Iranian Journal of Field Crop Science
Vol 48, No 1, Spring 2017 (91-105)
DOI: 10.22059/ijfcs.2017.133569.653958

علوم گیاهان زراعی ایران
دورۀ ۴۸، شمارۀ ۱، بهار ۱۳۹۶ (ص ۱۰۵-۹۱)

تأثیر شرایط مختلف محیط نگهداری بر جوانه‌زنی و تغییرپذیری بیوشیمیایی بذر کرچک (*Ricinus communis* L.)

مینا سلطانی[۱]، علی مرادی[۲*]، رضا توکل افشاری[۳] و حمیدرضا بلوچی[۴]
۱، ۲ و ۴. دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و تکنولوژی بذر، استادیار و دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکدۀ کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران
۳. استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکدۀ کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۱۶ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱/۲۴)

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر شرایط مختلف انبارداری بذر بر جوانه‌زنی و برخی شاخص‌های بیوشیمیایی بذر کرچک، آزمایشی فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با سه عامل دمای انبارداری، محتوای رطوبت بذر و طول دورۀ انبارداری در آزمایشگاه بذر پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران در سال ۱۳۹۲ انجام شد. عامل‌های آزمایشی شامل تیمار دمای انبارداری در پنج سطح ۵، ۱۵، ۲۵، ۳۵ و ۴۰ درجۀ سلسیوس و تیمار رطوبتی در پنج سطح ۳/۵۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ درصد و نمونه‌برداری در شش دورۀ ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰ و ۱۸۰ روز بودند. نتایج نشان داد، در همۀ دماهای انبارداری روند تغییرپذیری شاخص درصد جوانه‌زنی با افزایش محتوای رطوبت بذر و طول دورۀ انبارداری کاهشی بود. در همۀ دماهای مورد آزمایش، بذرهای انبارشده در رطوبت‌های ۳/۵۳ و ۱۵ درصد به‌ترتیب بیشترین و کمترین جوانه‌زنی را نشان دادند. این در حالی است که روند تغییر نشت الکترولیت بذر با افزایش دمای انبارداری و محتوای رطوبت بذر افزایشی بود. همچنین با افزایش در طول دورۀ انبارداری و افزایش در محتوای رطوبت بذر و دمای انبارداری محتوای پروتئین بذر و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز کاهش و محتوای مالون دی آلدهید افزایش یافت. بنابراین افت در درصد جوانه‌زنی و افزایش نشت الکترولیت‌ها با افزایش در دورۀ انبارداری می‌تواند به دلیل کاهش فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی) و افزایش پراکسیداسیون چربی (لیپید)ها باشد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های پاداکسنده، مالون دی‌آلدهید، محتوای رطوبت بذر، نشت الکترولیت‌ها.

Effect of different storage conditions on germination and some biochemical characteristics of castor bean (*Ricinus communis*) seed

Mina Soltani[1], Ali Moradi[2*], Reza Tavakol Afshari[3] and Hamidreza Balouchi[4]
1, 2, 4. M.Sc. Student, Assistant Professor and Associate Professor, Department of Seed Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Yasouj, Iran
3. Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
(Received: Feb. 5, 2016 - Accepted: Apr. 12, 2016)

ABSTRACT

In order to evaluate the effect of different storage conditions on seed germination and some biochemical characteristics of castor bean (*Ricinus communis*), a factorial experiments on the bases of completely randomized design with three factors included of storage temperature, seed moisture content (SMC) and storage duration in four replications was done in the seed laboratory of Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Iran in 2014. Experimental factors were including five storage temperatures (5, 15, 25, 35 and 40°C), five SMC levels (3.53, 6, 9, 12 and 15%) and six storage duration (30, 60, 90, 120, 150 and 180 days). The results showed that in all storage temperatures germination percentage trend was descending with increasing storage temperature and duration. In all studied storage temperature, the seeds stored in SMCs of 3.53 and 15% showed the highest and lowest germination, respectively. However, the change in seed electrolyte leakage index was ascending by increasing the temperature and SMC. Also, with increasing storage duration, temperature and SMC, seed total protein content, enzymes activity of catalase and superoxide dismutase and ascorbate peroxidase decreased and malondialdehyde content (MDA) increased. Therefore, decrease in germination index and increase in electrical conductivity could be due to decline in antioxidant activities and increase in MDA content.

Keywords: Antioxidant enzymes, electrolyte leakage, malondialdehyde, seed moisture content.

* Corresponding author E-mail: amoradi@yu.ac.ir Tel: +98

مقدمه

کرچک با نام علمی *Ricinus communis* L. گیاهی است یک یا چندساله که متعلق به خانوادهٔ فرفیون است. این گیاه از گیاهان دارویی مهم بوده و مهم‌ترین مادهٔ تشکیل‌دهندهٔ بذر آن روغن است، که در رقم‌های تجاری به‌طورمعمول بین ۴۰ تا ۶۰ درصد است. مهم‌ترین اسید چرب روغن کرچک، اسید ریسینولیک است که یک اسید چرب هیدروکسی غیراشباع است. دیگر اسیدهای چرب موجود در روغن کرچک شامل لینولنیک اسید، لینولئیک اسید، اولئیک اسید، استئاریک اسید، دی هیدروکسی استئاریک اسید، پالمیتیک اسید و ایکوزانوئیک اسید است (Ogunniyi, 2006). ازآنجایی‌که کرچک جز گیاهان روغنی به شمار می‌آید، بنابراین کیفیت و طول عمر بذر آن به‌شدت تحت تأثیر شرایط محیط نگهداری قرار می‌گیرد.

از زمان آغاز کشاورزی،کشاورزان نیاز به نگهداری بذرهای مورد نیاز خود از یک فصل رشد برای فصل رشد بعدی داشته‌اند. بذرهای اغلب گیاهان به‌طورمعمول پس از برداشت به مدت چند روز تا چند ماه یا چند سال در انبار نگهداری می‌شوند. توده‌های بذر با بنیهٔ اولیهٔ بالا، طول عمر بیشتری در زمان نگهداری نسبت به بذرهای با بنیهٔ اولیهٔ کم دارند. زوال بذر یکی از مشکلات عمده در تولید بخش کشاورزی است. بنا بر برآوردهای انجام‌شده حدود ۲۵درصد بذر یا نزدیک‌به ۵۰۰ میلیون دلار از درآمد به‌دست‌آمده از آن، سالیانه به دلیل کیفیت پایین بذرها از دست می‌رود (BenechArnold & Sanchez, 2004). شرایط محیطی نگهداری بذر تعیین‌کنندهٔ مدت‌زمانی است که جوانه‌زنی و توان آن حفظ می‌شود. زوال بذر در طی انبارداری باعث کاهش کیفیت بذر، استقرار گیاهچه و در نهایت عملکرد گیاه در کشتزار خواهد شد (McDonald, 1999). شرایط نگهداری بذرها می‌تواند بر شاخص‌های جوانه‌زنی و توان بذر تأثیرگذار باشد. شاخص‌های جوانه‌زنی از فراسنجه‌های مهم کیفیت بذر بوده که اهمیت ویژه‌ای دارند. افزون بر این توان بذر نیز تحت تأثیر پیری و زوال بذر است و در پی آن شاخص‌های جوانه‌زنی کاهش می‌یابد (Chen *et al*., 2007; Rastegar *et al*., 2011; Basra *et al*., 2003; Seiadat *et al*., 2012; Moradi & Younesi, 2009). تأخیر در سبز شدن نخستین نشانه‌های قابل مشاهدهٔ زوال است. با تداوم زوال بذر، شرایط محیطی که بذرها در آن قادر به جوانه‌زنی هستند محدودتر می‌شود. در ادامه از دست رفتن قابلیت (پتانسیل) ظهور در کشتزار از نشانه‌های دیگر زوال بذر است که قابل مشاهده است (Mohammadi *et al*., 2011; Soltani *et al*., 2008).

در فرآیند زوال بذر تغییرپذیری بیوشیمیایی شامل کاهش فعالیت‌های سوخت‌وسازی (متابولیکی) در طول جوانه‌زنی، تغییر در فعالیت‌های آنزیمی و کاهش زیست‌ساخت (بیوسنتز) پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک رخ خواهد داد (Bailly, 2004). در بذرهای زوال‌یافته به علت اختلال‌های ایجادشده در اندامک‌های یاخته‌ای مانند میتوکندری و گلی‌اکسی‌زوم‌ها میزان تولید گونه‌های فعال اکسیژن شامل پراکسیدهیدروژن، رادیکال هیدروکسیل و رادیکال سوپراکسید افزایش می‌یابد (Bailly *et al*., 2000). Seiadat *et al*. (2012) در گیاه ذرت و همچنین Ansari *et al*. (2013) در چاودار کوهی نشان دادند، فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده (آنتی‌اکسیدانت) در تیمار زوال بذر به علت افزایش رادیکال‌های آزاد کاهش یافت. طی پژوهشی گزارش شد، با افزایش در زوال بذر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (DemirKaya *et al*., 2010). در پژوهشی دیگر گزارش شد که با افزایش در زوال بذر تخریب میتوکندریایی افزایش یافته و این تخریب با کاهش در شاخص‌های جوانه‌زنی در ارتباط است (Mumtaz Khan *et al*., 2003). Seid Mohammadi (2011) روی بذر گیاه روغنی کلزا مشاهده کرد که با افزایش در زوال بذر میزان پروتئین محلول به‌طور معنی‌داری کاهش یافت.

مالون دی‌آلدهید (MDA) فراورده نهایی پراکسیداسیون چربی (لیپید)های غیراشباع یاخته است. ازاین‌رو به‌عنوان یک نشانگر زیستی مناسب برای تعیین میزان پراکسیداسیون چربی در یاخته به‌کاربرده می‌شود (Sofo *et al*., 2004). در بررسی روی کلزا گزارش شد که با افزایش در زوال بذر میزان مالون

دی‌آلدهید افزایش می‌یابد (Seid Mohammadi, 2011; Lin *et al.*, 2005). نتیجهٔ پراکسیداسیون چربی‌های غشا، ترکیب‌هایی مانند مالون دی‌آلدهید، پروپانل، بوتانل، هگزانال، هپتانال و پروپانال دی متیل استال خواهد بود. این ترکیب‌ها به‌عنوان شاخصی برای اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون چربی‌ها استفاده می‌شوند و در نتیجه نشت الکترولیت‌ها و همچنین هدایت الکتریکی افزایش می‌یابد. به‌طورکلی فعالیت‌های بیوشیمیایی و شاخص‌های جوانه‌زنی گیاهان در فرآیند زوال تغییر خواهد کرد، ازاین‌رو این پژوهش به‌منظور بررسی اثر شرایط مختلف انبارداری روی درصد جوانه‌زنی و شاخص‌های بیوشیمیایی و هدایت الکتریکی بذر کرچک به اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌منظور بررسی اثر شرایط مختلف محیط انبارداری بذر روی درصد جوانه‌زنی، هدایت الکتریکی و شاخص‌های بیوشیمیایی بذر کرچک در آزمایشگاه بذر دانشگاه تهران به‌صورت فاکتوریل سه عاملی در قالب طرح کامل تصادفی در چهار تکرار ۲۵ بذری در سال ۱۳۹۲ به اجرا درآمد. عامل‌های آزمایش شامل پنج سطح محتوای رطوبت بذر شامل ۳/۵۳ (رطوبت اولیهٔ بذر)، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ درصد و پنج سطح دمای انبارداری شامل دماهای ۵، ۱۵، ۲۵، ۳۵ و ۴۰ درجهٔ سلسیوس و شش طول دورهٔ انبارداری۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰ و ۱۸۰ روز بودند. طول دورهٔ انبارداری صفر (روز) در رسم شکل و تفسیر نتایج استفاده شد، ولی به علت تکرار نشدن آن در سطوح دیگر عامل‌ها در تجزیه‌های آماری استفاده نشد.

برای محاسبهٔ میزان آب مورد نیاز برای دستیابی به رطوبت‌های مورد نظر از رابطهٔ زیر استفاده شد:

$$W2 = W1\frac{(A-B)}{(100-A)}$$

که در این رابطه B محتوای رطوبت اولیهٔ بذر بر حسب درصد، A محتوای رطوبت مورد نبر حسب درصد، W1 جرم اولیهٔ تودهٔ بذر (گرم) و W2 جرم آب مقطر (گرم) است (Hampton & TecKrony, 1995). بدین منظور بذرها درون پاکت‌های فویل آلومینیم قرار گرفتند و آنگاه میزان آب مورد نیاز به آن اضافه شد و برای اطمینان از نداشتن تبادل رطوبت با بیرون بسته‌بندی شدند و به مدت ۴ ساعت در دمای ۱۵ درجهٔ سلسیوس قرار گرفتند تا بذرها هم رطوبت شوند و سپس به دماهای مختلف منتقل شدند (Ansari & Sharif Zadeh, 2012).

آزمون جوانه‌زنی

در مدت طول دورهٔ انبارداری با فاصله‌های مختلف زمانی (۳۰ روز) از تیمارها نمونه‌گیری و آزمون جوانه‌زنی استاندارد در چهار تکرار ۲۵ بذری در پتری دیش شیشه‌ای و بین کاغذ صافی در دمای ۳۰ درجهٔ سلسیوس به مدت چهارده روز بنا بر قوانین ISTA (2010) انجام شد. پیش از انجام آزمون جوانه‌زنی برای جلوگیری از آلودگی محیط بذرها به مدت ۶۰ ثانیه با هیپوکلریت سدیم ۱درصد ضدعفونی شدند، سپس برای از بین رفتن اثر هیپوکلریت سدیم، بذرها چندین بار با آب مقطر سترون (استریل) شستشو داده شدند و در محیط کشت دو قطره قارچ‌کش کاربوکسین تیرام به غلظت یک در هزار اضافه شد و درون هر پتری‌دیش به میزان نصف قطر بذر آب مقطر استریل اضافه شد. ملاک جوانه‌زنی خروج ۲ میلی‌متر ریشه‌چه بود.

نشت الکترولیت‌ها

نشت الکترولیت‌ها نیز از بذرهای نمونه‌برداری‌شده به فاصلهٔ هر سی روز یک‌بار و بنا بر قوانین اتحادیهٔ بین‌المللی آزمون بذر (ISTA, 2010)[1] اندازه‌گیری شدند. بدین منظور در آغاز ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۰ درجهٔ سلسیوس قرار داده و آنگاه هدایت الکتریکی آن با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری نشت الکتریکی مدل Inolab Listed 8f93 اندازه‌گیری شد (هدایت الکتریکی شاهد). در مرحلهٔ بعد سه نمونه ده بذری به‌دقت وزن شدند و در لیوان‌های پلاستیکی حاوی آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت در همان دما قرار گرفتند، سپس میزان هدایت الکتریکی محلول حاوی بذر اندازه‌گیری شد (هدایت

1. International Seed Testing Association

الکتریکی محلول). میزان نشت الکرولیت بذرها برحسب میکروزیمنس بر سانتی‌متر بر گرم بذر محاسبه شد (Hampton & TecKrony, 1995).

$$\text{نشت الکترولیت‌ها (میکروزیمنس بر سانتی‌متر بر گرم وزن بذر)} = \frac{\text{(هدایت الکتریکی شاهد- هدایت الکتریکی محلول)}}{\text{وزن بذر}}$$

اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی

بر مبنای نتایج درصد جوانه‌زنی و نشت الکترولیت‌ها، شاخص‌های بیوشیمیایی برای بذرهای انبارشده با محتوای رطوبت ۳/۵۳ و ۱۲ درصد، در دمای انبارداری ۵، ۱۵، ۲۵، ۳۵ و ۴۰ درجهٔ سلسیوس و به مدت طول دوره‌های انبارداری ۶۰ و۱۸۰ اندازه‌گیری و با هم مقایسه شدند. شاخص‌های بیوشیمیایی اندازه‌گیری‌شده شامل محتوای پروتئین کل، محتوای مالون دی‌آلدهید و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز بذر بودند که با روش‌های زیر اندازه‌گیری شدند.

استخراج عصارهٔ پروتئینی بر پایهٔ روش Giannopolitis & Ries (1977) صورت گرفت. برای اندازه‌گیری محتوای پروتئین محلول بذر و فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده به این صورت عمل شد که در آغاز بذرها روی محیط جوانه‌زنی (بنابر آزمون جوانه‌زنی استاندارد) قرار گرفتند و پیش از خروج ریشه‌چه (۲۴ ساعت)، محور جنینی از بذر جدا شده و پس از انجماد توسط نیتروژن مایع تا هنگام استخراج پروتئین درون فریزر با دمای ۸۰- درجهٔ سلسیوس نگهداری شدند. برای استخراج پروتئین ۰/۱۵ گرم از نمونه‌ها توسط هاون چینی و با استفاده از نیتروژن مایع به خوبی سائیده شدند و به حالت پودر درآمدند. پودر به‌دست‌آمده به ریزلوله (میکروتیوپ)های ۲ میلی‌لیتری منتقل شد، سپس به آن‌ها ۱/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=۷) افزوده شد. پس از یک دقیقه تکان دادن (ورتکس)، پودر نمونه‌ها و بافر استخراج، نمونه‌ها به مدت پانزده دقیقه در دمای ۴ درجهٔ سلسیوس با سرعت ۱۳۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ شدند. از عصارهٔ به‌دست‌آمده برای خواندن میزان پروتئین محلول جنین و سنجش کمی آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز وآسکوربات پراکسیداز استفاده شد. اندازه‌گیری پروتئین محلول به روش Bradford (1976) و در طول‌موج ۵۹۵ نانومتر با استفاده از طیف‌سنج نوری (اسپکتروفتومتر) مدل UV/VIS Shimaozo 54a انجام شد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش Aebi (1984) انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۳۰۰ میکرولیتر بافر فسفات (pH=۷) ۵۰ میلی‌مولار، حاوی ۱۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۳۰ درصد و ۱۰۰ میکرولیتر عصارهٔ آنزیمی بود. تجزیهٔ پراکسید هیدروژن به‌صورت کاهش جذب در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر در مدت پنج دقیقه در فاصله‌های ۶۰ ثانیه‌ای دنبال شد. فعالیت آنزیم به‌صورت جذب به ازای میلی‌مول در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین گزارش شد (ضریب خاموشی کاتالاز= ۰/۰۴۳۶ $mMol^{-1}\ cm^{-1}$).

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با استفاده از روش Ranieri *et al.* (1996) در دمای ۲۵ درجهٔ سلسیوس با استفاده از طیف‌سنج نوری در طول‌موج ۲۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش حاوی ۶۰۰ میکرولیتر از اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) ۰/۱ میلی مولار، ۱۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=7)، ۱۰۰۰ میکرولیتر آسکوربیک اسید ۲۰ میلی مولار، ۴۰۰ میکرولیتر H_2O_2 ۳۰ درصد و ۱۰۰ میکرولیتر عصارهٔ آنزیمی بود. فعالیت آنزیم در طول سه دقیقه ثبت شد. در نهایت با استفاده از تغییر جذب در دقیقه و ضریب خاموشی آسکوربات پراکسیداز، میزان آسکوربات باقی‌مانده پس از سه دقیقه انجام واکنش آنزیمی محاسبه و فعالیت ویژهٔ آنزیم به‌صورت میلی‌مول در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین گزارش شد. (ضریب خاموشی آسکوربات پراکسیداز = ۲/۸ $mM^{-1}\ cm^{-1}$).

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از راه اندازه‌گیری توانایی آن در جلوگیری از احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم کلراید (NBT) به روش Dhindsa (1981) اندازه‌گیری شد. ۳ میلی‌لیتر مخلوط واکنش شامل فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷/۸)، متیونین ۱۳ میلی‌مولار، نیتروبلوتترازولیوم کلراید ۷۵

میکرومولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، ریبوفلاوین ۳۶۰ میکرومولار و ۳۰ میکرولیتر عصارهٔ پروتئینی بود. این واکنش بر پایهٔ میزان احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم کلراید و توانایی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در جلوگیری از این واکنش بررسی می‌شود. بدین ترتیب پس از اینکه مخلوط واکنش هم‌زده شد، سل‌های طیف‌سنج نوری به مدت ده دقیقه در زیر یک لامپ فلورسنت ۱۵wبه فاصلهٔ ۳۵ سانتی‌متر قرار داده شد. با خاموش کردن لامپ واکنش متوقف و جذب مخلوط واکنش در ۵۶۰ نانومتر خوانده شد. یک واحد فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، میزان آنزیمی در نظر گرفته می‌شود که می‌تواند تا ۵۰ درصد بازدارندهٔ احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم کلراید شود. فعالیت ویژهٔ آنزیم به‌صورت شمار واحدهای آنزیم در میلی‌گرم پروتئین بیان شد.

$$\text{درصد بازدارندگی} = \frac{\text{۱۰۰ × (جذب با آنزیم − جذب بدون آنزیم)}}{\text{جذب بدون آنزیم}}$$

برای اندازه‌گیری میزان مالون دی آلدهید (MDA) بنابر روش Heath & Packer (1968) ۰/۵ گرم از نمونه محور جنینی با نیتروژن مایع در هاون خرد شد. پودر محور جنینی خردشده به ۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH= ۷) اضافه شد. نمونه‌ها در دمای ۴ درجهٔ سلسیوس به مدت سی دقیقه با دور ۱۴۰۰۰rpm سانتریفوژ شدند. به ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی پس از سانتریفیوژ، ۱ میلی‌لیتر محلول ۰،۵ درصد تیوباربیتیوریک (TBA) که حاوی اسید تری کلرواستیک ۲۰ درصد (TCA) بود، اضافه شد. میزان جذب محلول با دستگاه طیف‌سنج نوری در طول‌موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر خوانده شد. سپس بنا بر رابطهٔ زیر میزان MDA محاسبه شد. واحد اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدهید میکرومول بر گرم وزن جنین است.

= محتوای مالون دی آلدهید
(میکرومول بر گرم وزن جنین)

$$= ((A_{532}/155) / 0/2) - ((A_{600}/155) / 0/2))$$

در این رابطه A۵۳۲: جذب در طول‌موج ۵۳۲ نانومتر، A۶۰۰: جذب در طول‌موج ۶۰۰ نانومتر، ۰/۲: گرم وزن بذر و ۱۵۵: ضریب خاموشی ($mM^{-1} cm^{-1}$) است.

تجزیه تحلیل داده‌ها

تجزیهٔ آماری داده‌های آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخهٔ ۹/۱ انجام شد. با توجه به معنی‌داری برهمکنش سه گانهٔ دمای انبارداری، محتوای رطوبت بذر و طول دورهٔ انبارداری برای صفات درصد جوانه‌زنی و نشت الکترولیت‌ها، تجزیهٔ واریانس برش‌دهی اثر طول دورهٔ انبارداری و محتوای رطوبت بذر برای هر دما انجام شد و میانگین ترکیب‌های دما و طول دورهٔ انبارداری در هر دما به‌صورت جداگانه با استفاده از آزمون LSD مقایسه شدند. میانگین اثر ساده، دوگانه و یا چندگانهٔ عامل‌های آزمایشی برای دیگر صفات مورد بررسی نیز با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

شاخص‌های بیوشیمیایی

نتایج تجزیهٔ واریانس تأثیر طول دورهٔ انبارداری، دمای انبارداری و محتوای رطوبت بذر بر محتوای پروتئین کل، مالون دی‌آلدهید، میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز نشان داد که اثر اصلی طول دورهٔ انبارداری و دمای انبارداری روی همهٔ شاخص‌های بیوشیمیایی معنی‌دار بود، تأثیر محتوای رطوبت بذر تنها روی محتوای پروتئین محلول جنین و مالون دی‌آلدهید در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود، ولی روی دیگر شاخص‌های بیوشیمیایی معنی‌دار نبود. از میان اثرگذاری چندگانهٔ مورد بررسی برهمکنش طول دورهٔ انبارداری و دمای انبارداری بر محتوای مالون دی‌آلدهید در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود، برهمکنش طول دورهٔ انبارداری و محتوای رطوبت روی همهٔ شاخص‌های بیوشیمیایی به‌جز کاتالاز معنی‌دار بود، برهمکنش دمای انبارداری و محتوای رطوبت بذر تنها روی مالون دی‌آلدهید معنی‌دار بود، برهمکنش طول دورهٔ انبارداری، دمای انبارداری و محتوای رطوبت تنها روی مالون دی‌آلدهید معنی‌دار بود (جدول ۱).

محتوای پروتئین محلول

مقایسهٔ میانگین اثر اصلی دمای انبارداری برای محتوای پروتئین محلول جنین نشان داد، با افزایش دمای انبارداری محتوای پروتئین محلول بذر کاهش یافت، کمترین میزان پروتئین مربوط به دمای انبارداری ۴۰ درجهٔ سلسیوس بود (شکل ۱ الف). نتایج برهمکنش طول دورهٔ انبارداری و محتوای رطوبت بذر نشان داد که در هر دو محتوای رطوبت بذری ۳/۵۳ و ۱۲ درصد با افزایش طول دورهٔ انبارداری پروتئین محلول جنین به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و کمترین پروتئین مربوط به ۱۸۰ روز دورهٔ انبارداری و رطوبت بذر ۱۲ درصد بود (شکل ۱ ب). نتایج تحقیقات دیگری نیز نشان داده است، با افزایش در زوال بذر پروتئین کل کاهش می‌یابد که با نتایج به‌دست‌آمده همخوانی دارد (DemirKaya *et al*., 2010; Seid Mohammadi, 2011).

به‌طورکلی بذرها ماهیت تعادل رطوبتی (هیگروسکوپی) داشته و می‌توانند محتوی رطوبت خود را در هر رطوبت نسبی تنظیم کنند. رطوبت‌های نسبی بالا در فرآیند انبارداری، میزان رطوبت بذر را افزایش می‌دهد که نتیجهٔ آن افزایش فعالیت‌های بیوشیمیایی مانند افزایش تنفس و فعالیت پروتئازها است که می‌تواند در آغاز انبارداری منجر به افزایش محتوای پروتئین محلول شود، این در حالی است که با تداوم دورهٔ انبارداری و افت ذخایر غذایی بذر و نیز کاهش تنفس میزان پروتئین محلول نیز می‌تواند کاهش یابد. بیشتر بودن محتوای پروتئین محلول بذر در ۶۰ روز انبارداری در مقایسه با ۱۸۰ روز انبارداری می‌تواند به دلیل همین فرآیندها باشد. افزون بر آن، به نظر می‌رسد در دورهٔ انبارداری بلندمدت، دمای بالای انبارداری همراه با افزایش محتوای رطوبت بذری باعث تولید گونه‌های اکسیژن فعال می‌شود که این گونه‌ها با آسیب به پروتئین‌ها، منجر به تغییر ساختمان پروتئین‌ها می‌شوند، در نتیجه به‌علت واسرشته (دناتوره) شدن پروتئین‌ها طی فرآیند زوال بذرها، میزان پروتئین محلول کاهش می‌یابد. از سویی پیری باعث آسیب به سامانهٔ ساخت (سنتز) پروتئین می‌شود که این آسیب هم در مرحلهٔ رونویسی و هم در مرحلهٔ ترجمه رخ می‌دهد. به‌طورکلی ساخت پروتئین‌ها در فرآیند جوانه‌زنی، رشد محور جنینی و تولید آنزیم‌های هیدرولیزکننده و دیگر سامانه‌های یاخته‌ای انتقال‌دهندهٔ مواد اندوخته‌ای بذر نقش مهمی را ایفا می‌کنند و پیری بذر با کاهش ساخت پروتئین و در نتیجه اختلال در سازوکارهای مربوط به جوانه‌زنی باعث کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی می‌شود (Bailly, 2004). در فرآیند زوال بذر، به دلیل میل ترکیبی زیاد، اکسیژن‌های فعال و دیگر آلدهیدهای تولیدشده با مولکول‌های زیستی حیاتی مانند پروتئین‌ها، سبب واسرشته شدن آن‌ها شده و این امر در نهایت شکستن پروتئین‌ها توسط آنزیم‌های پروتئازی را تشدید می‌کند (Kapoor *et al*., 2010).

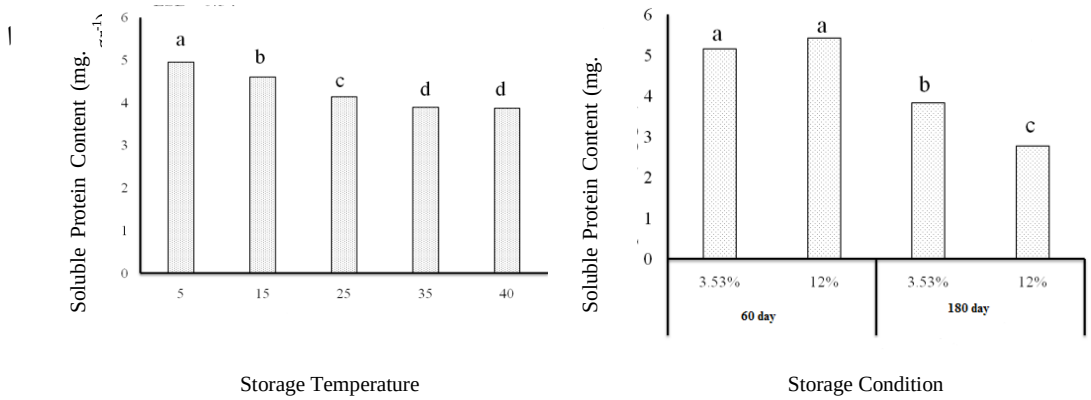
جدول ۱. تجزیهٔ واریانس تأثیر شرایط مختلف انبارداری برای برخی شاخص‌های بیوشیمیایی بذر کرچک (*Ricinus communis*)

Table 1. Analysis of variance of the effect of different storage conditions on some biochemical characteristics of castor bean (*Ricinus communis*) seed

S.O.V.	df	Mean square				
		Soluble Protein	CAT	SOD	APX	MDA
Storage Period (A)	1	59.04^{**}	25.22^{**}	0.079^{ns}	1.01^{*}	50.87^{**}
Storage Temperature (B)	4	2.69^{**}	2.95^{**}	4.21^{**}	3.38^{**}	563.52^{**}
Seed Moisture Content (C)	1	2.35^{**}	0.2^{ns}	0.14^{ns}	0.82^{ns}	280.15^{**}
A × B	4	0.2^{ns}	0.17^{ns}	0.14^{ns}	0.09^{ns}	4.22^{**}
A × C	1	6.73^{**}	0.73^{ns}	1.74^{**}	1.62^{**}	26.46^{**}
B ×C	4	0.2^{ns}	0.41^{ns}	0.3^{ns}	0.14^{ns}	5.67^{**}
A × B × C	4	0.19^{ns}	0.33^{ns}	0.37^{ns}	0.32^{ns}	21.89^{**}
Error	60	0.27	0.23	0.23	0.23	0.23
CV (%)	--	12.03	15.71	16.69	17.03	1.49

ns، * و ** نشان‌دهندهٔ نبود معنی‌داری، معنی‌داری در سطح ۵ درصد و معنی‌داری در سطح ۱ درصد.

ns: means non-significant.* and ** means significant at 5% and 1%, respectively.

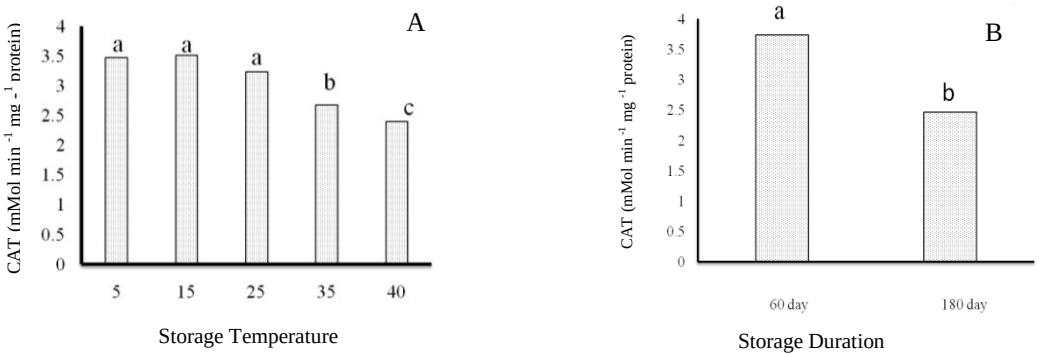


شکل ۱. تغییر محتوای پروتئین محلول بذر کرچک (*Ricinus communis*) تحت تأثیر دمای انبارداری (الف) و برهمکنش طول دورهٔ انبارداری و محتوای رطوبت بذر (ب). مقایسهٔ میانگین‌ها با استفاده آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

Figure 3. Changes of soluble protein content in castor bean (*Ricinus communis*) seeds under storage temperature (A) and interaction of Storage duration and seed moisture content (B). Means compared by LSD at 5% statistical level.

فعالیت آنزیم کاتالاز

نتایج مقایسهٔ میانگین اثر اصلی دمای انبارداری روی فعالیت آنزیم کاتالاز نشان داد که با افزایش در دمای نگهداری بذر فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش یافت، به‌طوری‌که کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز مربوط به دمای انبارداری ۴۰ درجهٔ سلسیوس و بیشترین فعالیت آن مربوط به دمای انبارداری ۵ درجهٔ سلسیوس بود که با دمای ۱۵ و ۲۵ درجهٔ سلسیوس تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۲ الف). میزان کاتالاز در دمای انبارداری ۳۵ درجهٔ سلسیوس نسبت به دمای ۵ درجهٔ سلسیوس ۲۲ درصد کاهش یافت و در دمای انبارداری ۴۰ درجهٔ سلسیوس نسبت به ۵ درجهٔ سلسیوس ۳۱ درصد کاهش یافت. فعالیت این آنزیم در ۱۸۰ روز انبارداری نزدیک به ۱/۵ واحد کاهش یافت (شکل ۲ ب). ازآنجایی‌که آنزیم‌ها ماهیت پروتئینی دارند با تخریب پروتئین‌ها در فرآیند زوال در پی آن فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده نیز کاهش می‌یابد، کاهش هماهنگ فعالیت کاتالاز و پروتئین محلول جنین با زوال بذر در این تحقیق نیز این موضوع را تأیید می‌کند Seiadat *et al.* (2012) در گیاه ذرت و همچنین Ansari *et al.* (2013) در چاودار کوهی نشان دادند که فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط زوال به علت افزایش آسیب رادیکال‌های آزاد کاهش یافت. نتایج تحقیقات Zamani *et al.* (2010) روی گلرنگ نیز نشان داد، فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمارهای مختلف پیری به‌شدت کاهش یافت. کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز براثر پیری مصنوعی و طبیعی در بررسی‌های دیگر نیز گزارش شده است (Mehravar *et al.*, 2014; Bailly *et al.*, 1996; Chiu, 1995).

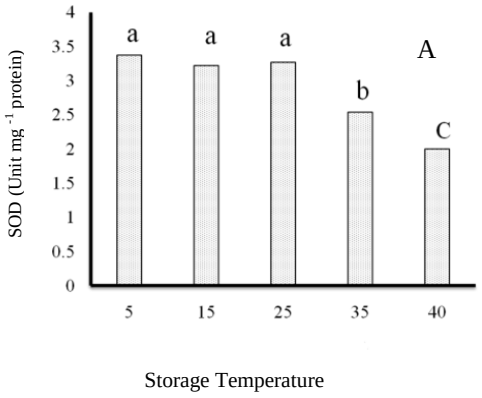


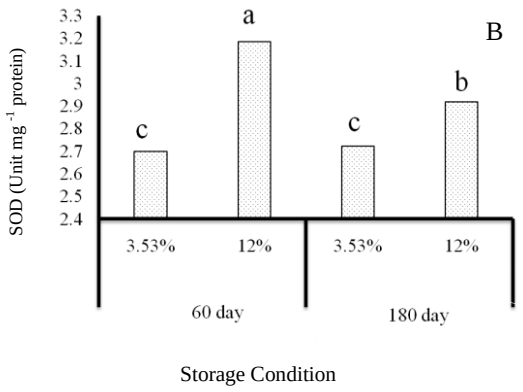
شکل ۲. تغییرپذیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) در بذر کرچک (*Ricinus communis*) طی دمای انبارداری (الف) و مدت دورهٔ انبارداری (ب). میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند.

Figure 2. Changes of catalase (CAT) activity in castor bean (*Ricinus communis*) seeds under storage temperature and (A) storage duration (B). Means compared by LSD at 5% statistical level.

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

با افزایش در دمای نگهداری بذر فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز کاهش یافت. در دماهای انبارداری ۵، ۱۵ و ۲۵ درجهٔ سلسیوس اختلاف معنی‌داری در میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز مشاهده نشد (شکل ۳ الف). میزان فعالیت این آنزیم با افزایش دما کاهش یافت و در دماهای انبارداری ۳۵ و ۴۰ درجهٔ سلسیوس به ترتیب ۲۲ درصد و ۳۹ درصد نسبت به دمای ۵ درجه کاهش یافت. نتایج مقایسهٔ میانگین برهمکنش طول دورهٔ انبارداری و محتوای رطوبت بذر نشان داد که در بذرهای با محتوای رطوبت ۳/۵۳ بین ۶۰ و ۱۸۰ روز انبارداری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد و افزایش طول دورهٔ انبارداری تنها در محتوای رطوبت بذر ۱۲ درصد توانست فعالیت سوپراکسید دیسموتاز را کاهش دهد، به‌هرحال در هر دو دورهٔ انبارداری، بذرهای انبارشده با رطوبت ۳/۵۳ درصد فعالیت سوپراکسید دیسموتاز کمتری نسبت به بذرهای انبارشده با رطوبت ۱۲ درصد داشتند (شکل ۳ ب).





شکل ۳. تغییرپذیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بذر کرچک (*Ricinus communis*) تحت تأثیر برهمکنش مدت دورهٔ انبارداری و محتوای رطوبت بذر (الف) و دمای انبارداری (ب). مقایسهٔ میانگین با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

Figure 3. Changes of superoxide dismutase activity in castor bean (*Ricinus communis*) seeds under interaction of storage duration and seed moisture content (A) and Storage temperature (B). Means compared by LSD at the 5% statistical level.

Mehravar *et al.* (2014) روی دو رقم سویا گزارش کردند، روند تغییرپذیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در طول دوران پیری کاهشی بود. نتایج تحقیق دیگری روی گلرنگ نشان داد، افزایش مدت‌زمان پیری مصنوعی باعث کاهش بیشتر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز شد، همچنین پیری طبیعی نیز فعالیت این آنزیم را نسبت به بذرهای پیر نشده کاهش داد (Zamani *et al.*, 2010). کاهش فعالیت این آنزیم در بررسی‌های دیگری نیز گزارش شده است (Goel *et al.*, 2003; Chiu *et al.*, 1995). ازآنجایی‌که عمده‌ترین اثر انبارداری نامناسب به‌ویژه در رطوبت بالا افزایش فعالیت‌های تنفسی و تخلیهٔ ذخایر غذایی بذر است، افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در محتوای رطوبت بالای بذر می‌تواند از افزایش رادیکال‌های آزاد ناشی از نشت الکترون‌ها از چرخهٔ تنفسی باشد که یاخته را وادار به افزایش فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی از جمله سوپراکسید دیسموتاز می‌کند (Bailly, 2004, Kong *et al.*, 2015).

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

روند تغییرپذیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با محتوای رطوبت بذر، دمای انبارداری و طول دورهٔ انبارداری همسان دو آنزیم پیش بود. نتایج مقایسهٔ میانگین برهمکنش طول دورهٔ انبارداری و محتوای رطوبت نشان داد، با افزایش طول دورهٔ انبارداری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز کاهش یافت (شکل ۴ الف). فعالیت این آنزیم در محتوای رطوبت بذر ۱۲ درصد در هر دو دورهٔ انبارداری بیشتر از ۳/۵۳ درصد

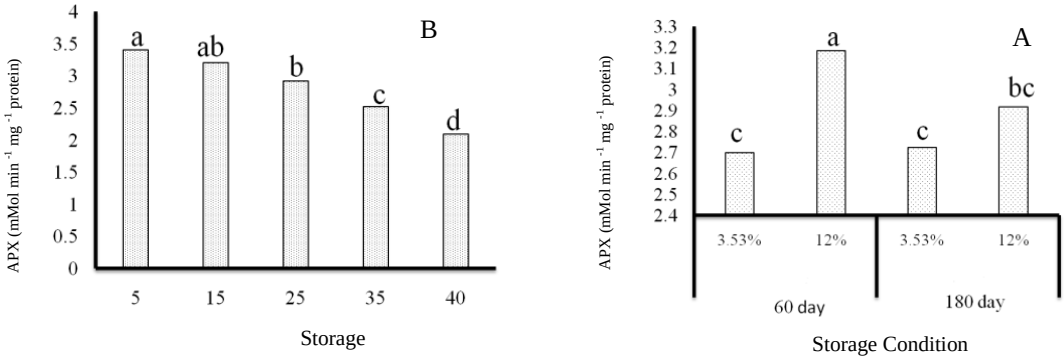
بود، این در حالی است که در بذرها با محتوای رطوبت ۱۲ درصد با افزایش طول دورهٔ انبارداری از ۶۰ به ۱۸۰ روز فعالیت آسکوربات پروکسیداز به‌طور تقریبی ۰/۳ واحد کاهش یافت. افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با افزایش محتوای رطوبت بذر در یولاف نیز گزارش شده است (Kong *et al*., 2015). در همین بررسی گزارش شد، در رطوبت‌های بالای ۴ درصد، افزایش سمیت ناشی از تجمع گونه‌های فعال اکسیژن فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را در دورهٔ انبارداری کاهش داد (Kong *et al*., 2015).

در نتایج بررسی‌ها مشاهده شد، با افزایش دمای انبارداری فعالیت این آنزیم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در دمای انبارداری ۵ درجهٔ سلسیوس مشاهده شد که با دمای انبارداری ۱۵ درجه تفاوت معنی‌داری نداشت. کمترین فعالیت این آنزیم مربوط به دمای انبارداری ۴۰ درجهٔ سلسیوس بود که نسبت به دمای ۵ درجه ۳۹ درصد کاهش نشان داد (شکل۴ ب).

محتوای مالون دی‌آلدهید

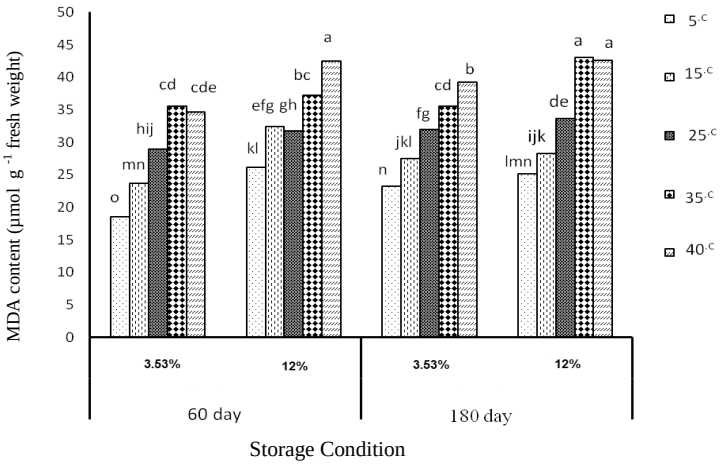
تعیین محتوای مالون‌دی‌آلدهید به‌عنوان یکی از فرآوردهای جانبی تولیدشده در فرآیند پراکسیداسیون، روشی رایج برای تعیین میزان پراکسیداسیون چربی‌ها است (Stewart & Bewley, 1980). برخلاف آنچه در ویژگی‌های پیشین مشاهده شد در هر دو دورهٔ انبارداری محتوای مالون دی آلدهید جنین، با افزایش دمای انبار و محتوای رطوبت بذر به نسبت افزایشی بود. در هر دو دورهٔ انبارداری ۶۰ و ۱۸۰ روز به ترتیب بیشترین و کمترین محتوای مالون دی‌آلدهید مربوط به ترکیب‌های تیماری دمای انبارداری ۴۵ درجهٔ سلسیوس و محتوای رطوبت ۱۲ درصد و دمای انبارداری ۵ درجهٔ سلسیوس و محتوای رطوبت ۳/۵۳درصد بود (شکل ۵).

Seid Mohammadi (2011) در نتایج بررسی خود بیان داشت که با افزایش در دورهٔ انبارداری، محتوای رطوبت بذر و دمای محیط مالون دی‌آلدهید افزایش یافته و بالاترین میزان مالون دی‌آلدهید مربوط به دماها و رطوبت‌های بالاتر بود. با آبکافت (هیدرولیز) فسفولیپیدها گلیسرول و اسیدهای چرب آزادشده و این امر با افزایش در زوال بذر افزایش می‌یابد و منجر به افزایش مالون دی‌آلدهید و در نتیجه کاهش در شاخص‌های جوانه‌زنی خواهد شد (Alivand, 2010). افزایش پراکسیداسیون چربی‌ها در فرآیند زوال بذر می‌تواند کارآمدی سامانه‌های پاداکسندگی را در جلوگیری از بروز سمیت گونه‌های فعال اکسیژن کاهش دهد (Kibinza *et al*., 2006) که با افت فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی در فرآیند زوال بذر در این پژوهش هماهنگ است. افزایش پراکسیداسیون چربی‌ها به همراه کاهش فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده از مهم‌ترین دلایل کاهش بنیهٔ بذرهای روغنی گزارش شده است (McDonald, 1999, Bailly, 2004).



شکل ۴. تغییرپذیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) در بذر کرچک (*Ricinus communis*) تحت تأثیر برهمکنش مدت دورهٔ انبارداری و محتوای رطوبت بذر (الف) و دمای انبارداری (ب). مقایسهٔ میانگین با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

Figure 4. Changes of Ascorbate peroxidase (APX) activity in castor bean (*Ricinus communis*) seeds under interaction of storage duration and seed moisture content (A) and storage temperature (B). Means compared by LSD at the 5% statistical level.



شکل ۵. مقایسهٔ میانگین برهمکنش تأثیر مدت دورهٔ انبارداری، محتوای رطوبت بذر و دمای انبارداری برای محتوای مالون دی‌آلدهید (MDA) بذر کرچک (*Ricinus communis*). مقایسهٔ میانگین با آزمون LSD در سطح احتمال ۵درصد انجام شد.

Figure 5. Mean comparison of interaction of storage duration, seed moisture content and storage temperature on malondialdehyd (MDA) content of castor bean (*Ricinus communis*) seeds. Means compared by LSD at the 5% statistical level.

نشت الکترولیت‌ها

نتایج جدول تجزیهٔ واریانس (جدول ۲) نشان داد، اثر اصلی محتوای رطوبت بذر، دمای انبارداری و دوره‌های مختلف انبارداری و همچنین اثر دو گانه و سه گانهٔ عامل‌های آزمایشی بر نشت الکترولیت در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. به‌طورکلی در همهٔ دماهای انبارداری (۵، ۱۵، ۲۵، ۳۵ و ۴۰ درجهٔ سلسیوس) و محتوای رطوبت بذری (۳/۵۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ درصد) روند تغییرپذیری نشت الکترولیت‌ها با گذشت طول دورهٔ انبارداری افزایشی بود. بذرهای انبارشده در دمای ۵ درجهٔ سلسیوس، محتوای رطوبت‌های بذری ۳/۵۳ و ۱۵ درصد به ترتیب بیشترین و کمترین میزان نشت الکترولیت‌ها را در دورهٔ انبارداری داشتند (شکل ۶). لذا مشاهده شد میزان نشت در رطوبت ۱۵ درصد پس از ۱۸۰ روز انبارداری به بیش از دو برابر زمان آغاز انبارداری رسید. روند به نسبت همسانی در دیگر دماهای انبارداری مشاهده شد با این تفاوت که میانگین نشت نهایی از بذرهای انبارشده در دماهای بالاتر بیشتر بود. تفاوت نشت الکترولیت‌ها بین محتوای رطوبت‌های مختلف در دماهای بالاتر بیشتر قابل مشاهده بود و در دماهای پایین اختلاف زیادی بین میزان نشت الکترولیت در محتوای رطوبت‌های مختلف وجود نداشت که نشان‌دهندهٔ آسیب کمتر به غشاهای دیوارهٔ یاخته‌ای در این شرایط (دمای پایین) است. این در حالی است که در دماهای بالاتر به‌ویژه در دماهای ۳۵ و ۴۰ درجهٔ سلسیوس افزایش سطح محتوای رطوبت بذر منجر به افزایش سریع نشت الکترولیت‌ها از بذر شد.

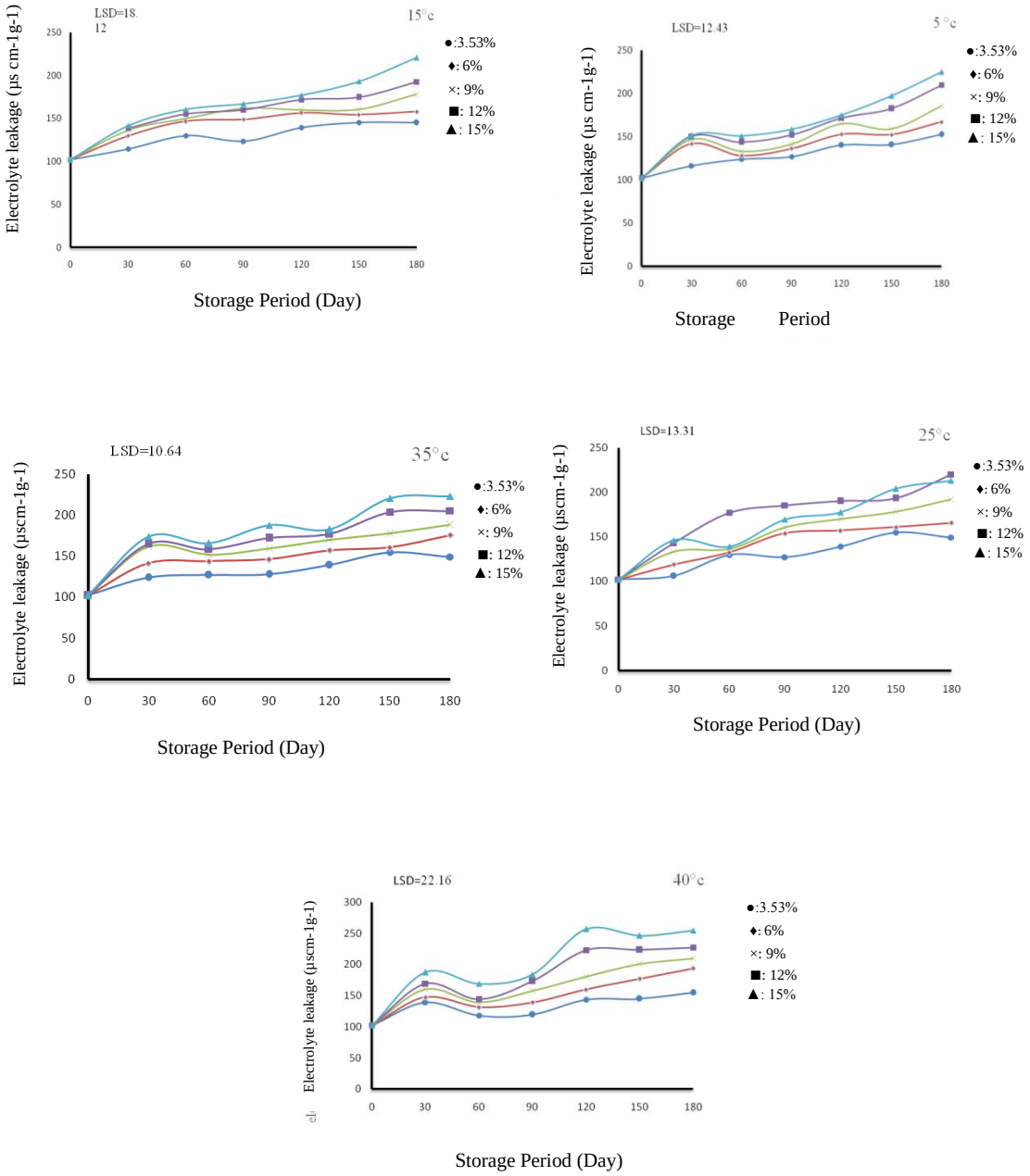
جدول ۲. تجزیهٔ واریانس تأثیر شرایط مختلف نگهداری بذر برای برخی شاخص‌های جوانه‌زنی بذر کرچک (*Ricinus communis*)

Table 2. Analysis of variance of the effect of different storage conditions on germination characteristics of castor bean (*Ricinus communis*)

Sources of variation	df	Electrolyte Leakage	Germination Percentage
Storage Period (A)	5	40732.3**	5247.92**
Storage Temperature (B)	4	9561.8**	2423.32**
Seed Moisture Content (C)	4	56082.56**	40897.02**
A × B	20	1509.31**	421.36**
A × C	20	1122.83**	298.32**
B × C	16	1013.52**	1925.61**
A × B × C	80	202.81**	468.01**
Error	450	36.02	13.02
CV (%)	--	3.67	12.03

**: Significant at 1% probability level. **: معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

به‌نظر می‌رسد با کاهش فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی، گونه‌های فعال اکسیژن و در پی آن پراکسیداسیون چربی‌های غشا و نفوذپذیری آن افزایش یافته که منجر به افزایش نشت الکترولیت‌ها از غشا می‌شوند. Basra *et al.* (2003) در نتایج بررسی روی بذرهای پنبه که در شرایط زوال قرار گرفته بودند گزارش کردند، تغییر در ترکیب اسیدهای چرب غشاء باعث اختلال در عملکرد غشای یاخته‌ای، افزایش گرانروی (ویسکوزیته) و نفوذپذیری غشا و منجر به افزایش نشت مواد از بذر می‌شود.



شکل ۶. روند تغییرپذیری نشت الکترولیت بذر کرچک (*Ricinus communis*) در دورهٔ انبارداری تحت تأثیر محتوای رطوبت بذر و دمای انبارداری. نشانه‌های نشان‌دهندهٔ محتوای رطوبت مختلف بذری هستند.

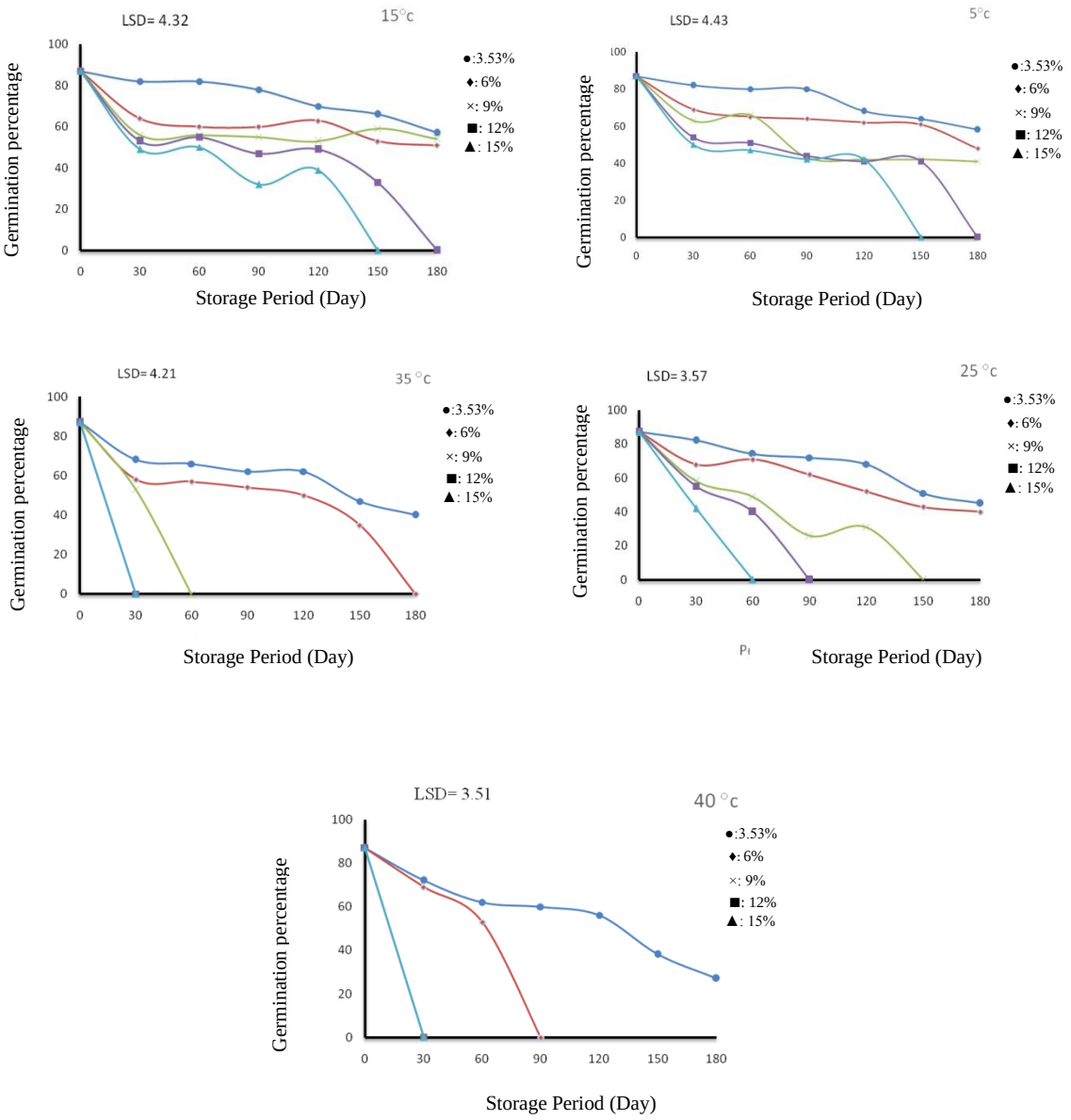
Figure 6. Electrolyte leakage changes in castor bean (*Ricinus communis*) seeds during storage period under the influence of seed moisture content and Temperature. Symbols showing seed moisture content.

درصد جوانه‌زنی

برخلاف آنچه در صفت نشت الکترولیت مشاهده شد که با افزایش محتوای رطوبتی بذر در همهٔ دماهای مورد بررسی (۵، ۱۵، ۲۵، ۳۵ و ۴۰ درجهٔ سلسیوس) درصد جوانه‌زنی کل در دورهٔ انبارداری کاهش یافت (شکل۱). در دمای انبارداری ۵ درجهٔ سلسیوس، بذرهای با محتوای رطوبتی ۳/۵۳ و ۶ درصد توانستند قوهٔ نامیهٔ خود را به مدت ۱۸۰ روز حفظ کنند. در این دما با افزایش محتوای رطوبت به ۱۲ و ۱۵ درصد، درصد جوانه‌زنی پس از ۱۸۰ و ۱۵۰ روز به صفر رسید (شکل۷). در دمای انبارداری ۱۵ درجهٔ سلسیوس، بذرهای با محتوای رطوبتی ۳/۵۳، ۶ و ۹ درصد، قوهٔ نامیهٔ خود را تا حدودی به مدت ۱۸۰ روز حفظ کردند و بیشترین درصد جوانه‌زنی در محتوای رطوبتی ۳/۵۳ درصد پس از شصت روز انبارداری مشاهده شد و کمترین درصد جوانه‌زنی به ترتیب در محتوای رطوبتی ۱۲ و ۱۵ درصد پس از ۱۵۰ و ۱۸۰ روز مشاهده شد. در دمای انبارداری ۲۵ درجهٔ سلسیوس، بذرهای با محتوای رطوبتی ۳/۵۳ و ۶ درصد توانستند تا ۱۸۰ روز قوهٔ نامیهٔ خود را حفظ کنند و در رطوبت‌های ۱۵ و ۱۲ درصد به ترتیب پس از ۶۰ و ۹۰ روز انبارداری درصد جوانه‌زنی کل به صفر رسید (شکل۷). این واکنش نشان‌دهندهٔ این موضوع است که محتوای رطوبت بذر در مقایسه با مدت دورهٔ انبارداری تأثیر مهم‌تری بر توان بذر دارد. Kibinza *et al*, (2006) در بررسی روی آفتابگردان گزارش کردند که افزایش محتوای رطوبت بذر منجر به افزایش سرعت زوال بذر در دورهٔ انبارداری شد. Ansari *et al*. (2013) و Alivand (2010) گزارش کردند که با افزایش در دورهٔ انبارداری درصد جوانه‌زنی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و این کاهش در رطوبت و دماهای بالا بیشتر بود.

در دمای انبارداری ۳۵ درجهٔ سلسیوس، بذرهای با محتوای رطوبتی ۳/۵۳ درصد تا ۱۸۰ روز پس از آغاز انبارداری قوهٔ نامیهٔ خود را حفظ کرده و بیشترین درصد جوانه‌زنی کل از محتوای رطوبتی ۳/۵۳ درصد پس از ۳۰ روز انبارداری مشاهده شد و با افزایش مدت دوره‌های انبارداری یک روند کاهشی در درصد جوانه‌زنی مشاهده شد و همچنین کمترین درصد جوانه‌زنی در محتوای رطوبتی ۱۵ درصد پس از ۳۰ روز انبارداری مشاهده شد (شکل۷). در دمای انبارداری ۴۰درجهٔ سلسیوس جوانه‌زنی در رطوبت‌های ۹ درصد و بیشتر مشاهده نشد و در محتوای رطوبت ۶ درصد پس از ۹۰ روز به صفر رسید (شکل ۷). در این دما بذرهای با محتوای رطوبتی ۳/۵۳ توانستند تا ۱۸۰ روز انبارداری قوهٔ نامیهٔ خود را حفظ کنند. به‌طورکلی نتایج نشان داد، درصد جوانه‌زنی کل با گذشت مدت دورهٔ انبارداری کاهش یافت و این کاهش در محتواهای رطوبتی بالاتر و دمای انبارداری بالاتر با شیب و سرعت بیشتری رخ داد.

به نظر می‌رسد با افزایش زوال بذر مصرف مواد ذخیره‌ای بذر کاهش یافته و با کاهش در مصرف مواد ذخیره‌ای بذر رشد جنین و انتقال مواد ذخیره‌ای به بذر کم می‌شود و این می‌تواند دلیل کاهش در شاخص‌های جوانه‌زنی بذر پس از زوال بذر باشد (Mohammadi *et al*., 2011). به‌هرحال همراه با زوال بذر، تنفس به‌تدریج ضعیف‌تر شده و در نتیجه منجر به مرگ بذر و تلفات در جوانه‌زنی می‌شود (Mumtaz Khan *et al*., 2003). افت همزمان جوانه‌زنی و محتوای پروتئین محلول جنین می‌تواند تأییدکنندهٔ ارتباط میزان تنفس و توان بذر باشد. افزون بر این Goel *et al*. (2003) کاهش درصد جوانه‌زنی در دورهٔ انبارداری را به تغییرپذیری بیوشیمیایی رخ داده در بذرهای زوال یافته نسبت داده‌اند، از این قبیل می‌توان به کاهش در فعالیت آمیلازها، پروتئازها، گلیسرآلدئید فسفات دی‌هیدروژنازها اشاره کرد. Lin *et al*. (2005) بیان کردند، دمای بالا سبب افزایش سرعت رخداد برخی از واکنش‌های آنزیمی و سوخت‌وسازی می‌شود، که تسریع زوال را به دنبال دارد و از این راه درصد جوانه‌زنی کاهش می‌یابد. در دورهٔ انبارداری افزایش در رادیکال‌های آزاد، پراکسیداسیون چربی‌ها، از بین رفتن نفوذپذیری غشا و نشت الکترولیت‌ها سبب افزایش مرگ‌ومیر بذر و افت جوانه‌زنی می‌شود (Kong *et al*., 2015). همراه با کاهش جوانه‌زنی، افت فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی در فرآیند زوال بذر به همراه افزایش میزان پراکسیداسیون چربی‌ها و نشت الکترولیت‌ها در این پژوهش تأییدکنندهٔ این موضوع است.



شکل ۷. روند تغییرپذیری درصد جوانه‌زنی بذر کرچک (*Ricinus communis*) در دورهٔ انبارداری تحت تأثیر محتوای رطوبت بذر و دمای انبارداری. نشانه‌ها نشان‌دهندهٔ محتوای رطوبت مختلف بذری هستند.

Figure 1. Germination percentage changes in Castor bean (*Ricinus communis*) seeds during storage period under the influence of seed moisture content and temperature. Symbols showing seed moisture content.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج آزمایش نشان داد، جوانه‌زنی بذر در دورهٔ انبارداری کاهشی بود و در میان محتوای رطوبت‌های مورد بررسی رطوبت‌های ۱۲ و ۱۵ درصد بیشترین تأثیر منفی را بر جوانه‌زنی بذر کرچک به‌ویژه در دماهای ۲۵، ۳۵ و ۴۰ درجهٔ سلسیوس داشتند. با افزایش دمای انبارداری و محتوای رطوبت بذر نشت الکترولیت‌ها نیز افزایش یافت. همچنین نتایج بررسی آنزیم‌ها نشان داد که با افزایش در طول دورهٔ انبارداری و با افزایش دمای انبارداری میزان پروتئین و فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز کاهش یافت، بیشترین میزان پروتئین محلول و فعالیت آنزیمی مربوط به دمای ۵ درجهٔ سلسیوس و محتوای رطوبت بذر ۱۲ درصد و ۶۰ روز انبارداری بود. با افزایش در مدت‌زمان زوال بذر و افزایش در محتوای رطوبت بذر و دمای انبارداری مالون دی‌آلدهید به‌طور معنی‌داری

افزایش یافت و بالاترین میزان مالون دی‌آلدهید مربوط به دمای ۴۰ درجهٔ سلسیوس و محتوای رطوبت بذر ۱۲ درصد پس از ۱۸۰ روز انبارداری بود. به‌طورکلی افت جوانه‌زنی در انبارداری به‌ویژه در رطوبت و دماهای بالا می‌تواند به دلیل کاهش در فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی، تخریب پروتئین‌ها، اکسایش (اکسیداسیون) چربی‌ها و همچنین افزایش نشت الکترولیت‌ها باشد. بر مبنای نتایج کلی این آزمایش مناسب‌ترین شرایط انبارداری بذر کرچک محتوای رطوبت بذر ۳/۵۳ درصد در دمای انبارداری ۵ درجهٔ سلسیوس پیشنهاد می‌شود.

REFERENCES

1. Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods Enzymol*, 105, 121-126.
2. Alivand, R. (2010). *The study of deterioration in oil seed crops under different storage conditions.* M.Sc Thesis. University of Tehran, Iran. 208 pp. (in Farsi)
3. Ansari, O., Sharif-Zadeh, F., Moradi, A., Azadi, M.S. & Younesi, E. (2013). Heat shock treatment can improve some seed germination indexes and enzyme activity in primed seeds with gibberellin of Mountain Rye (*Secale montanum*) under accelerated aging conditions. *Cercetari Agronomice în Moldova*, 155(3), 21-30.
4. Ansari, O. & Sharif Zadeh, F. (2012). Slow moisture content reduction (SMCR) can improve some seed germination indices in primed seeds of Mountain Rye (*Secale montanum*) under accelerated aging conditions. *Journal of Seed Science and Technology*, 2(2), 68-76.
5. Bailly, C. (2004). Active oxygen species and antioxidants in seed biology. *Seed Science Research*, 14, 93-107.
6. Bailly, C., Benamar, A., Corbineau, F. & Come, D. (2000). Antioxidant systems in sunflower (*Helianthus annuus*L.) seeds as affected by priming. *Seed Science Research*, 10, 35- 42.
7. Bailly, C., Benamar, A., Corbineau, F. & Come, D. (1996). Changes in malondialdehyde content and superoxide dismutase, catalase, and glutathione reductase activities in sunflower seeds as related to deterioration during accelerated ageing. *Physiologia Plantarum*, 97, 104 -110.
8. Basra, S. M. A., Ahmad, N., Khan, M. M., Iqbal, N. & Cheema, M. A. (2003). Assessment of cotton seed deterioration during accelerated aging. *Seed Science and Technology*, 31, 531-540.
9. Benech-Arnold, R. L. & Sanchez, R. A. (2004). *Handbook of seed physiology: application to agriculture*. Food Products Press, Binghamton, New York. 501 pp.
10. Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
11. Chen, J., Cheng, Z. & Zhong, S. (2007). Effect of exogenous salicylic acid on growth and H_2O_2-metabolizing enzymes in rice seedlings under lead stress. *Journal of Environmental Sciences*, 19, 44-49.
12. Chiu, K. Y., Wang, C. S. & 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(3), 441 - 446.
13. DemirKaya, M., Dietz, K. J. & Sivriteoe, H. O. (2010). Changes in antioxidant enzymes during ageing of onion Seed. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 38(1), 49-52.
14. Dhindsa, R. S. (1981). Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*, 32(1), 93-101.
15. Giannopolitis, C. N. & Ries, S. K. (1977). Superoxide dismutases I. Occurrence in higher plants. *Plant physiology*, 59(2), 309-314.
16. Goel, A., Goel, A. K. & Sheoran, I. S. (2003). Changes in oxidative stress enzymes during artificial aging in Cotton (*Gossypium hirstum* L.) seed. *Plant Physiology*, 160, 1093-1100.
17. Hampton, J. G. & TecKrony, D. M. (1995). *Handbook of vigor test methods*. The International Seed Testing Association, Zurich. 117 pp.
18. Heath, R. L. & Packer, I. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics, 125, 189-198.
19. ISTA. (2010). *International rules for seed testing*. Published by the international seed testing Association.
20. Kapoor, N., Arya, A., Siddiqui, M. A., Amir, A. & Kumar, H. (2010). Seed deterioration in chickpea (*Cicer arietinum* L.) under accelerated ageing. *Asian Journal Plant Science*, 9, 158-162.
21. Kibinza, S., Vinel, D., Come, D., Bailly, C. & Corbineau, F. (2006). Sunflower seed deterioration as related to moisture content during ageing, energy metabolism and active oxygen species scavenging. *Physiologia Plantarum*, 128, 496-506.

22. Kong, L., Huo, H. & Mao, P. (2015). Antioxidant response and related gene expression in aged oat seed. *Frontier in Plant Science*, 6, 1-9.
23. Lin, R. H., Chen, K. Y., Chen, C. L., Chen, J. J. & Sung, J. M. (2005). Slow post-hydration drying improves initial quality but reduces longevity of primed bitter gourd seeds. *Scientia Horticulturae*, 106, 114-124.
24. McDonald, M. B. (1999). Seed deterioration: Physiology, repair and assessment. *Seed Science and Technolgy*, 27, 177-237.
25. Mehravar, M., Sateii, A., Hamidi, A., Ahmadi, M. R. & Salehi, M. (2014). Evaluation of lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in seeds of two soybean cultivars under the influence of accelerated aging. *Iranian Journal of Seed Science and Technology*, 3(1), 17-30. (in Farsi)
26. Mohammadi, H., Soltani, A., Sadeghipour, H. R. & Zeinali, H. (2011). Effects of seed aging on subsequent seed reserve utilization and seedling growth in soybean. *International Journal of Plant Production*, 5(1), 65-70.
27. Moradi, A. & Younesi, O. (2009). Effects of osmo-and hydro-priming on seed parameters of grain sorghum (*Sorghum bicolor* L.). *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(3), 1696-1700.
28. Mumtaz khan, M., Iqbal, J., Abbas, M. & Usman, M. (2003). Effect of aging on viability, vigour and chromosomal damage in pea (*Pisum sativum* L.) seeds. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 40(1), 54-50.
29. Ogunniyi, D.S. (2006). Castor oil: A vital industrial raw material. *Bioresource Technology*, 97, 1086-1091.
30. Ranieri, A., D'Urso, G., Nali, C., Lorenzini, G. & Soldatini G. F. (1996). Ozone stimulates apoplastic systems in pumkin leaves. *Physiologia Plantarum*, 97, 381-387.
31. Rastegar, Z., Sedghi, M. & Khomari, S. (2011). Effects of accelerated aging on soybean seed germination indices at laboratory conditions. *Notulae Scientia Biologicae*, 3(3), 126-129.
32. Seiadat, S. A., Moosavi, A. & Sharafizadeh, M. (2012). Effect of seed priming on antioxidant activity and germination characteristics of maize seeds under different aging treatments. *Research Journal of Seed Science*, 5(2), 51-62.
33. Seid Mohammadi, M. (2011). *The effect of salicylic acid on temperature-moisture responses in aged seed of Brassica napus*. M.Sc Thesis. University of Tehran, Iran. 378 pp. (in Farsi)
34. Sofo, A., Dichio, B., Xiloyannis, C. & Masia, A. (2004). Lipoxygenase activity and proline accumulation in leaves and roots of olive trees in response to drought stress. *Physiologia Plantarum*, 121, 58-65.
35. Soltani, E., Galeshi, S., Kamkar, B. & Akramghaderi, F. (2008). Modeling seed aging effects on response of germination to temperature in wheat. *Seed Science and Biotechnology*, 2(1), 32-36.
36. Stewart, R. R. C. & Bewley, J. D. (1980). Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean. *Plant Physiology*, 65, 245-248.
37. Zamani, A., Nouri, C., Tavakol Afshari, R., Iran Nejad, H., Akbari, GH. & Tavakoli, A. (2010). Evaluation of lipid peroxidation and activity of antioxidant enzymes in the seeds of safflower under conditions of natural and artificial aging. *Iranian Journal of Agricultural Science*, 41(3), 554-545. (in Farsi)