

بررسی تأثیر کیفیت اولیه بذر و شرایط انبارداری بر تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی بذر سویا

سامان شیدائی^{۱*}، آیدین حمیدی^۲، حسین صادقی^۳، بیتا اسکویی^۴

۱، ۲، ۳، ۴. عضو هیأت علمی، مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۷/۲۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۲/۳۰)

چکیده

به منظور ارزیابی تغییرات بیوشیمیایی در طی زوال بذر سویا، تحقیقی به صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کامل تصادفی اجرا گردید. فاکتورهای آزمایش شامل قوه نامیه در دو سطح قوه نامیه ۸۰٪ و ۹۰٪، سه میزان رطوبت اولیه بذر شامل رطوبت پایین (۱۰٪)، رطوبت متوسط (۱۲٪) و رطوبت بالا (۱۴٪) و دو شرایط انبارکردن شامل انبار متداول نگهداری بذر سویا در مغان و انبار با دما و رطوبت کنترل شده در نظر گرفته شد. صفات درصد جوانه‌زنی، بنیه، میزان پروتئین، قندهای محلول، مالون دی آلدئید، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز مورد سنجش قرار گرفتند. بررسی تغییرات بیوشیمیایی بذرهای زوال یافته در طی انبار کردن نشان داد که با افزایش زوال بذرهای میزان قندهای محلول و درصد پروتئین کاهش یافت و نگهداری بذر در شرایط نامناسب باعث کاهش معنی‌دار در میزان قندهای محلول و پروتئین کل بذر شد. همچنین با افزایش رطوبت بذر که افزایش زوال بذر را در پی داشت از محتوای قندهای محلول و پروتئین کل به‌طور معنی‌داری کاسته شد. بین بذرهای با قوه نامیه اولیه متفاوت تفاوت معنی‌داری دیده شد و بذرهای با قوه نامیه اولیه ۹۰ درصد به‌طور معنی‌داری محتوای قندهای محلول و درصد پروتئین بالاتری داشتند. همچنین با اندازه‌گیری میزان مالون دی آلدئید و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز مشخص گردید بین میزان زوال بذر با میزان مالون دی آلدئید و فعالیت آنزیم‌های تنظیف همبستگی بالایی مشاهده گردید. همراه با کاهش میزان جوانه‌زنی و کیفیت بذر سویا پس از انبارکردن، میزان پراکسیداسیون چربی‌ها افزایش و زوال بذر از فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در طی انبارکردن کاست.

کلمات کلیدی: انبارداری، پروتئین، قندهای محلول، کاتالاز، مالون‌دی‌آلدئید.

Evaluation of initial seed quality and storage conditions on biochemical and physiological changes of soybean seeds

S. Sheidaei¹, A. Hamidi², H. Sadeghi³, B. Oskouei⁴

1, 2, 3, 4. Seed and Plant Certification and Registration Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

(Received: Oct. 15, 2018 – Accepted: May. 20, 2019)

Abstract

A factorial experiment was conducted to evaluate the biochemical changes during the soybean seed deterioration based on a completely randomized design. The treatments consisted of germination in two levels of minimum and high quality, three initial seed moisture content (low, medium and high moisture), and two storage conditions were considered including the common storage in Moghan and the controlled storage condition. Indices of germination percentage, vigor and biochemical changes including protein content, soluble sugars, malondialdehyde, catalase and peroxidase enzymes were evaluated. The study of biochemical changes of deteriorated seeds during the storage showed that, with the increase of seeds' deterioration, the soluble sugars and protein percentage decreased, as well. Moreover, seeds' storage in poor condition caused a significant decrease in seeds' soluble sugar and total protein content. Also, the increase of seed moisture was followed by further seed deterioration that significantly decreased the content of soluble sugars and total protein. Significant differences were observed between seeds with different initial germinations and they had significantly higher content of soluble sugars and protein percentages. Furthermore, measuring the amount of malondialdehyde and the activity of catalase and peroxidase enzymes indicated that there exists a significant correlation between the degree of seed deterioration with the level of malondialdehyde and the activity of scavenging enzymes. Overall, along with the decrease of germination and the quality of soybean seeds after the storage, the amount of lipids peroxidation increased and the seed deterioration decreased the activity of catalase and peroxidase enzymes during the storage.

Keyword: Catalase, Malondialdehyde, Protein, Soluble sugar, Storage.

* Email: saman_sheidaei@yahoo.com

کاهش قدرت حیات با افزایش محتوی رطوبتی سرعت می‌یابد (Kibinza *et al.*, 2006).

کاهش بنیه و زنده‌مانی در انبار شامل محدوده وسیعی از عواملی است که می‌توان آن‌ها را به گروه‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی تقسیم کرد که در این میان تغییرات فیزیولوژیکی موجب کاهش سرعت جوانه‌زنی و کاهش رشد گیاهچه می‌گردد. در سطوح بیوشیمیایی نیز زوال بذر موجب کاهش فعالیت‌های متابولیکی ضمن جوانه‌زنی، تغییر در فعالیت‌های آنزیمی و کاهش بیوسنتز اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها می‌گردد (McDonald, 2004).

کریشنان و همکاران (Krishnan *et al.*, 2000) طی آزمایش‌های خود نشان دادند که میزان کل پروتئین در محورهای جنینی و لپه‌های بذرها ریکال سیرانت در طول دوره نگهداری کاهش می‌یابد. یکی از دلایل کاهش پروتئین بذر، خسارت به سیستم‌های سنتزکننده پروتئین است. از دلایل دیگر، می‌توان به سنتز و فعالیت بالای آنزیم‌های پروتئولیتیک در طول زوال بذر اشاره کرد (McDonald, 2004). کریشنان و همکاران (Krishnan *et al.*, 2000) نشان دادند که در طول دوره نگهداری بذر، میزان قندهای محلول در بذر افزایش می‌یابد، ولی در مقابل میزان پروتئین و نشاسته کاهش پیدا می‌کند. این امر در بذرهای سویا، نسبت به بذرهای گندم واضح تر بود.

تغییرات آنزیمی در طول زوال بذر توسط محققان بسیاری مورد آزمایش و بررسی قرار گرفته است. اهمیت آنزیم‌ها به علت نقش عمده آن‌ها در واکنش‌های کاتابولیکی (هیدرولازها) و واکنش‌های سنتزی است (McDonald, 2004). در بذرهای پیر نشده، رادیکال‌های آزاد به علت عمل سوپراکسید دیسمیوتاز، کاتالاز و پراکسیداز در سطوح پایینی قرار داشتند و فعالیت این آنزیم‌ها در طول جوانه‌زنی افزایش یافت (Kaur *et al.*, 1998). بنابراین، فرسودگی بذر در طول پیری ممکن است که وابسته به کارآیی بذر در نگهداری از سیستم‌های آنزیمی جهت حفاظت در مقابل تنش اکسیداتیو باشد. پانترولو و

مقدمه

برای گیاهان زراعی جلوگیری یا به حداقل رساندن کاهش کیفیت بذر و قابلیت حیات در طی انبار کردن به منظور کاشت در فصول بعدی حیاتی و ضروری است (Bewley *et al.*, 2013). دانستن و درک خصوصیات پیچیده‌ای که طول عمر بذر را کنترل می‌کنند، دارای اهمیت اکولوژیکی، زارعی و اقتصادی است. زمانی که بذرها در طی نگهداری زوال پیدا می‌کنند، بنیه خود را از دست می‌دهند و به تنش‌های محیطی در طی جوانه‌زنی حساس تر می‌شوند و سرانجام قادر به جوانه‌زنی نمی‌شوند (Ma *et al.*, 2004). زوال بذر با یک زنجیره وقایع بیوشیمیایی، غالباً با خسارت به غشاء و اختلال واکنش‌های بیوشیمیایی آغاز می‌شود، پس از آن بسیاری از خواص حیاتی بذر کاهش می‌یابد، که با کاهش سرعت جوانه‌زنی، کاهش استقرار گیاهچه و افزایش گیاهچه‌های غیر نرمال آغاز شده و نهایتاً به مرگ بذر می‌انجامد (Walters *et al.*, 2010). زوال بذر یک فرآیند غیر قابل انعطاف است، ولی ممکن است سرعت زوال به وسیله روش‌های انبار کردن و نگهداری مطلوب به تأخیر بیفتد (Kapoor *et al.*, 2010).

واکنش‌های زوال به سهولت در بذرهایی که محتوی رطوبت بالایی دارند، رخ می‌دهد، سپس این شرایط مدت بقاء بذر را به مخاطره می‌اندازد (Vashisth and Nagarajan, 2009). انبار کردن بذر با محتوی رطوبتی بالا خطر زوال سریع تر بذر را افزایش می‌دهد (Shelar *et al.*, 2008). تنفس، گرما و هجوم قارچ‌ها، در بذرهایی که با محتوی رطوبتی بالا انبار می‌شوند افزایش یافته و منجر به کاهش بنیه و قدرت حیات بذر می‌شود (Yoti and Malik, 2013). همچنین دمای بالا، سرعت فرآیندهای بیوشیمیایی را که خود آغازگر سرعت زوال است، بالا برده و باعث از بین رفتن سریع بذرها با محتوی رطوبتی بالا می‌شود (Shelar *et al.*, 2008). بذرها حساس به دمای بالا به شدت وابسته به محتوی رطوبتی‌شان هستند، به طوری که

(۱۴٪) به عنوان فاکتور دوم و دو شرایط انبار کردن شامل انبار مورد استفاده برای نگهداری بذر در مغان و انبار کنترل شده نگهداری بذر در مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال به عنوان فاکتور سوم در نظر گرفته شد. از بذر رقم ویلامز که در استان اردبیل منطقه بیله سوار تولید شده، پس از بوجاری و کیسه گیری، نمونه برداری و نمونه های با قوه نامیه و رطوبت مورد نظر گرفته شد. سپس بذره های بسته بندی شده در دو شرایط نگهداری با مشخصات زیر تا زمان کشت بعدی (حدود ۶ ماه) در کیسه های دربسته نگهداری شدند.

۱- انبار واقع در مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال که دارای سیستم خنک کننده بوده و دارای محدوده دمایی ۱۷-۱۴ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۴۰-۵۰٪ بود.

۲- انبار واقع در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مغان که انبار متداول نگهداری بذر در کشور می باشد و دارای سیستم خنک کننده نبوده و میزان دما و رطوبت متأثر از دما و رطوبت محیطی بود (جدول ۱).

آزمون جوانه زنی استاندارد

این آزمون به روش کاشت در بین کاغذ جوانه زنی انجام شد. برای هر تیمار دو نمونه ۵۰ عددی بذر انتخاب و در داخل سه لایه حوله کاغذی گذاشته شد (ISTA, 2018). بذرها در روشنایی و دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۷ روز در اتاق رشد قرار داده شدند. در طول دوره به صورت روزانه بازدید انجام شد و خروج ریشه چه به اندازه ۲ میلی متر یا بیشتر به عنوان معیار جوانه زنی در نظر گرفته و یادداشت گردید. در پایان دوره اجرای این آزمون گیاهچه های عادی و غیرعادی تعیین شد و از بین گیاهچه های عادی تعداد ۱۰ گیاهچه به طور تصادفی انتخاب و وزن خشک آنها با ترازوی دقیق با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین گردید. با شمارش روزانه تعداد بذره های جوانه زده، برخی از شاخص های جوانه زنی مرتبط با بنیه بذر و گیاهچه شامل موارد زیر محاسبه گردید:

همکاران (Puntarulo et al., 1991) نشان دادند که فعالیت کاتالاز قبل از شروع جوانه زنی تغییر نکرد. در مطالعه ای که بر روی ذرت، گندم و سویا انجام شد، فعالیت پراکسیداز بالاتر از کاتالاز بود. در مطالعه ای که توسط برنال و همکاران (Bernal et al., 2000) بر روی ذرت انجام گرفت، مشخص شد که فعالیت پراکسیداز و کاتالاز در محوره های جنین بذره های پیر شده پایین بود. این کاهش ممکن است که به افزایش تولید H_2O_2 منجر شود که به احتمال زیاد جوانه زنی را به طور مستقیم و یا از طریق تشکیل رادیکال های هیدروکسیل تحت تأثیر قرار می دهد. در مطالعه دیگری که توسط گوئل و همکاران (Goel et al., 2003) بر روی پنبه تحت شرایط پیری تسریع شده انجام گرفت، کاهش در توانایی جوانه زنی همبستگی معنی داری با افزایش تجمع پراکسید و کاهش فعالیت آنزیم های پراکسیداز، کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز داشت. سانگ و چو (Sung and Chiu, 1995) در بررسی خود در بذر سویا بیان کردند که پیری سبب بازداری از فعالیت پراکسیداز، کاتالاز، اسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز می شود.

مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر شرایط نگهداری، رطوبت و کیفیت اولیه بذر بر روی سرعت زوال بذر و بررسی تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی بذر سویا در طی زوال انجام شد.

مواد و روش ها

مشخصات طرح آزمایشی

به منظور بررسی و ارزیابی زوال بذر سویای رقم ویلامز تولید شده در سال ۱۳۹۳ در استان اردبیل تحقیقی به صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه بلوک های کامل تصادفی در ۴ تکرار اجرا گردید. فاکتورهای آزمایشی شامل قوه نامیه، رطوبت بذر و شرایط نگهداری بذر بود. تیمارهای قوه نامیه بذر مورد بررسی شامل دو سطح قوه نامیه ۸۰٪ و قوه نامیه ۹۰٪، همچنین سه میزان رطوبت اولیه بذر شامل رطوبت پایین (۱۰٪)، رطوبت متوسط (۱۲٪) و رطوبت بالا

سرعت جوانه‌زنی و طبق فرمول زیر به دست آمد

(Maguire, 1962).

$$\text{سرعت جوانه‌زنی} = \frac{\text{تعداد گیاهچه‌های طبیعی در روز اول شمارش}}{\text{روز اول شمارش}} + \dots + \frac{\text{تعداد گیاهچه‌های طبیعی در روز دوم شمارش}}{\text{روز دوم شمارش}} + \dots + \frac{\text{تعداد گیاهچه‌های طبیعی در روز آخر شمارش}}{\text{روز آخر شمارش}}$$

تعداد گیاهچه‌های عادی به عنوان درصد جوانه‌زنی

تعیین و بر حسب درصد گزارش شد (ISTA, 2018).

$$\text{درصد جوانه‌زنی} = \frac{\text{تعداد گیاهچه عادی}}{\text{کل بذرهاي آزمون شده}} \times 100$$

شاخص وزنی بنیه گیاهچه نیز بر اساس فرمول زیر

محاسبه شد (Abdul-baki and Anderson, 1973):

$$= \text{شاخص وزنی بنیه گیاهچه}$$

درصد جوانه‌زنی نهایی × وزن خشک گیاهچه

جدول ۱- میانگین دما و رطوبت نسبی انبار نگهداری بذر در مغان طی ماه‌های انبار کردن

Table 1- Average temperature and relative humidity of the storage in Moghan during storage

ماه‌های سال Months	دی Jan.	بهمن Feb.	اسفند Mar.	فروردین Apr.	اردیبهشت May.	خرداد Jun.	تیر Jul.
رطوبت نسبی (%) Relative humidity	77.0	75.9	76.0	67.5	69.1	65.0	62.5
میانگین دما (°C) Average temperature	4.0	7.9	8.8	14.4	21.0	23.6	26.7
کمینه دما (°C) Min. temperature	-5.2	-0.4	-3.0	1.4	5.0	11.4	15.4
بیشینه دما (°C) Max. temperature	15.8	21.0	28.2	28.2	31.4	35.8	37

۴۸۵ نانومتر) قرائت شد.

اندازه‌گیری قندهای محلول

برای اندازه‌گیری قندهای محلول کل از روش فنل - اسید سولفوریک (AOAC, 1995) استفاده شد. پس از اضافه کردن اتانول ۸۰٪ گرم شده، نمونه‌ها سانتریفیوژ شدند. در مرحله بعد محلول سولفات روی پنج درصد و مخلوط هیدروکسید باریوم ۳/۰ نرمال به هر یک از نمونه‌ها اضافه شد. محلول پنج درصد فنل به عصاره رو شناور و سپس اسیدسولفوریک ۹۸٪ به هر یک از نمونه‌ها اضافه شد. پس از این مرحله در صورت وجود قند محلول در هر یک از نمونه‌ها، رنگ محلول به سمت نارنجی تغییر می‌کند. پس از ۴۵ دقیقه و با تثبیت رنگ قهوه‌ای مایل به زرد، میزان جذب نور با دستگاه اسپکتروفتومتر (طول موج

اندازه‌گیری پروتئین به روش بردفورد

(Bradford, 1976)

روش بردفورد یکی از بهترین و دقیق‌ترین روش‌ها است. اساس این روش جابجایی بیشینه جذب رنگ از ۴۶۵ به ۵۹۵ نانومتر است که در نتیجه اتصال رنگ کوماسی برلیانت بلو جی ۱۲۵۰ به پروتئین رخ می‌دهد. در این روش به نمونه‌ها، پس از اضافه کردن بافر استخراج تریس و سانتریفیوژ در ۱۶۰۰۰ دور در ۳۰ دقیقه، معرف بیورد به فاز مایع شناور نمونه اضافه شد. سپس میزان جذب محلول حاصل با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت گردید.

¹ Comassie Brilliant Blue G-250

نتایج و بحث

درصد گیاهچه‌های عادی

مقایسه میانگین صفات اندازه گیری شده در سطح احتمال ۵ درصد نشان داد که بذره‌های نگهداری شده با رطوبت ۱۰ و ۱۲ درصد در شرایط نگهداری کنترل شده تفاوت معنی داری از نظر صفت درصد گیاهچه‌های عادی با یکدیگر نداشتند (به ترتیب ۸۳/۷۵ و ۸۲/۵۸) ولی با افزایش میزان رطوبت بذر به ۱۴ درصد از تعداد گیاهچه‌های عادی در شرایط نگهداری کنترل شده به طور معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد کاسته شد (۷۹/۸۳). میزان کاهش درصد گیاهچه‌های عادی در بذره‌های با رطوبت ۱۴ درصد نسبت به بذره‌های با رطوبت ۱۰ و ۱۲ درصد به ترتیب ۴/۶۷ و ۳/۳۳ مشاهده شد. در انبار مغان نیز بین بذره‌های با رطوبت ۱۰ و ۱۲ درصد تفاوت معنی داری مشاهده نشد (به ترتیب ۸۰/۶۶ و ۷۸/۵۰)، ولی بذره‌های با رطوبت ۱۴ درصد به طور معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد دارای درصد گیاهچه عادی پایین تری نسبت به دو سطح دیگر رطوبتی بودند (۴۴/۰۸). میزان کاهش در درصد گیاهچه‌های عادی در انبار مغان در رطوبت ۱۴ درصد نسبت به رطوبت ۱۰ و ۱۲، به ترتیب ۴۵/۳۵ و ۴۳/۸۳ درصد بود (شکل ۱). همچنین در رطوبت اولیه ۱۰ درصد در انبار مغان نسبت به شرایط نگهداری کنترل شده ۳/۶۸ درصد از درصد گیاهچه‌های عادی کاسته شد. این کاهش در رطوبت ۱۲، ۴/۹۴ درصد و در رطوبت ۱۴، به ۴۴/۷۸ درصد رسید (شکل ۱). همچنین نتایج حاصل از بررسی نشان داد که اثرات متقابل دو گانه و سه گانه قوه نامیه اولیه بذر با رطوبت و شرایط نگهداری بذر معنی دار نبوده و اثر اصلی قوه نامیه اولیه بذر بر درصد گیاهچه‌های عادی در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بوده و با افزایش میزان قوه نامیه، درصد گیاهچه‌های عادی نیز به طور معنی داری بیشتر بوده است.

روند به دست آمده نشان داد نگهداری بذر با رطوبت بالا در انبار مغان باعث زوال بسیار شدید بذر می گردد.

تخمین میزان مالون دی آلدئید (پراکسیداسیون

چربی‌ها)

ابتدا به نمونه بافر پتاسیم فسفات ۵۰mM اضافه شد و نمونه حاصله در دمای ۴ °C به مدت ۳۰ دقیقه با دور ۱۴۰۰۰ rpm سانتریفوژ شد. سپس به ۱ میلی لیتر از محلول بالایی محلول اسید تیوباریتوریک که حاوی اسید تری کلرواستیک است، افزوده شد. پس از قرار دادن در حمام آب داغ و سانتریفوژ نمونه، میزان جذب مخلوط به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر UV-VIS در دو طول موج ۵۳۲ nm و ۶۰۰ nm اندازه گیری شد (Davey et al., 2005).

فعالیت آنزیم کاتالاز

فعالیت این آنزیم با روش گوئل و همکاران (Goel et al., 2003) انجام شد. مواد شیمیایی مورد نیاز شامل فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار، H₂O₂ و آب مقطر می باشد. ۲۵۰ میکرولیتر از فسفات پتاسیم به همراه ۲۵۰ میکرولیتر H₂O₂ و ۵۰۰ میکرولیتر از آب مقطر برای بلنک دستگاه استفاده شد. ۲۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی را به مخلوط واکنشی فوق افزوده و تغییرات جذب در ۲۴۰ نانومتر به مدت ۱۸۰ ثانیه ثبت شد.

فعالیت آنزیم پراکسیداز

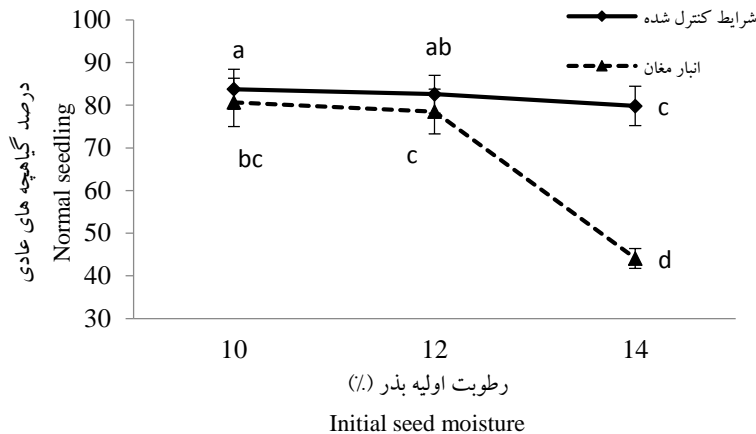
فعالیت این آنزیم مطابق با روش پروچازکوا (Prochazkova et al., 2001) انجام شد. مخلوط واکنش شامل مواد شیمیایی بافر فسفات ۱۰۰ میلی مولار، گوئیکول و H₂O₂ می باشد و تغییرات جذب در ۴۷۰ نانومتر به مدت ۱۸۰ ثانیه ثبت شد.

روش‌ها و ابزار تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های مربوط به این آزمایش با استفاده از نرم افزار آماری SAS نسخه ۹ مورد تجزیه قرار گرفتند و مقایسه میانگین تیمارها نیز با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت. نمودارها نیز با استفاده از نرم افزار EXCEL نسخه آفیس ۲۰۱۰ رسم گردیدند.

اولیه پایینی ذخیره گردند و تحت چنین شرایطی رطوبت اولیه بذر نقش بسیار مهمی در زوال بذر سویا ایفا می کند.

بنابراین، ضروری است در شرایط مغان که میزان دما و رطوبت در حد بالایی می باشد (جدول ۱)، بذرهای با رطوبت



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل شرایط نگهداری بذر × رطوبت اولیه بذر بر درصد گیاهچه های عادی $LSD (0.05) = 2.229$

Figure 1- The mean comparison of seed storage conditions × seed moisture on normal seedlings percent $LSD (0.05) = 2.229$

طول عمر بذر در انبار تحت تأثیر کیفیت بذر، مقدار رطوبت بذر و دمای انبار قرار می گیرد. بذرهای روغنی به دلیل ترکیبات شیمیایی خاص خود قابلیت انبارمانی پایینی دارند (Morello *et al.*, 2004). پارامترهای کیفی بذر از قبیل میزان روغن، ترکیب اسیدهای چرب و میزان پروتئین به طور معنی داری تحت تأثیر مدت زمان و شرایط انبار کردن قرار می گیرند (Ghasemnezhad and Honermeier, 2007). کریشنن و همکاران (Krishnan *et al.*, 2003) علت کاهش درصد و سرعت جوانه زنی بذرهای تحت دما و رطوبت بالا را به از دست رفتن قابلیت حیات بذر و از دست رفتن سلامت غشاء نسبت داده اند. انکانگ و یومو (Nkang and Umoh 1997) بیان داشتند که قابلیت حیات و بینه بذر سویا به سرعت در طی انبار کردن در شرایط انباری با دمای بیش از ۳۰ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی بالای ۶۵ درصد کاهش می یابد. لوچر و بوچلی (Locher and Bucheli, 1998) در آزمایشی بر روی انبار کردن سویا تحت شرایط کنترل شده (دمای ۴ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۴۵٪) و انبار نگهداری مشابه مناطق گرمسیری (دمای ۳۰ درجه

نتایج انکانگ و یومو (Nkang and Umoh 1997) نشان داد مناسب ترین شرایط برای انبار کردن بذر سویا دمای ۲۵-۳۰ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵۵-۶۵ درصد می باشد. کابرا و لانسکارا (Cabrera and Lansskara, 1995) نشان دادند بذرهای سویا رقم دیویس پس از گذشت ۱۲ ماه انبار کردن، میزان جوانه زنی از ۷۵ تا ۸۲ درصد به ۲۰ تا ۲۹ درصد رسید. هیثرلی و همکاران (Heatherly *et al.*, 1995) در مطالعه ای اثر محیطها و مدت ذخیره سازی بذر را بر روی جوانه زنی ارقام سویا بررسی کردند. بعد از ذخیره سازی بذر رقم های فورست و شارکلی در انبار با شرایط طبیعی نگهداری با دمای ۲۷-۲۱ درجه سلسیوس پس از ۲۰ ماه، جوانه زنی بذرهای به ترتیب از ۹۶ به ۱۲ درصد و در رقم شارکلی از ۹۳ به ۲۱ درصد کاهش یافت. کردیلکله و همکاران (Kurdilkle *et al.*, 1996) گزارش کردند که میزان جوانه زنی بذرهای ۵ رقم سویا با رطوبت اولیه ۸ تا ۹ درصد که برای صفر تا ۱۰ ماه در کیسه های پارچه ای در شرایط کنترل نشده ذخیره شده بودند، با افزایش طول مدت انبارداری کاهش یافت.

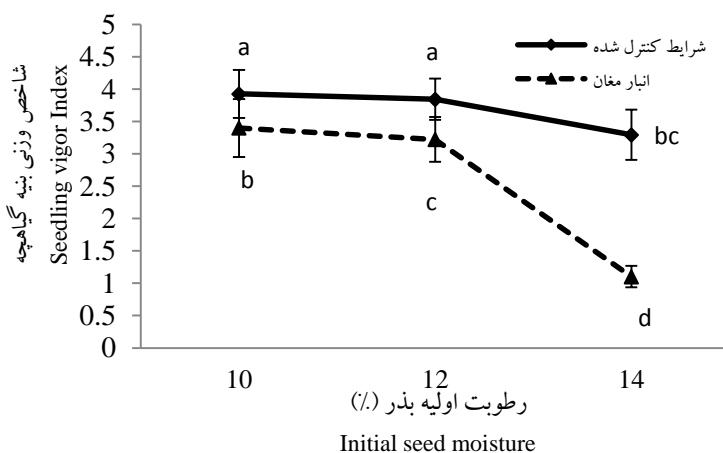
نسبت به سطح ۱۰ رطوبتی، ۱۶ درصد کاهش نشان دادند. در انبار مغان بین سه سطح رطوبتی کاهش معنی داری در شاخص وزنی بنیه گیاهچه مشاهده گردید و در سطح رطوبتی ۱۲ درصد نسبت به ۱۰، ۵/۲ درصد کاهش نشان داد، در حالی که این کاهش در سطح رطوبتی ۱۴ درمقایسه با ۱۲ به ۶۵/۸ درصد رسید (شکل ۲).

در سطح رطوبتی ۱۰ درصد شاخص وزنی بنیه گیاهچه در انبار مغان نسبت به شرایط نگهداری کنترل شده ۱۳/۴ درصد، در رطوبت ۱۲، ۱۶ درصد و در رطوبت ۱۴، ۶۶/۵ درصد کاهش نشان داد (شکل ۲). این امر بیانگر این است که با افزایش رطوبت اولیه بذر در انبار مغان که دارای رطوبت و دمای بالاتری نسبت به انبار کنترل شده در طی زمان انبارداری می باشد (جدول ۱) سرعت زوال بالاتری را شاهد بودیم که تحت چنین شرایطی بذرها به سرعت دچار زوال می شوند و کیفیت خود را از دست می دهند.

سلسیوس و رطوبت نسبی ۸۲٪ نشان دادند که در طی انبار کردن تحت شرایط کنترل شده میزان جوانه زنی و میزان قندهای محلول نسبتاً ثابت باقی ماند، ولی در انبار گرم، همزمان با کاهش در درصد جوانه زنی کاهش در میزان قندها نیز صورت پذیرفت.

شاخص وزنی بنیه گیاهچه

مقایسه میانگین صفات در سطح احتمال ۵ درصد نشان داد که در شرایط نگهداری کنترل شده بین سطوح رطوبتی ۱۰ و ۱۲ درصد تفاوت معنی داری از نظر شاخص وزنی گیاهچه وجود نداشت (به ترتیب ۳/۹۲ و ۳/۸۴) ولی بذرهایی نگهداری شده در شرایط کنترل شده با رطوبت اولیه ۱۴ درصد به طور معنی داری (در سطح احتمال ۱ درصد) دارای شاخص وزنی بنیه پایین تری نسبت به دو سطح رطوبتی دیگر گردیدند و نسبت به سطح رطوبتی ۱۲ درصد، ۱۴ درصد و



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل شرایط نگهداری بذر × رطوبت اولیه بذر بر شاخص وزنی بنیه گیاهچه $LSD(0/05)=0/141$

Figure 2- The mean comparison of seed storage conditions × seed moisture on seedlings vigor index $LSD(0.05)=0.141$

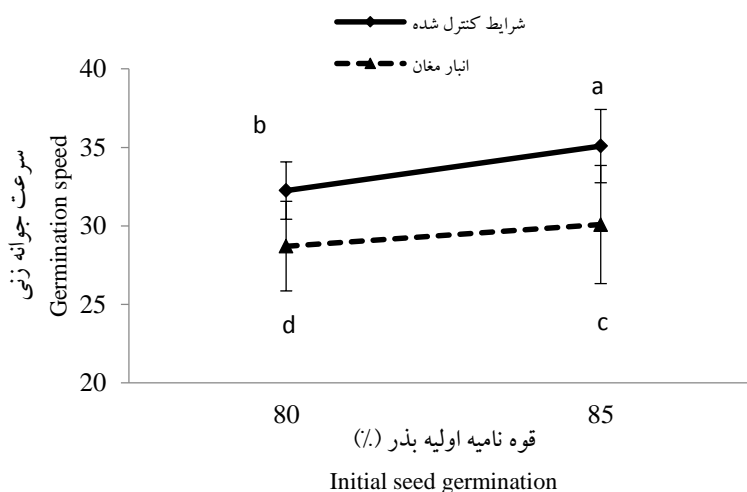
گزارش کردند که واکنش ارقام مختلف نسبت به مدت انبارداری از لحاظ شاخص بنیه گیاهچه متفاوت است. بسرا و همکاران (Basra et al., 2000) گزارش کردند که پیری تسریع شده ۳ روز یا کمتر منجر به کاهش معنی دار بنیه در بذر پنبه نمی شود، در حالی که سانگک (Sung, 1996) در مورد سویا گزارش کرد که در پیری تسریع شده ۳ روز،

کاهش بنیه گیاهچه در برنج در نتیجه پیری بذر توسط کاپور و همکاران (Kapoor et al., 2011) گزارش شده است. جانمحمدی و همکاران (Janmohammadi et al., 2008) در بررسی ارزیابی قابلیت انبارداری و برآورد رشد اولیه گیاهچه ارقام کلزا گزارش کردند که شاخص بنیه گیاهچه با افزایش طول دوره انبارداری کاهش یافت. همچنین

سرعت جوانه‌زنی

مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده نشان داد که در تمام سطوح قوه نامیه، بذره‌های نگهداری شده در شرایط نگهداری کنترل شده به‌طور معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد دارای سرعت جوانه‌زنی بالاتری بودند (شکل ۳). میزان سرعت جوانه‌زنی در انبار مغان نسبت به شرایط نگهداری کنترل شده در سطوح قوه نامیه ۸۰ و ۹۰٪ به ترتیب ۱۲/۵ و ۱۷ درصد کاهش نشان داد (شکل ۳). کاهش سرعت و درصد جوانه‌زنی و کاهش مقاومت به شرایط نامساعد محیطی و رشد ضعیف گیاهچه‌ها از نشانه‌های فیزیولوژیک زوال بذر به‌شمار می‌آید (Powel and Mathews, 1992).

بنیه گیاهچه شدیداً کاهش پیدا می‌کند. کاپور و همکاران (Kapoor et al., 2011) فرسودگی بذر نخود را تحت شرایط پیری تسریع شده مطالعه کردند و مشاهده نمودند که بنیه گیاهچه که همبستگی مثبتی با درصد جوانه‌زنی و طول ساقچه‌چه و ریشه‌چه دارد در نتیجه پیری کاهش یافت که این کاهش با افزایش طول دوره پیری افت شدیدتری پیدا کرد. آنها گزارش کردند که واکنش بذره‌های این گیاه نسبت به تیمارهای پیری به رقم نیز بستگی داشته و ارقام مختلف واکنش‌های متفاوتی نشان دادند. استان (Stan, 1997) گزارش کرد که با افزایش رطوبت بذر و دمای محیط، به دلیل تشدید فرآیند تنفس، قابلیت جوانه‌زنی و بنیه گیاهچه کاهش پیدا می‌کند.



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل شرایط نگهداری بذر × درصد قوه نامیه بر سرعت جوانه‌زنی LSD (0.05) = 0.817

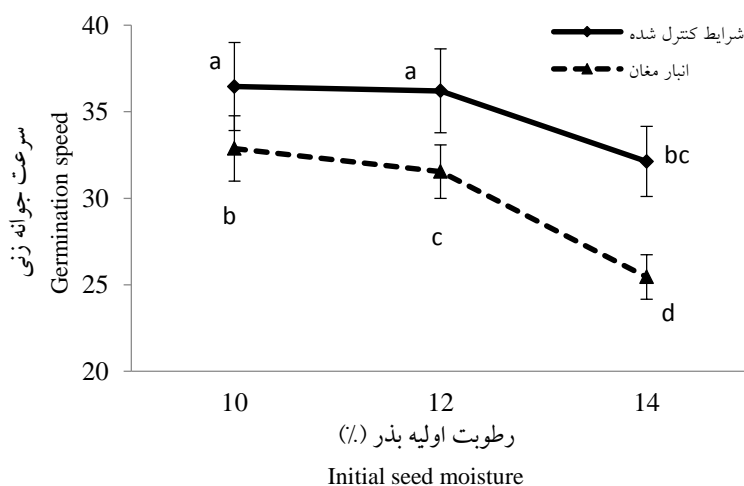
Figure 3- The mean comparison of seed storage conditions × seed germination on germination speed LSD (0.05) = 0.817

این کاهش به ترتیب ۱۲/۸۸ و ۲۰/۷۵ بود (شکل ۴). بنابراین، می‌توان بیان داشت که در انبار مغان رطوبت بالای بذر تأثیر مخرب‌تری بر سرعت جوانه‌زنی دارد که این می‌تواند به دلیل گرما و رطوبت بالاتر مغان باشد که به همراه رطوبت بالای بذر اثر تصاعدی بر کاهش کیفیت بذر می‌گذارد. در انبار کنترل شده بذره‌های با رطوبت ۱۰ و ۱۲ درصد دارای تفاوت معنی‌داری از نظر سرعت جوانه‌زنی نبودند (به ترتیب دارای میانگین ۳۶/۲۰ و ۳۶/۴۵)

مقایسه میانگین اثر متقابل شرایط نگهداری بذر × رطوبت اولیه بذر نشان داد که در رطوبت‌های ۱۰، ۱۲ و ۱۴ درصد بذره‌های نگهداری شده در شرایط نگهداری کنترل شده به‌طور معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد دارای سرعت جوانه‌زنی بالاتری نسبت به انبار مغان بودند. در رطوبت ۱۰ درصد بذره‌های نگهداری شده در انبار مغان کاهش ۹/۸ درصدی را نسبت به شرایط نگهداری کنترل شده نشان داد و در رطوبت‌های ۱۲ و ۱۴

تاتیپاتا (Tatipata, 2009) تأثیر رطوبت‌های بذر شامل رطوبت ۸، ۱۰ و ۱۲ درصد و دوره‌های مختلف انبارداری شامل ۱ تا ۶ ماه انبارداری را در بذرهای سویا مورد بررسی قرار داده و نشان داد که با افزایش طول دوره انبارداری و افزایش محتوی رطوبت بذر سرعت جوانه‌زنی کاهش می‌یابد. طبق یافته‌های رستگار (Rastegar et al., 2011)، فرسودگی بذر سویا منجر به کاهش متوسط زمان جوانه‌زنی روزانه و سرعت جوانه‌زنی گردید.

ولی با افزایش رطوبت به ۱۴ درصد کاهش معنی‌داری در سرعت جوانه‌زنی مشاهده گردید (دارای میانگین ۳۲/۱۲). در انبارمغان بین تمام سطوح رطوبتی کاهش معنی‌داری در سرعت جوانه‌زنی صورت پذیرفت (به ترتیب دارای میانگین ۳۲/۸۷، ۳۱/۵۴، ۲۵/۴۵) و با افزایش میزان رطوبت بذر این کاهش چشمگیرتر بود، به طوری که در رطوبت ۱۲ درصد نسبت ۱۰ درصد، ۴ درصد و در رطوبت ۱۴ نسبت به ۱۲ درصد، این میزان به ۱۹/۲۸ درصد رسید (شکل ۴).



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل شرایط نگهداری بذر × رطوبت اولیه بذر بر سرعت جوانه‌زنی LSD (0.05) = 1.001

Figure 4- The mean comparison of seed storage conditions × seed moisture on germination speed LSD (0.05) = 1.001

بذر به طور معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد کاهش پیدا کرد (شکل ۵).

با توجه به کاهش کیفیت بذر در این شرایط می‌توان گفت با افزایش زوال بذر از میزان قندهای محلول در طی انبار کردن کاسته می‌شود و شرایط انبار کردن نامناسب سبب کاهش بیشتر در محتوای قندهای محلول می‌گردد. همچنین در شرایط نگهداری کنترل شده افزایش رطوبت بذر از ۱۰ به ۱۲ درصد تأثیر معنی‌داری بر محتوای قندهای محلول نداشت ولی با افزایش بیشتر رطوبت اولیه بذر از ۱۲ به ۱۴ درصد به طور معنی‌داری از محتوای قندهای محلول کاسته شد. در بذرهای نگهداری شده در انبار مغان نیز با افزایش میزان رطوبت اولیه بذر، میزان قندهای محلول

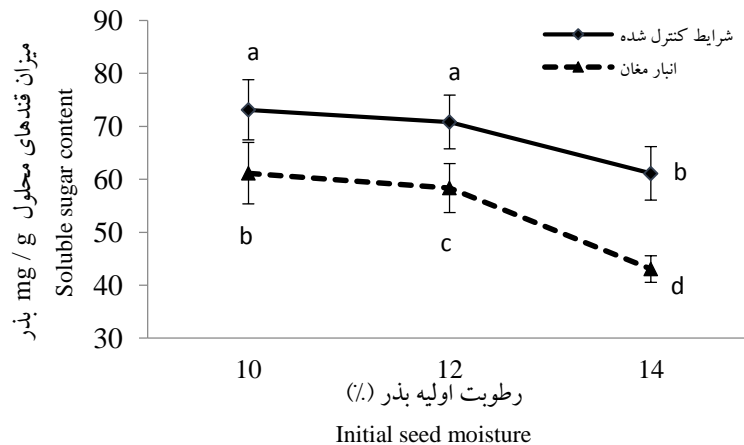
بررسی تغییر بیوشیمیایی زوال بذر سویا

به منظور بررسی تغییرات بیوشیمیایی طی زوال بذر سویا، میزان قندهای محلول، درصد پروتئین کل، میزان مالون‌دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در بذرهای انبار شده اندازه‌گیری شدند.

محتوای قندهای محلول

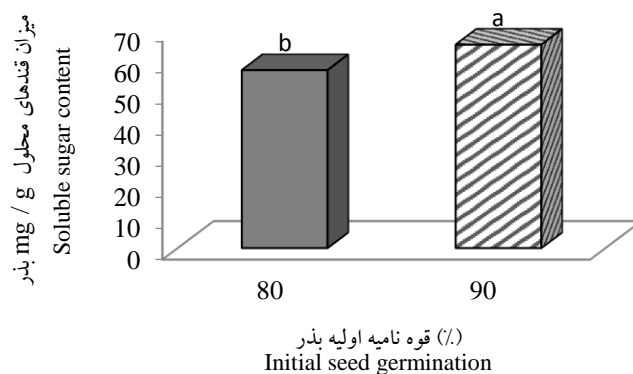
مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده در سطح احتمال ۵ درصد نشان داد بذرهای نگهداری شده در شرایط کنترل شده با رطوبت اولیه ۱۰ و ۱۲ درصد به طور معنی‌داری میزان قندهای محلول بیشتری داشتند. میزان قندهای محلول در انبار مغان نسبت به بذرهای نگهداری شده در شرایط کنترل شده در همان سطح رطوبت اولیه

کاهش معنی داری نشان داد. همچنین مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بذره‌های با قوه نامیه بالاتر محتوای قندهای محلول بیشتری داشتند (شکل ۶).



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل شرایط نگهداری و رطوبت اولیه بذر بر محتوای قندهای محلول بذر $LSD (0.05) = 2.384$

Figure 5- The mean comparison of seed storage conditions × seed moisture on soluble sugar content $LSD (0.05) = 2.384$



شکل ۶- مقایسه میانگین اثر قوه نامیه اولیه بذر بر محتوای قندهای محلول بذر $LSD (0.05) = 1.376$

Figure 6- The mean comparison of initial germination on soluble sugar content $LSD (0.05) = 1.376$

قندهای محلول نسبتاً ثابت باقی ماند، ولی در انبار گرم و بدون کنترل هیدرولیز قندها صورت پذیرفت و همزمان با کاهش در درصد جوانه‌زنی، میزان قندها نیز کاهش یافت.

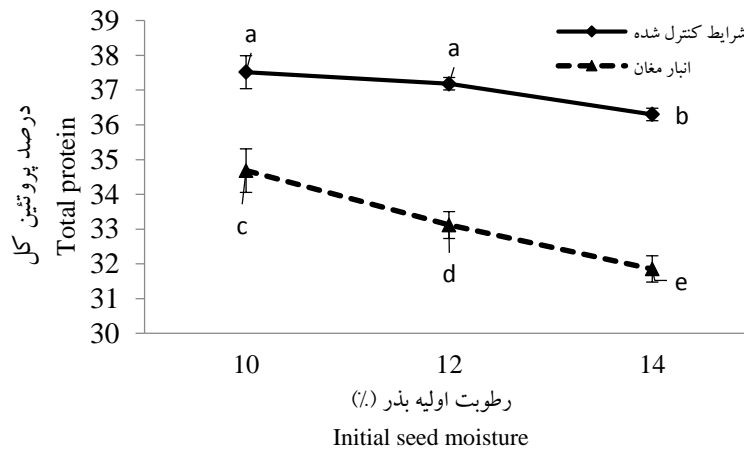
درصد پروتئین

مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده نشان داد که درصد پروتئین کل بذر در شرایط نگهداری کنترل شده نسبت به انبار مغان در بذره‌های با رطوبت اولیه یکسان در

بر این اساس می‌توان نتیجه گرفت شرایط نگهداری بذر، رطوبت اولیه و قوه نامیه بذر که طبق نتایج به‌دست آمده بر زوال بذر در طی انبارکردن نقش اساسی بازی می‌کنند بر محتوای قندهای محلول بذر نیز مؤثر می‌باشند. لوچر و بوچلی (Locher and Bucheli, 1998) در آزمایشی بر روی انبارکردن سویا تحت شرایط کنترل شده و انبار نگهداری در مناطق گرمسیری نشان دادند که در طی انبارکردن تحت شرایط کنترل شده میزان جوانه‌زنی و میزان

رطوبت ۱۴ درصد به طور معنی داری پروتئین کمتری نسبت به دو سطح دیگر رطوبتی داشتند. در انبار مغان نیز با افزایش رطوبت اولیه بذر از درصد پروتئین کل به طور معنی داری کاسته شد (شکل ۷).

سطح احتمال ۵ درصد به طور معنی داری بیشتر بود. به عبارت دیگر شرایط نامناسب انبار کردن سبب کاهش معنی دار در درصد پروتئین بذر گردید. در شرایط نگهداری کنترل شده بین دو سطح رطوبتی ۱۰ و ۱۲ درصد تفاوت معنی داری مشاهده نشد ولی بذرهایی با

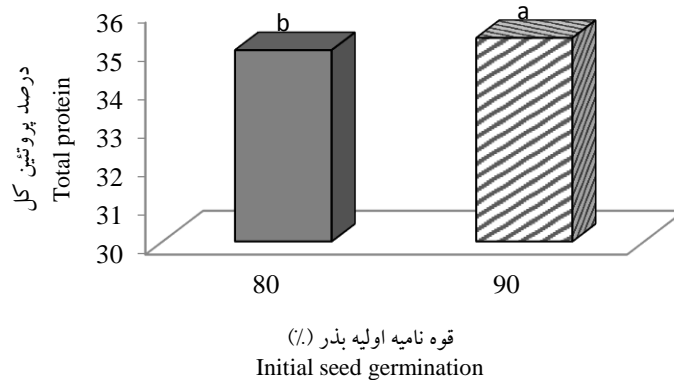


شکل ۷- مقایسه میانگین اثر متقابل شرایط نگهداری و رطوبت اولیه بذر بر درصد پروتئین کل بذر $LSD (0.05) = 0.45$

Figure 7- The mean comparison of seed storage conditions × seed moisture on seed protein $LSD (0.05) = 0.45$

کاهش قوه نامیه از محتوای قندهای محلول و پروتئین بذر کاسته می شود (شکل ۸).

مقایسه میانگین صفات نشان داد بذرهایی با قوه نامیه بالاتر درصد پروتئین بیشتری دارند. به نظر می رسد با



شکل ۸- مقایسه میانگین اثر قوه نامیه اولیه بذر بر درصد پروتئین کل بذر $LSD (0.05) = 0.26$

Figure 8- The mean comparison of initial germination on seed protein $LSD (0.05) = 0.26$

دلایل کاهش پروتئین بذر، خسارت به سیستم های سنتز کننده پروتئین است. از دلایل دیگر، می توان به سنتز و

کاهش در میزان کل پروتئین بذر یکی از حوادثی است که در طول پیری بذر به وقوع می پیوندد. یکی از

فعال شدن آنزیم‌ها، تجزیه پروتئین و صدمه غشاء می‌شود.

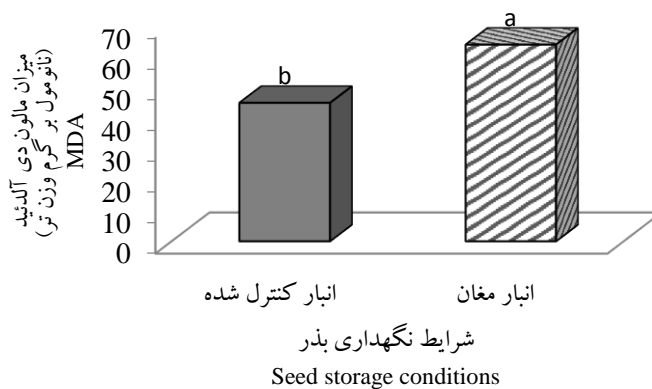
میزان مالون‌دی‌آلدئید

مقایسه میانگین صفات نشان داد که در سطح احتمال ۵ درصد میزان مالون دی‌آلدئید در بذره‌های نگهداری شده در انبار مغان که در طی انبار کردن زوال بیشتری داشتند به طور معنی‌داری نسبت به شرایط نگهداری کنترل شده بالاتر بود (شکل ۹). همچنین با افزایش میزان رطوبت اولیه بذر که نقش مهمی در زوال بذر ایفا می‌نماید، میزان مالون‌دی‌آلدئید افزوده شد (شکل ۱۰) که نشان‌دهنده رابطه بین زوال بذر و میزان مالون‌دی‌آلدئید می‌باشد. پراکسیداسیون لیپیدها با گرفتن یک هیدروژن توسط رادیکال‌های هیدروکسیل آغاز و واکنش زنجیره‌ای شکستن لیپیدها سبب آزاد سازی ترکیب‌هایی از قبیل آلدئیدهای واکنش‌پذیر می‌گردد که این ترکیبات باعث آسیب‌های بعدی به پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌گردند. تغییر در لیپیدهای غشاء ناشی از پراکسیداسیون، ممکن است در افزایش نفوذپذیری غشاء و نشت سلولی که با زوال بذر مرتبط هستند، دخیل باشند. گونه‌های فعال اکسیژن همچنین می‌توانند آسیب به DNA و ناهنجاری‌های کروموزومی در دوره زوال بذر را افزایش دهند (Bewley *et al.*, 2013).

فعالیت بالای آنزیم‌های پروتئولیتیک در طول زوال بذر اشاره کرد. افزایش در فعالیت پروتئازها همراه با زوال بذر در دوره نگهداری از دیگر آسیب‌های زوال در بذر است. کریشنان و همکاران (Krishnan *et al.*, 2000) نشان دادند که در طول دوره نگهداری بذر، میزان پروتئین کاهش پیدا می‌کند. این امر در بذره‌های سویا، نسبت به بذره‌های گندم واضح‌تر بود. اندازه‌گیری فعالیت پروتئازها در محور جنین و لپه‌ها نشان داد که میزان آن‌ها در طول دوره نگهداری افزایش می‌یابد. به‌طور کلی، تغییر در جوانه‌زنی بذرها و رشد گیاهچه، با فعالیت‌های آنزیمی، تنفس، سنتز پروتئین، RNA و DNA همراه است (McDonald, 2004).

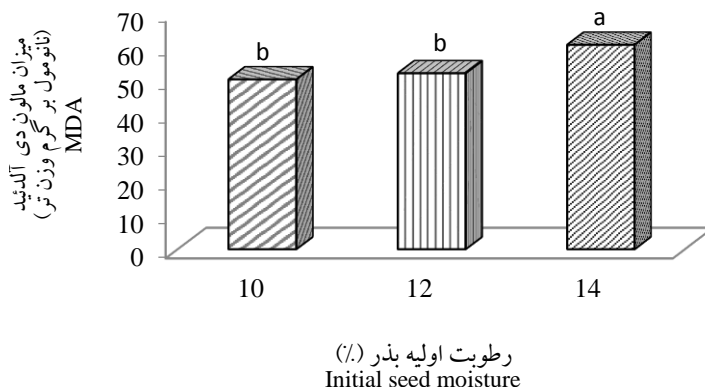
چانسین و همکاران (Chuansin *et al.*, 2006) بیان کردند که رطوبت بذر و اکسیژن مهمترین دلایل اتواکسیداسیون لیپیدها در سویا هستند و سبب زوال سریع بذر و کاهش کیفیت می‌شوند. این امر در نتیجه کاهش فعالیت آنزیمی، عدم سنتز پروتئین و از دست رفتن ماهیت غشاء ناشی می‌شود. دما دیگر عامل مهم در این فرایند است، چون تغییرات شیمیایی با بالا رفتن دما افزایش می‌یابد.

طی تحقیقات انجام شده توسط مورتی و همکاران (Murty *et al.*, 2003) مشخص گردید که طی زوال بذر رادیکال‌های آزاد سبب اکسیداسیون لیپیدها، غیر



شکل ۹- مقایسه میانگین اثر شرایط نگهداری بر میزان مالون دی‌آلدئید بذر $LSD (0.05) = 1/630$

Figure 9- The mean comparison of seed storage conditions on MDA $LSD (0.05) = 1.630$



شکل ۱۰- مقایسه میانگین اثر رطوبت اولیه بذر بر میزان مالون دی آلدئید بذر $LSD (0.05) = 1/996$
 Figure 10- The mean comparison of seed moisture on MDA $LSD (0.05) = 1.996$

به طور معنی داری فعالیت آنزیم کاتالاز بیشتری داشتند. در هر دو شرایط نگهداری، بین سطوح رطوبتی ۱۰ و ۱۲ درصد تفاوت معنی داری از نظر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز مشاهده نشد ولی با افزایش میزان رطوبت اولیه بذر به ۱۴ درصد به طور معنی داری از فعالیت آنزیم کاتالاز کاسته شد (شکل ۱۱). به نظر می رسد بین زوال بذر و میزان فعالیت این آنزیم رابطه معکوسی وجود دارد.

بیلی و همکاران (Bailly *et al.*, 1996) نشان دادند که در آفتابگردان کاهش قابلیت حیات با کاهش در فعالیت آنزیم کاتالاز مرتبط بود. آنها نتیجه گرفتند که زوال بذر آفتابگردان ارتباط نزدیکی با کاهش در فعالیت های آنزیم های سم زدایی دارد. سانگ (Sung, 1996) بیان کرد که فعالیت آنزیم های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دسموتاز در طی انبار کردن بذر سویا کاهش یافت. رادیکال های آزاد تولید شده توسط پراکسیداسیون غیر آنزیمی می توانند به غشای سلولی، آنزیم ها و اسیدهای نوکلئیک آسیب برسانند و این یکی از موارد مهم در زوال بذرهای انبار شده می باشد (Hendry, 1993). کاهش قابلیت حیات بذر به میزان رطوبت و دما بسیار وابسته است و این کاهش ممکن است با تغییرات متابولیکی و بیوشیمیایی مختلف که باعث آسیب به یکپارچگی غشاء، آسیب به RNA، سنتز پروتئین ها و تولید ATP گردند،

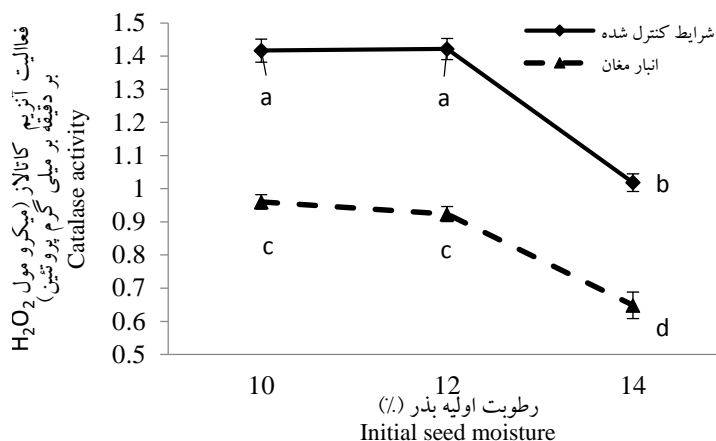
بیلی و همکاران (Bailly *et al.*, 1996) نشان دادند که در آفتابگردان زوال بذر با پراکسیداسیون چربی ها ارتباط دارد و با افزایش زوال بذر میزان آنزیم مالون دی آلدئید افزایش می یابد. سانگ (Sung, 1996) در آزمایشی به منظور بررسی نقش پراکسیداسیون چربی ها در زوال سویا، بذرهای سویا را به مدت ۱۲-۳ ماه در انبار ذخیره نمود. نتایج نشان داد که همراه با کاهش میزان جوانه زنی پس از انبار کردن میزان پراکسیداسیون چربی ها افزایش می یابد. وی بیان کرد فعالیت آنزیم های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دسموتاز در طی انبار کردن بذر سویا کاهش یافت. همچنین گوئل و شوران (Goel and Sheoran, 2003) بذرهای پنبه را به مدت ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۸ ماه در انبار با دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار دادند. آنها متوجه شدند با کاهش قابلیت حیات در طی انبار کردن میزان مالون دی آلدئید افزایش و فعالیت های آنزیم های پراکسیداز و کاتالاز با افزایش زوال بذر کاهش پیدا کرد. در طی نگهداری بذر چربی ها به آسانی به وسیله لیپاز تجزیه شده و به اسیدهای چرب آزاد و گلیسرول تبدیل می شوند. این امر در رطوبت ها و دمای بالا تشدید می شود.

میزان فعالیت آنزیم کاتالاز

مقایسه میانگین صفات نشان داد در سطح احتمال ۵ درصد بذرهای نگهداری شده در شرایط کنترل شده

گلوتاتین رداکتاز را کاهش و یا حتی مانع فعالیت آنها می‌گردند (Bailly *et al.*, 1996). کاتالاز یک عامل مهم در سیستم دفاعی گیاهان به‌شمار می‌رود. آنزیم کاتالاز برای حذف H_2O_2 سمی تولید شده در شرایط نامناسب ضروری است و از اینرو برای اجتناب از تنش اکسیداتیو، مولکول‌های پراکسید هیدروژن را شکسته و به اکسیژن و آب تبدیل می‌کند (Hosamani *et al.*, 2013; Kuchlan, 2006).

ارتباط داشته باشند. رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون چربی‌ها به‌طور وسیعی در زوال بذر نقش بازی می‌کنند. آنها تغییراتی در اسیدهای چرب غیراشباع ایجاد می‌کنند که بر خصوصیات ساختاری و عملکردی غشاهای سلولی از قبیل غیرفعال کردن پروتئین‌های باند شده با غشاء و افزایش در نفوذپذیری غشاء تأثیر می‌گذارند. آسیب‌های سلولی که با پراکسیداسیون چربی‌ها ایجاد می‌شود، فعالیت مکانیسم‌های حفاظتی درگیر رادیکال‌های آزاد شامل آنزیم‌های تنظیف از قبیل سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز و



شکل ۱۱- مقایسه میانگین اثر متقابل شرایط نگهداری و رطوبت اولیه بذر بر فعالیت آنزیم کاتالاز $LSD(0.05) = 0.040$

Figure 11- The mean comparison of seed storage conditions×seed moisture on catalase enzyme activity $LSD(0.05)=0.040$

افزایش می‌دهد و این تغییر در ۲۵ درجه شدیدتر بود. پیری همین‌طور فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دسموتاز و لیپواکسیژناز را کاهش داد. وضعیت اولیه بذرهای این صفات را تحت تأثیر قرار داد. سلول‌ها توسط مکانیسمی که رادیکال‌های آزاد را با سیستم تنظیف اکسیژن فعال از بین می‌برد از خود در برابر زوال حفاظت می‌کنند. سیستم تنظیف اکسیژن فعال در گیاهان شامل آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز می‌باشد. فعالیت این قبیل آنزیم‌ها تشکیل رادیکال اکسیژن فعال را کاهش می‌دهد. گزارش شده است که کاهش قابلیت حیات بذر با کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت

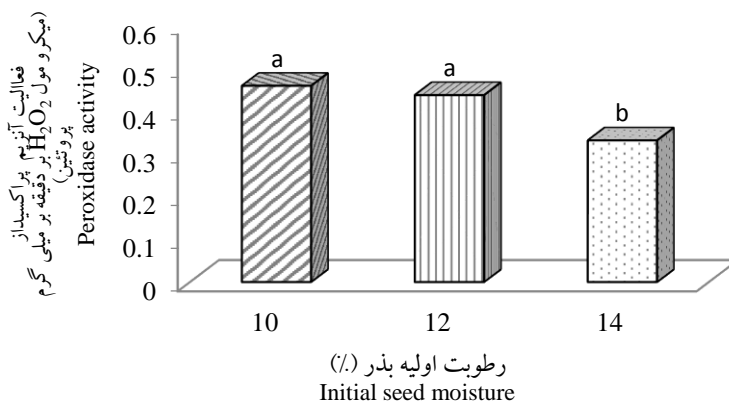
میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز

مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۱۲) در سطح احتمال ۵ درصد نشان داد که میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز با افزایش رطوبت بذر از ۱۲ به ۱۴ درصد به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. ولی بین رطوبت‌های ۱۰ و ۱۲ درصد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین بذرهای نگهداری شده در انبار مغان به‌طور معنی‌داری فعالیت آنزیم پراکسیداز کمتری نسبت به شرایط نگهداری کنترل شده نشان دادند (شکل ۱۳).

سانگ و چیو (Sung and Chiu, 1995) نشان دادند که نگهداری بذر سویا در دو دمای ۵ و ۲۵ درجه جوانه‌زنی بذر را کاهش و پراکسیداسیون لیپیدها را

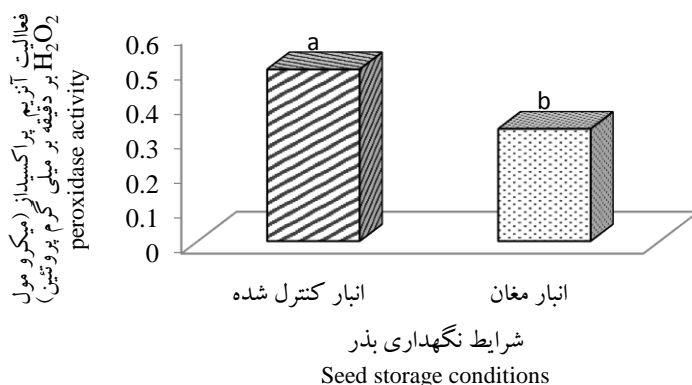
آزاد واکنشی تحت شرایط انبارکردن بازی می‌کنند (Hosamani et al., 2013; Kuchlan, 2006).

شامل سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز ارتباط دارد، که نقش مهمی در حفاظت در مقابل رادیکال‌های



شکل ۱۲- مقایسه میانگین اثر رطوبت اولیه بذر بر فعالیت آنزیم پراکسیداز LSD (0.05)=0.024

Figure 12- The mean comparison of seed moisture on peroxidase enzyme activity LSD (0.05)=0.024



شکل ۱۳- مقایسه میانگین اثر شرایط نگهداری بذر بر فعالیت آنزیم پراکسیداز LSD (0.05)=0.020

Figure 13. The mean comparison of storage conditions on peroxidase enzyme activity LSD (0.05)=0.020

معنی‌داری مشاهده نشد که می‌توان نتیجه‌گیری کرد که رطوبت بذر سویای ۱۲ درصد که رطوبت استاندارد تولید بذر سویا در کشور می‌باشد رطوبت مناسبی برای نگهداری بذر می‌باشد.

این نتایج بیانگر آن می‌باشد که رطوبت اولیه بذر، شرایط نگهداری و کیفیت اولیه بذر با تأثیر بر روی محتوای قندهای محلول و پروتئین کل باعث زوال بذر می‌گردند و تغییرات قندهای محلول و پروتئین کل بر بنیه بذر و قابلیت حیات بذر تأثیر گذار می‌باشند. همچنین با

نتیجه‌گیری

رطوبت بذر یکی از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار بر قابلیت انبارداری می‌باشد نتایج این آزمایش نشان دادند با افزایش رطوبت بذر به ۱۴ درصد به‌طور معنی‌داری از کیفیت بذر کاسته شد و رطوبت بذر ۱۴ درصد به‌عنوان رطوبت نامناسب برای انبارکردن بذر سویا شناخته شد. همچنین با بررسی رطوبت‌های بذر ۱۰ و ۱۲ درصد مشخص گردید که بین این دو سطح رطوبتی تفاوت فاحش و

می‌دهد. گزارش شده است که کاهش قابلیت حیات بذر با کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت شامل سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز ارتباط دارد، که نقش مهمی در حفاظت در مقابل رادیکال‌های آزاد تحت شرایط انبارکردن بازی می‌کنند (Hosamani *et al.*, 2013; Kuchlan, 2006; Bailly *et al.*, 1996).

اندازه‌گیری میزان مالون دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز مشخص گردید بین میزان زوال بذر با میزان مالون دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم‌های تنظیف همبستگی بالایی مشاهده گردید. سلول‌ها توسط مکانیسمی که رادیکال‌های آزاد را با سیستم تنظیف اکسیژن فعال از بین می‌برد از خود در برابر زوال حفاظت می‌کنند. فعالیت این قبیل آنزیم‌ها تشکیل رادیکال اکسیژن فعال را کاهش

Reference

منابع

- Abdul-baki, A.A., and J. D. Anderson. 1973.** Vigor determination in soybean seed by multiplication. *Crop Sci.* 3: 630-633.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1995.** Official Methods of Analysis, 16th Ed. AOAC International, Gaithersburg, MD. USA.
- Bailly, C., A. Benamar, F. Corbineau, and D. Come. 1996.** Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seeds as related to deterioration during accelerated aging. *Physiol. Plant.* 97(1): 104-110
- Basra, S.M.A., K.U. Rehman, and S. Iqbal. 2000.** Cotton Seed Deterioration: Assessment of some Physiological and Biochemical Aspects. *Int. J. Agric. Biol.* 2 (3).
- Bernal, L., A. Camacho, and A. Caballo. 2000.** Effect of seed aging in the enzymic antioxidant system of maize cultivars. PP. 151-160. In: M. Black, K.J. Bradford. And J. Vazquez-Ramos. Seed biology: advances and applications (eds). CABI publishing .UK.
- Bewley, J.D., K.J. Bradford, H.W. Hilhorst, and H. Nonogaki. 2013.** Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy. 3rd ed. Springer, New York.
- Bradford, M.M. 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein day binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.
- Cabrera, E.R., and H. Lansakara. 1995.** Open storage of soybean seed in Mississippi. *Tech. Bulletin Mississippi Agric. Forestry.* No. 30776 Caja (343). Mississippi State University
- Chuansin, S., S. Vearasilp, S. Srichuwong, and E. Pawelzik. 2006.** Selection of Packaging Materials for Soybean Seed Storage. Conference on International Agricultural Research for Development, University of Bonn.
- Davey, M.W., E. Stals, B. Panis, J. Keulemans, and R.L. Swennen. 2005.** High-throughput of malondialdehyde in plant tissues. *Anal. Biochem.* 347: 201-207.
- Ghasemnezhad, A., and B. Honermeier. 2007.** Influence of storage conditions on quality and viability of high and low oleic sunflower seeds. *Intern. J. Plant Prod.* 3(4): 41-50.
- Goel, A., and I.S. Sheoran. 2003.** Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes in cotton seeds under natural ageing. *Biol. Plant.* 46(3): 429-434.
- Goel, A., A.K. Goel, and I.S. Sheoran. 2003.** Changes in oxidative stress enzyme during artificial aging in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) seed. *J. Plant Physiol.* 160: 1093-1100.
- Heatherly, L.G., M.M. Kenty, and T.C. Kilen. 1995.** Effects of storage environment and duration on impermeable seed coat in soybean. *Field Crops Res.* 40: 57- 62.
- Hendry, G.A.F. 1993.** Oxygen, free radical processes and seed longevity. *Seed Sci, Res.* 3: 141-153.

Hosamani, J., M. Dadlani, I.M. Santha, M.A. Kumar, and S.R. Jacob. 2013. Biochemical Phenotyping of Soybean [*Glycine max* (L.) *Merill*] Genotypes to Establish the Role of Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzymes in Seed Longevity. *Agricultural Research*. 2 (2): 119-126.

ISTA. 2018. International Rules for Seed Testing. Zurichstr.50. CH 8303. Bassersdorf, Switzerland, Edition 2018.

Janmohammadi, M., Y. Fallahnezhad, M. Golshan, and H. Mohammadi. 2008. Controlled ageing for storability assessment and predicting seedling early growth of canola cultivars (*Brassica napus* L.). *ARPN J. Agric. Biol. Sci.* 3 (5&6): 22-26.

Kapoor, N., A. Arya, M.A. Siddiqui, H. Kumar, and A. Amir. 2011. Physiological and Biochemical Changes During Seed Deterioration in Aged Seeds of Rice (*Oryza sativa* L.). *Am. J. Plant Physiol.* 6 (1): 28-35.

Kapoor, R., A. Arya., M.A. Siddiqui, A. Amir, and H. Kumar. 2010. Seed Deterioration in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) under "Accelerated Ageing", *Asian J Plant Sci.* 9 (3): 158-162.

Kaur, S., A.K. Gupta, and N. Kaur. 1998. Gibberellic acid and kinetin partially reverse the effect of water stress on germination and seedling growth in chickpea. *Plant Growth Regulation*. 25: 29-33.

Kibinza, S., D. Vinel, D. Côme., C. Bailly, and F. Corbineau. 2006. Sunflower seed deterioration as related to moisture content during ageing, energy metabolism and active oxygen species scavenging. *Physiol. Plant.* 128(3): 496-506.

Krishnan, P., K.S. Chatitanya, S. Keshavkant, and S.C. Naithani. 2000. Changes in total protein and protease activity in dehydrating recalcitrant sal (*Shorea robusta*) seed. *Silver Fennica*. 34: 71-77.

Krishnan, P., S. Nagarajan, M. Dadlani, and A.V. Moharir. 2003. Characterization of wheat (*Triticum aestivum*) and soybean (*Glycine max*) seeds under accelerated ageing conditions by Proton nuclear magnetic spectroscopy. *Seed Sci. Technol.* 31: 541- 550.

Kuchlan, M.K. 2006. Identification of physical, physiological and biochemical factors and molecular analysis for longevity of soybean (*Glycine max* L. *merill*) seeds. Doctoral dissertation. Indian Agricultural Research Institute, New Delhi.

Kurdikle, M.B., G.T. Basavaraj, and H.N. Danapure. 1996. Storability of soybean (*Glycine max* (L.) *Merr.*) seed under ambient conditions. *Karnataka J. Agri Sci.* 9: 552-554.

Locher, R., and P. Bucheli. 1998. Comparison of soluble sugar degradation in soybean seed under simulated tropical storage conditions. *Crop Sci.* 38 (5): 1229-1235.

Ma, F., C. Ewa, M. Tasneem, C.A. Peterson, and M. Gijzen, 2004. Cracks in the palisade cuticle of soybean seed coats correlate with their permeability to water. *Annals of Botany*. 94: 213-228.

Maguire, J.D. 1962. Speed of germination in selection and evaluation for seedling vigor. *Crop Sci.* 2: 176-177.

McDonald, M.B. 2004. Orthodox seed deterioration and its repair. Pp. 273-304. In: Benech- Arnold, R.L. and R.L. Sanchez. (eds). *Handbook of Seed Physiology*. Food Product Press. Argentina.

Morello, J.R., M.J. Motilva, M.J. Tovar, and M.P. Romero. 2004. Changes in commercial virgin olive oil (CV *Arbequina*) during storage with special emphasis on the phenolic fraction. *J. Food Chem.* 85: 357-364.

Murty, U.M., P. Kumarand, and W.Q. Sun. 2003. Mechanisms of seed aging under different storage conditions for *Vigna radiata* wilczek. Lipid peroxidation, sugar hydrolysis, millard reactions and their relationship to glass state transition. *J. Exp. Bot.* 54: 1057-1067.

Nkang, A., and E.O. Umoh. 1997. Six month storability of five soybean cultivars as influenced by stage of harvest, storage temperature and relative humidity. *Seed Sci. Technol.* 25: 93-99.

Powel, A., and S. Mathews. 1992. Seed vigour and its measurement. PP: 98-109. *Techniques in Seed Science and Technology*, 2nd. ed. South Asian Publishers, New Delhi, India.

Prochazkova, D., R.K. Sairam, G.C. Srivastava, and D.V. Singh. 2001. Oxidative stress and antioxidant activity as the basis of senescence in maize leaves. *Plant Sci.* 161: 765-771.

Puntarulo, S., M. Galleano, R.A. Sanchez, and A. Boveris. 1991. Superoxide anion and hydrogen peroxide metabolism in soybean embryonic axes during germination. *Biochim. Biophys. Acta.* 1047: 277-283.

- Rastegar, Z., M. Sedighi, and S. Khomari. 2011.** Effects of Accelerated Aging on Soybean Seed Germination Indexes at Laboratory Conditions. *Not Sci Biol.* 3: 126-129.
- Shelar, V.R., R.S. Shaikh, and A.S. Nikam. 2008.** Soybean seed quality during storage: A review. *Agric. Rev.* 29(2): 125-131.
- Stan, O. 1997.** The test of accelerated ageing to establish the vigour potential in maize and sunflower hybrid seed. *Romanian Agriculture Research.* 7-8: 59-66.
- Sung, J.M. 1996.** Lipid Peroxidation and peroxidase scavenging in soybean seeds during aging. *Physiol. Plant.* 97: 85-90.
- Sung, J.M., and C.C. Chiu. 1995.** Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes of naturally aged soybean seed. *Plant Sci.* 110 (1): 45-52.
- Tatipata, A. 2009.** Effect of seed moisture content packaging and storage period on mitochondria inner membrane of soybean seed. *J. Agric. Technol.* 5: 51-64.
- Vashisth, A., and S. Nagarajan. 2009.** Germination Characteristics of Seeds of Maize (*Zea mays* L.) Exposed to Magnetic Fields under Accelerated Ageing Condition. *J. Agric Physics.* 9: 50-58.
- Walters, C., D. Ballesteros, and V.A. Vertucci. 2010.** Structural mechanics of seed deterioration: Standing the test of time. *Plant Sci.* 179: 565-573.
- Malik. C.P. 2013.** Seed deterioration: A Review. *Int. J. Life Sci. Biotech. Pharm. Res.* 2(3): 374-385.