and Aneja

## دارایی و همکاران: تأثیر پیری زودرس بر جوانه‌زنی و فعالیت آن‌تی‌اکسیدانت‌های بذر...

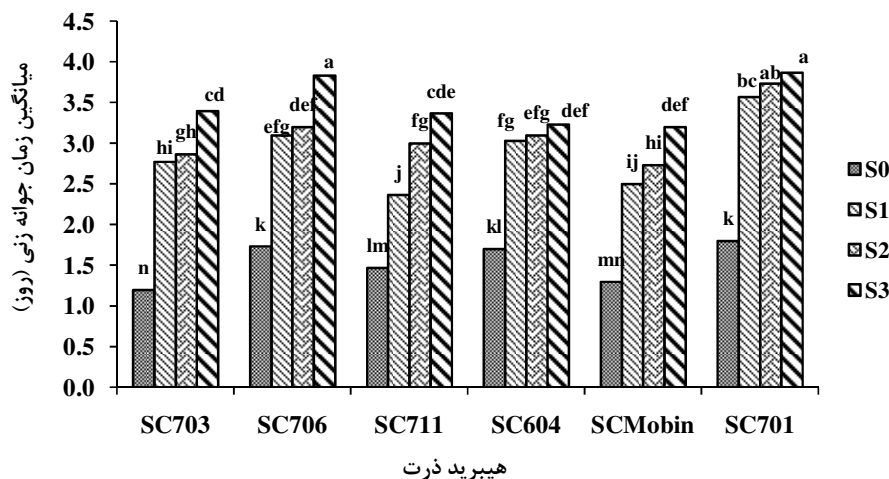
جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات مختلف فیزیولوژیک و بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده در تیمارهای مختلف پیری در بذر هیبریدهای ذرت

| منبع تغییرات        | درجه آزادی | درصد جوانه‌زنی     | میانگین زمان جوانه‌زنی | درصد گیاهچه‌های طبیعی | آنزیم پراکسیداز | آنزیم آسکوربات پراکسیداز | آنزیم سوپراکسید دیسموتاز | آنزیم کاتالاز | میزان پروتئین محلول | نشت الکترولیت‌ها | رقم |
|---------------------|------------|--------------------|------------------------|-----------------------|-----------------|--------------------------|--------------------------|---------------|---------------------|------------------|-----|
| رقم پیری زودرس      | ۵          | ۴۸/۶ <sup>ns</sup> | ۱۲/۹۷۳**               | ۴۷۶/۸**               | ۱۱۵۷۴**         | ۱۲۲۹۵**                  | ۸۲۲۰**                   | ۸۳۳۹**        | ۳۰۱۱**              | ۲/۸۰۱**          | ۵   |
| رقم پیری × زودرس    | ۳          | ۱۲۹۵**             | ۰/۷۳۶**                | ۲۲۸/۵**               | ۶۷۱۸۲**         | ۲۳۹۷۷**                  | ۲۳۷۵**                   | ۱۹۸۲۸**       | ۷۶۰۶**              | ۶/۱۰۸**          | ۳   |
| خطا                 | ۱۵         | ۵/۵۳**             | ۰/۲۱۹**                | ۳۴۳/۸**               | ۱۶۱۰**          | ۱۳۰/۷**                  | ۵۳/۴۸**                  | ۳۴۶**         | ۱۰۱/۶۲**            | ۰/۱۲۱**          | ۱۵  |
| ضریب تغییرات (درصد) | ۷۲         | ۳۷/۵               | ۰/۰۲۲                  | ۲۳۷/۷                 | ۱۳۸/۵           | ۷۹/۳۶                    | ۳۲/۹۸                    | ۵۵/۲۱         | ۴۱/۵                | ۰/۰۳۷            | ۷۲  |
| ضریب تغییرات (درصد) |            | ۹/۵۷               | ۵/۴۲                   | ۱۰/۴۲                 | ۱۳/۴۶           | ۱۰/۴۱                    | ۷/۴۲                     | ۱۱/۸۶         | ۱۰/۲                | ۸/۶۳             |     |

\* و \*\* به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد، ns: غیر معنی‌دار



شکل ۱- درصد جوانه‌زنی در هیبریدهای مختلف ذرت تحت تأثیر تنش زوال بذر (پیری تسریع شده). S0: شاهد، S1: ۴ روز زوال، S2: ۸ روز زوال و S3: ۱۲ روز زوال (حروف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن است).



شکل ۲- میانگین زمان جوانه‌زنی در هیبریدهای مختلف ذرت تحت تأثیر تنش زوال بذر (پیری تسریع شده). S0: شاهد، S1: ۴ روز زوال، S2: ۸ روز زوال و S3: ۱۲ روز زوال (حروف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن است).

می‌شوند (گوئل و همکاران، ۲۰۰۳؛ باسرا<sup>۲</sup> و همکاران، ۲۰۰۳). در مطالعات مختلف روی آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) (بیلی و همکاران، ۲۰۰۰؛ کببیناز و همکاران، ۲۰۰۶)، سویا (*Glycine max* L.) (سونگ<sup>۳</sup>، ۱۹۹۶)، افرا نوژی (*Fagus sylvatica*) (پوکاکا و راتاجزک، ۲۰۰۵)، بادام زمینی (*Arachis hypogaea* L.) (سونگ و جنگ، ۱۹۹۴) و هندوانه (*Citrullus lanatus*) (چیو<sup>۴</sup> و همکاران، ۱۹۹۵) نشان داده شده که در زوال بذر افزایش نشت الکترولیت با کاهش توانایی بذر برای جوانه‌زنی همراه است. در این آزمایش افزایش زمان پیری زودرس در تمامی هیبریدها با کاهش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز همراه بود، به طوری که کمترین و بیشترین فعالیت به ترتیب مربوط به تیمار ۱۲ روز پیری و تیمار شاهد بود (شکل ۵). این نتایج با گزارش‌های قبلی مطابقت داشت (گوئل و همکاران، ۲۰۰۰؛ غلامی تیله‌بنی و گلپایگانی، ۲۰۱۱).

درصد تغییرات رخ داده در بذر طی پیری به طوری معنی‌داری به کیفیت و طول عمر بذر بستگی دارد. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که طی انبارداری پایداری غشاء تحت تأثیر پیری زودرس قرار گرفت، به طوری که در تمام هیبریدهای مورد بررسی در این آزمایش با افزایش زمان پیری میزان نشت الکترولیت‌ها از غشاء بذر افزایش یافت. کمترین و بیشترین میزان نشت به ترتیب در تیمار شاهد و ۱۲ روز پیری به دست آمد (شکل ۴). در طی زمان تغییرات غیرقابل برگشت بیوشیمیایی و سلولی زیادی روی می‌دهد؛ که از بین رفتن یکپارچگی غشاء از جمله آن‌هاست. اسیدهای چرب غیراشباع نسبت به اکسیداسیون خیلی حساس هستند و در اثر اکسیداسیون به ترکیباتی نظیر پراکسید، آن دیول، کتوهیدروکسید و اپوکسید تبدیل می‌شوند که سبب ایجاد واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکال‌های آزاد می‌شوند، این حالت سبب افزایش قابلیت نفوذپذیری غشاء شده و میزان خروج الکترولیت‌ها و مواد داخل سلول مثل آنزیم‌ها از سیتوسول افزایش پیدا می‌کند (گوئل<sup>۱</sup> و همکاران، ۲۰۰۳).

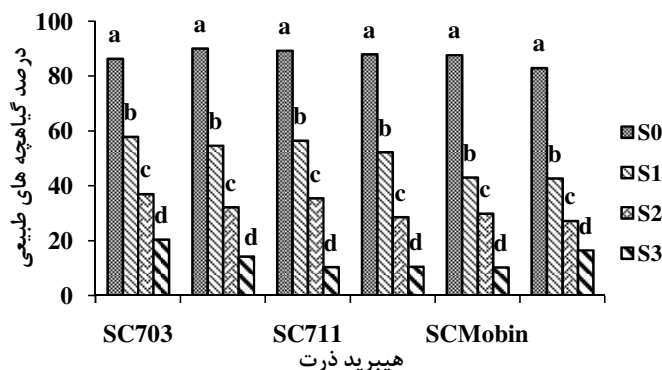
همچنین پراکسیداسیون چربی‌های غشاء سلولی از دیگر تغییراتی است که باعث افزایش نشت الکترولیت‌ها

<sup>2</sup> Basra

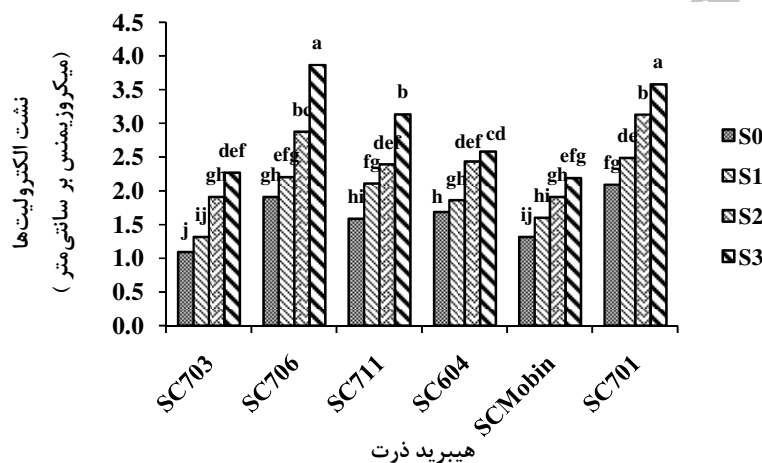
<sup>3</sup> Sung

<sup>4</sup> Chiu

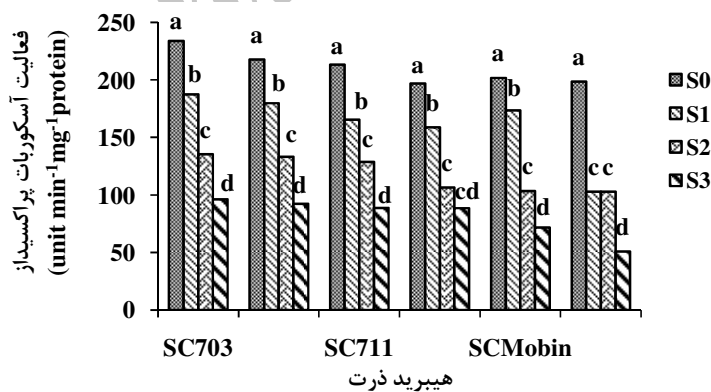
<sup>1</sup> Goel



شکل ۳- درصد گیاهچه‌های طبیعی در هیبریدهای مختلف ذرت تحت تأثیر تنش زوال بذر (پیری تسریع شده). S0: شاهد، S1: ۴ روز زوال، S2: ۸ روز زوال و S3: ۱۲ روز زوال (حروف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن است).



شکل ۴- میزان نشت الکترولیت‌ها در هیبریدهای مختلف ذرت تحت تأثیر تنش زوال بذر (پیری تسریع شده). S0: شاهد، S1: ۴ روز زوال، S2: ۸ روز زوال و S3: ۱۲ روز زوال (حروف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن است).



شکل ۵- فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در هیبریدهای مختلف ذرت تحت تأثیر تنش زوال بذر (پیری تسریع شده). S0: شاهد، S1: ۴ روز زوال، S2: ۸ روز زوال و S3: ۱۲ روز زوال (حروف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن است).

کند. این مکانیسم‌های حفاظتی شامل چندین آنزیم کاهش‌دهنده رادیکال آزاد و مهار پراکسید مانند

مکانیسم‌های حفاظتی در ذرت وجود دارد که می‌تواند تولید رادیکال‌های آزاد و پراکسیدها را کنترل



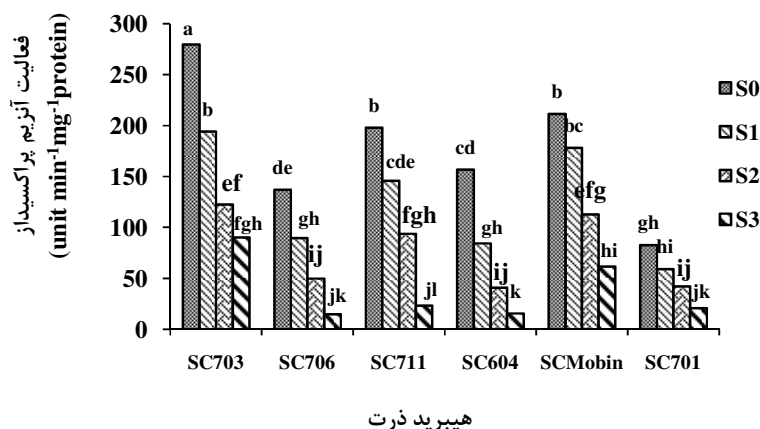
حفاظتی نخواهد بود. کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی بر اثر پیری بذر به دلایل متعددی مانند آسیب رسیدن به سنتز RNA است که در نهایت موجب کاهش تولید پروتئین‌ها خواهد شد (باسرا و همکاران، ۲۰۰۳). دلیل دیگر برای کاهش فعالیت این آنزیم‌ها، حمله گونه‌های فعال اکسیژن است که در طی زوال بذر افزایش می‌یابند و موجب تخریب آنزیم‌ها می‌شوند (بیلی و همکاران، ۲۰۰۰).

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش دوره زوال به‌طور معنی‌داری از میزان پروتئین‌های محلول بذر کاسته شده است، به‌طوری که بیشترین میزان مربوط به سینگل کراس ۷۰۳ و تیمار شاهد بود و کمترین نیز مربوط به سینگل کراس ۶۰۴ و تیمار ۱۲ روز پیری بود (شکل ۹).

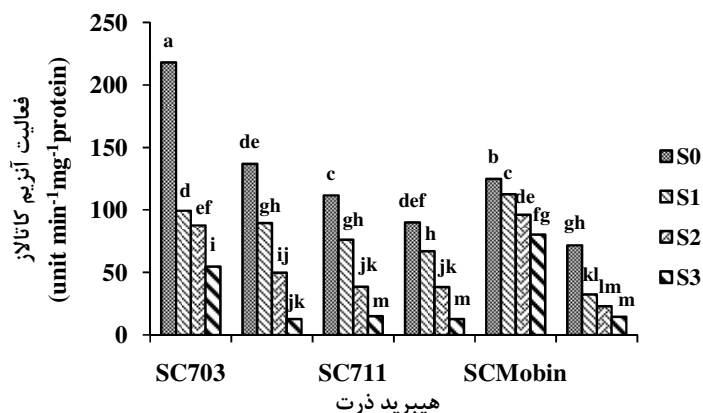
کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و میزان پروتئین‌های محلول در تحقیقات دیگر پژوهشگران روی گیاه ذرت گزارش شده است (گودرزیان و همکاران، ۱۳۹۳؛ گوئل و همکاران، ۲۰۰۳). با این حال دلایل قطعی برای کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در طی زوال بذر گزارش نشده است، اما آسیب رسیدن به سنتز RNA که در نهایت منجر به کاهش پروتئین می‌شود، رسوب و غیرفعال شدن آنزیم‌ها، حمله گونه‌های فعال اکسیژن به آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت که موجب تخریب آنزیم‌ها می‌شود و

سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز می‌باشد.

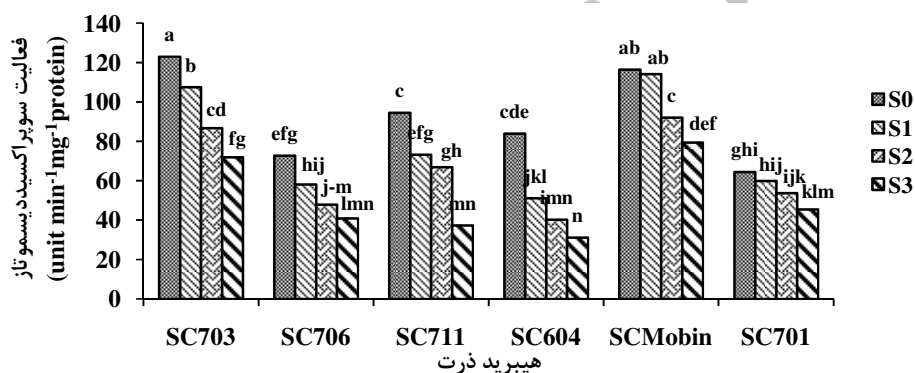
طبق نتایج مقایسات میانگین بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در تیمار شاهد بود و سینگل کراس مبین کمترین کاهش را در طول مدت زمان اعمال تیمار از خود نشان داد. سینگل کراس‌های ۷۰۳ و ۶۰۴ و ۷۱۱ بیشترین کاهش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت پس از دوره زوال را نشان داد. فعالیت آنزیم کاتالاز با افزایش مدت زمان تیمار پیری مصنوعی کاهش معنی‌داری نشان داد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در سینگل کراس ۷۰۳ در تیمار شاهد بود. کمترین فعالیت آنزیم در تیمار ۱۲ روز پیری و سینگل کراس‌های ۷۰۱ و ۶۰۴ و ۷۱۱ دیده شد. میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در آخرین تیمار اعمال شده (۱۲ روز پیری) در کلیه هیبریدها فعالیت آن به نصف و کمتر از آن نسبت به تیمار شاهد رسیده و به‌طور چشمگیری کاهش نشان داد (شکل‌های ۶ و ۷). همچنین نتایج مقایسه میانگین نشان داد که فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز با افزایش تیمار پیری به‌طور معنی‌داری کاهش یافت، به‌طوری که بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در تیمار شاهد و سینگل کراس ۷۰۳ بود و کمترین آن در تیمار ۱۲ روز پیری و سینگل کراس ۶۰۴ بود (شکل ۸). این نتایج بیان می‌دارد که با افزایش دوره پیری زودرس بذر قادر به حفظ آنزیم‌های



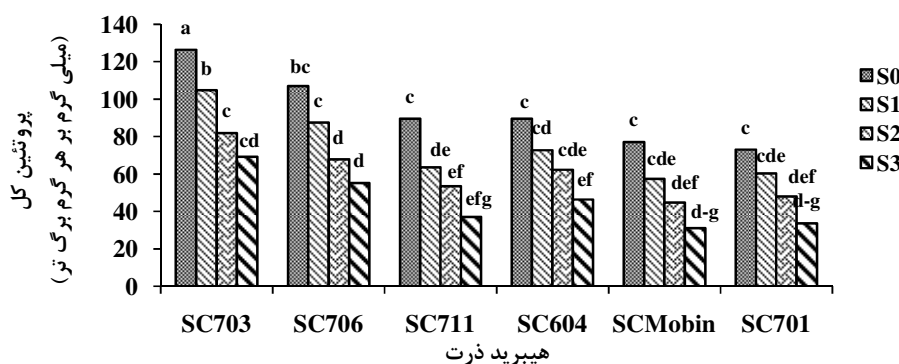
شکل ۶- فعالیت آنزیم پراکسیداز در هیبریدهای مختلف ذرت تحت تأثیر تنش زوال بذر (پیری تسریع شده). S0: شاهد، S1: ۴ روز زوال، S2: ۸ روز زوال و S3: ۱۲ روز زوال (حروف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن است).



شکل ۷- فعالیت آنزیم کاتالاز در هیبریدهای مختلف ذرت تحت تأثیر تنش زوال بذر (پیری تسریع شده). S0: شاهد، S1: ۴ روز زوال، S2: ۸ روز زوال و S3: ۱۲ روز زوال (حروف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن است).



شکل ۸- فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در هیبریدهای مختلف ذرت تحت تأثیر تنش زوال بذر (پیری تسریع شده). S0: شاهد، S1: ۴ روز زوال، S2: ۸ روز زوال و S3: ۱۲ روز زوال (حروف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن است).



شکل ۹- میزان پروتئین کل در هیبریدهای مختلف ذرت تحت تأثیر تنش زوال بذر (پیری تسریع شده). S0: شاهد، S1: ۴ روز زوال، S2: ۸ روز زوال و S3: ۱۲ روز زوال (حروف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن است).

جدول ۲- ضریب همبستگی صفات مختلف اندازه‌گیری شده در تیمارهای مختلف پیری در بذر هیبریدهای مختلف ذرت

| پروتئین<br>Protein | آسکوریات<br>پراکسیداز<br>APX | پراکسیداز<br>POX   | کاتالاز<br>CAT | سوپراکسید<br>دیسموتاز<br>SOD | نشت<br>الکترولیت‌ها<br>LK | درصد<br>گیاهچه‌های<br>طبیعی<br>NSP | میانگین<br>زمان<br>جوانه‌زنی<br>MTG | درصد<br>جوانه‌زنی<br>GP |         |
|--------------------|------------------------------|--------------------|----------------|------------------------------|---------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------|---------|
| ۱                  | ۰/۵۷*                        | ۰/۶۰۷**            | ۰/۶۵۱*         | ۰/۷۸۲**                      | -۰/۴۱۳*                   | -۰/۳۹۱*                            | -۰/۷۰۱*                             | ۰/۴۳*                   | Protein |
|                    | ۱                            | ۰/۳۹ <sup>NS</sup> | ۰/۵۲۷*         | ۰/۴۲۸*                       | ۰/۵۲۷ <sup>NS</sup>       | -۰/۲۶ <sup>NS</sup>                | -۰/۵۰۹**                            | ۰/۶۲**                  | APX     |
|                    |                              | ۱                  | ۰/۶۱۶**        | ۰/۴۸۶**                      | -۰/۶۶**                   | ۰/۳۶*                              | -۰/۴۷ <sup>NS</sup>                 | ۹۲۴**                   | POX     |
|                    |                              |                    | ۱              | ۰/۳۵*                        | -۰/۳۰۱*                   | ۰/۳۹۷**                            | ۰/۰۵۸ <sup>NS</sup>                 | ۰/۷۱۳**                 | CAT     |
|                    |                              |                    |                | ۱                            | -۰/۷۱**                   | -۰/۵۷۳*                            | ۰/۳۹۶**                             | ۰/۵۴۸**                 | SOD     |
|                    |                              |                    |                |                              | ۱                         | ۰/۸۲**                             | ۰/۰۱۱ <sup>NS</sup>                 | -۰/۷**                  | LK      |
|                    |                              |                    |                |                              |                           | ۱                                  | ۰/۷۱۸*                              | -۰/۶۷۹**                | NSP     |
|                    |                              |                    |                |                              |                           |                                    | ۱                                   | -۰/۱۲۳ <sup>NS</sup>    | MTG     |
|                    |                              |                    |                |                              |                           |                                    |                                     | ۱                       | GP      |

\* در سطح خطای پنج درصد معنی‌دار، \*\* در سطح خطای یک درصد معنی‌دار، NS: غیر معنی‌دار

## نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست‌آمده از این آزمایش نشان می‌دهد بذر ذرت طی انبارداری دچار افت بنیه می‌گردد و هرچه شرایط نامساعدتر باشد، سرعت افت بیشتر است. افزایش زمان انبارداری باعث افزایش شیب افت بنیه بذر می‌گردد. همچنین در ادامه کاهش توانایی بذر با اختلال گسترده در کارایی سامانه دفاعی آنتی‌اکسیدانتی همراه است که با کاهش در فعالیت کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز همراه است. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در طول زوال بذر کاهش قابل‌توجهی را نشان داد. در واقع پیری بذر منجر به از رفتن سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانتی نشده است، بلکه سبب کاهش سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانتی در بذر می‌شود. همچنین نتایج نشان داد که با افزایش نشت الکترولیت‌ها فعالیت آنزیمی آنتی‌اکسیدانتی کاهش می‌یابد. به‌طور کلی در بین ارقام مورد مطالعه در این پژوهش رقم سینگل کراس ۷۰۳ در مقایسه با سایر ارقام نسبت به شرایط زوال متحمل‌تر بود.

قندهای احیاشده می‌توانند در واکنش‌های آمادوری و مایلارد نقش کاهش فعالیت آنزیم‌ها را ایفا کنند (لهنر و همکاران<sup>۱</sup>، ۲۰۰۸).

جدول ضریب همبستگی صفات نشان می‌دهد که درصد جوانه‌زنی با فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح یک درصد دارد؛ اما با میزان نشت الکترولیت‌ها همبستگی منفی و معنی‌داری دارد که نشان‌دهنده کاهش قدرت بذر برای جوانه‌زنی هم‌زمان با افزایش میزان نشت الکترولیت‌ها می‌باشد (جدول ۲). همچنین میانگین زمان جوانه‌زنی فقط با فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز رابطه معنی‌دار و مثبتی ( $r=0.396$ ) داشت (جدول ۲). نتایج به دست آمده توسط محققان نشان می‌دهد که درصد جوانه‌زنی با نشت یونی رابطه عکس دارد؛ به‌گونه‌ای که با افزایش هدایت الکتریکی از غشاء درصد جوانه‌زنی کاهش یافته است و می‌توان از این رابطه به‌عنوان یک شاخص مناسب برای ارزیابی کیفی بذور گیاهان یاد کرد (رائو<sup>۲</sup> و همکاران، ۲۰۰۶).

<sup>1</sup> Lehner<sup>2</sup> Rao

## منابع

- اکرم قادری، ر.، سلطانی، ا. و صادقی‌پور، ح. ر. ۱۳۸۷. تغییرات بیوشیمیایی در بذور کدو تنبل تحت تأثیر پیری زودرس. سومین کنگره گیاهان دارویی. دانشگاه شاهد، تهران.
- توکل افشاری، ر.، قاسمیان، ف.، مجنون حسینی، ن.، علی‌زاده، ه. و بی‌همتا، م. ر. ۱۳۸۶. تأثیر پیری زودرس بر جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کاتالاز و پراکسیداز در ژنوتیپ‌های جو. مجله علوم کشاورزی ایران، ۳۸(۲): ۳۴۶-۳۳۷.
- زمانی، ا.، سعادت نوری، س.ا.، توکل افشاری، ر.، ایران‌نژاد، ح.، اکبری، ج.ا. و توکلی، ا. ۱۳۸۹. بررسی پراکسیداسیون چربی‌ها و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در بذر گلرنگ تحت شرایط پیری طبیعی و مصنوعی. مجله علوم گیاهان زراعی ایران (علوم کشاورزی ایران)، ۴۱(۳): ۵۴۵-۵۵۴.
- صیامی، ر. ۱۳۸۸. تکنولوژی بذر ذرت (ترجمه). نشر سپهر. چاپ اول. ۱۸۷ صفحه.
- صید محمدی، م. ۱۳۹۱. ارزیابی تأثیر سالیسیک اسید بر پاسخ‌های دما-رطوبتی در بذور زوال یافته دو رقم کلزا تحت تنش خشکی و شوری. پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه تهران، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج. ۳۷۸ صفحه.
- گودرزیان، م.، قاسمی، ا.، منصوری‌فر، س. و سعیدی، م. ۱۳۹۳. تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، غلظت مالون دی‌آلدئید و شاخص‌های جوانه‌زنی سه هیبرید ذرت در برابر تنش شوری. نشریه تحقیقات بذر، ۴(۱): ۲۸-۱۹.
- نورمحمدی، ق.، سیادت، ع. و کاشانی، ع. ۱۳۸۷. زراعت، جلد اول (غلات). ۴۴۶ صفحه.
- Agrawal, R. 2005. Seed technology. Oxford and IBH Publishing Co, 82p.
- Alscher, R.G. 1989. Biosynthesis and antioxidant function of glutathione in plants. *Physiologia Plantarum*, 77(3): 457-464. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1989.tb05667.x>
- Bailly, C., Benamar, A., Corbineau, F., and Come, D. 2000. Antioxidant systems in sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds as affected by priming. *Seed Science Research*, 10: 35-42. <https://doi.org/10.1017/S0960258500000040>
- Balesevic-Tubic, S. 2001. The influence of aging process on seed viability and biochemical changes in sunflower seed. Ph.D. Thesis – University of Novi Sad, Novi Sad (Yugoslavia).
- Basra, S.M.A., Ahmad, N., Khan, M.M., Iqbal, N., and Cheema, M.A. 2003. Assessment of cotton seed deterioration during accelerated ageing. *Seed Science and Technology*, 31(3): 531-540. <https://doi.org/10.15258/sst.2003.31.3.02>
- Beauchamp, C., and Fridovich, I. 1971. Superoxide dismutases: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry* 44(1): 276-287. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(71\)90370-8](https://doi.org/10.1016/0003-2697(71)90370-8)
- Bewley, J.D., and Black, M. 1994. *Seeds: Physiology of Development and Germination*. Plenum Press, New York. <https://doi.org/10.1007/978-1-4899-1002-8>
- Bradford, M.M. 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. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Chance, B., and Maehly, A.C. 1995. Assay of catalases and peroxidase. *Methods in Enzymology*, 2: 764-775. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(55\)02300-8](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(55)02300-8)

- Chiu, K.Y., Wang, C.S., and Sung, J.M. 1995. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes associated with accelerated aging and hydration of watermelon seeds differing in ploidy. *Physiologia Plantarum*, 94: 441-446.  
<https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1995.940310.x>
- Demir Kaya, M., Dietz, K.J., and Sivriteoe, H. O. 2010. Changes in antioxidant enzymes during ageing of onion seeds. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 38(1): 49-52.
- Gholami Tilebeni, H., and Golpayegani, A. 2011. Effect of seed ageing on physiological and biochemical changes in rice seed (*Oryza sativa* L.). *International Journal of AgriScience*, 1(3): 138-143.
- Goel, A., Goel, A.K., and Sheoran, I.S. 2003. Changes in oxidative stress enzymes during artificial ageing in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) seeds. *Journal of Plant Physiology*, 160: 1093-1100.  
<https://doi.org/10.1078/0176-1617-00881>
- Gupta, A., and Aneja, K.R. 2004. Seed deterioration in soybean varieties during storage-physiological attributes. *Seed Research*, 32(1): 26-32.
- ISTA, 1999. International rules for seed testing. *Seed Science and Technology*, 13: 299-520.
- Kalpana, R., and Madhava Rao, K.V. 1994. Absence of the role of lipid peroxidation during accelerated ageing of seeds of pigeon pea (*Cajanus cajan* L.) cultivars. *Seed Science and Technology*, 22(2): 253-260.
- Kibinza, S., Vinel, D., Co^ me, D., Bailly, C., and Corbineau, F. 2006. Sunflower seed deterioration as related to moisture content during ageing, energy metabolism and active oxygen species scavenging. *Physiologia Plantarum*, 128(3): 496-506.  
<https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00771.x>
- Lehner, A., Mamadou, N., Poels, P., Come, D., Bailly, C., and Corbineau, F. 2008. Change in soluble carbohydrates, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in the embryo during aging in wheat grains. *Journal of Cereal Science*, 47(3): 555-565.  
<https://doi.org/10.1016/j.jcs.2007.06.017>
- Linn, S.S., and Pearce, R.S. 1990. Changes in lipids in bean seeds (*Phaseolus vulgaris*) and corn caryopses (*Zea mays*) aged in contrasting environments. *Annals of Botany*, 65(4): 451-456.  
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a087955>
- McDonald, M.B. 1999. Seed deterioration: physiology, repair, and assessment. *Seed Science and Technology*, 27: 177-237.
- Mohammadi, H., Soltani, A., Sadeghipour, H.R., and Zeinali, E. 2011. Effect of seed aging on subsequent seed reserve utilization and seedling growth in soybean. *International Journal of Plant Production*, 5(1): 65-70.
- Mohsennasab, F., Sharifzadeh, M., and Siadat A. 2010. Study the Seed deterioration on germination and seedling growth of wheat genotype under laboratory conditions. *Journal of Crop Physiology*, 7: 59-71.
- Msuya, D.G., and Stefano, J. 2010. Responses of maize (*Zea mays* L.) seed germination capacity and vigour to seed selection based on size of cob and selective threshing. *World Journal of Agricultural Sciences*, 6(6): 683-688.
- Priestly, D.A. 1986. Seed aging: Implication for seed storage and persistence in the soil. Cornell University Press. Ithaca, NY.
- Pukacka, S., and Ratajczak, E. 2005. Production and scavenging of reactive oxygen species in *Fagussylvatica* seeds during storage at varied temperature and humidity. *Journal of Plant Physiology*, 162: 873-885. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2004.10.012>

- Rajjou, L., Lovigny, Y., Job, C., Belghazi, M., Groot, S., and Job, D. 2007. Seed quality and germination. In *Seeds: Biology, Development and Ecology* (eds.). 324-332.  
<https://doi.org/10.1079/9781845931971.0324>
- Rao, R.G.S., Singh, P.M., and Mathura, R. 2006. Storability of onion seeds and effects of packaging and storage conditions on viability and vigour. *Scientia Horticulturae*, 110: 1-6.  
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.06.002>
- Sinha, A.K. 1972. Colorimetric assay of catalase. *Analytical Biochemistry*, 47(2): 389-394.  
[https://doi.org/10.1016/0003-2697\(72\)90132-7](https://doi.org/10.1016/0003-2697(72)90132-7)
- Soltani, E., Galeshi, S., Kamkar, B., and Akramghaderi, F. 2008. Modeling seed aging effects on response of germination to temperature in wheat. *Seed Science and Biotechnology*, 2(1): 32-36.
- Sung, J.M. 1996. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging in soybean seeds during aging. *Physiologia Plantarum*, 97(1): 85-89. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1996.tb00482.x>
- Sung, J.M., and Jeng, T.L. 1994. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes associated with accelerated aging of peanut seed. *Physiologia Plantarum*, 91(1): 51-55.  
<https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1994.910108.x>
- Tammela, P., Vaananen, P.S., Lakso, I., Hopia, A., Vourela, H., and Nygrem, M. 2005. Tocopherols, tocoterienols and fatty acids as indicators of natural ageing in *Pinus sylvestris* seeds. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 20(5): 378-384.  
<https://doi.org/10.1080/02827580500292063>
- Tatić, M., Balešević-Tubić, S., Vujaković, M. and Nikolić, Z. 2008. Changes of germination during natural and accelerated aging of soybean seed. Proc. The Second Joint PSU–UNS International Conference on BioScience: Food, Agriculture and the Environment Jun 22–24, 2008 Novi Sad, Serbia.
- Walters, C. 1998. Understanding the mechanisms and kinetics of seed aging. *Seed Science Research*, 8(2): 223-244.  
<https://doi.org/10.1017/S096025850000413X>

Archive of SID

## The Effects of Accelerated Aging Test on Germination and Activity of Antioxidant Enzymes of Maize (*Zea mays*) Hybrid Varieties Seeds

Fereshte Darabi<sup>1, \*</sup>, Maryam Valipour<sup>2</sup>, Rahim Naseri<sup>3</sup>, Meysam Moradi<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Ph.D. Student of Plant Growth Physiology, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran

<sup>2</sup> Graduated from the Department of Agriculture, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran

<sup>3</sup> Ph.D. of Agronomy, Agronomy and Plant Breeding Department, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran

<sup>4</sup> Coach of Agricultural Science, Payam Noor University of Tehran, Iran

\*Corresponding author, E-mail address: [f.darabi@ilam.ac.ir](mailto:f.darabi@ilam.ac.ir)

(Received: 26.07.2016 ; Accepted: 14.05.2017)

### Abstract

Unfavorable storage conditions, especially relatively high environment humidity and high storage temperature greatly affect the quality of corn seeds. The effects of temperature, environment moisture and length of storage on six maize hybrids were examined. For the purpose of investigating germination traits, total soluble proteins, leakage electrolytes and the activity of antioxidant enzymes in maize hybrids, an experiment was carried out at the Agronomy and Plant Breeding Laboratory of Ilam University in 2016. The study was conducted as two factorial experiments, adopting a completely randomized design with three replications. The first factor comprised six maize hybrids (single crosses: 703, 706, 711, 604, Mobin and 701) that were obtained from Karaj Seed Breeding and Seedling Institute, Iran. The second factor was accelerated aging test in four levels involving non-aging (control treatment), aging for 4, 8 and 12 days under 40°C temperature and 95% humidity. The results showed that mean time to germination and electrolyte leakage significantly increased with aging duration. Mean time to germination and electrolyte leakage of the hybrids 701, Mobin and 711 increased more than the other hybrids. In addition, antioxidant enzyme activity decreased significantly with an increase in the aging period. These results indicated severe damage to cell membranes and enzyme activity in these hybrids. Moreover, there was a significant and positive correlation between germination percentage and the enzyme peroxides, as compared with other antioxidant enzymes. Although antioxidant enzyme activity exhibited a significant reduction in seed deterioration, nonetheless, generally speaking, compared with other varieties, KSC 703 was more tolerant.

**Keywords:** *Catalase, Electrolytes leakage, Peroxidase, Protein, Seed deterioration*

### Highlights:

- 1- The germination response of six hybrids of the maze to seed deterioration was investigated.
- 2- The role of antioxidant enzymes in deteriorated seeds of maize hybrids was examined.