



علوم و تحقیقات بذر ایران  
سال سوم / شماره سوم / ۱۳۹۵ (۱۰۳ - ۸۹)



## اثر زوال بر تغییرات آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی و غیر آنزیمی و خصوصیات بیوشیمیایی بذرهای جو رقم والفجر

مهدی شعبان\*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱/۱۶

### چکیده

این تحقیق به منظور بررسی اثر طول مدت زوال تسریع شده بر فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی و غیر آنزیمی و نیز خصوصیات بیوشیمیایی بذرهای جو در دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد در تابستان سال ۱۳۹۴ به صورت کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. فاکتور مورد مطالعه عبارت بود از طول مدت زوال تسریع شده در ۵ سطح شامل تیمار شاهد و زوال مصنوعی یک، دو، سه، چهار و پنج روزه. صفات اندازه‌گیری شده شامل، درصد جوانه‌زنی، هدایت الکتریکی و بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی و غیر آنزیمی بودند. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر زوال بر صفات درصد جوانه‌زنی بذور، هدایت الکتریکی، قندهای محلول، پروتئین محلول، پرولین، اسید آسکوربیک، آنزیم کاتالاز، پروکسیداز و آسکوربات پروکسیداز معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین نشان داد با افزایش تعداد روزهای زوال درصد جوانه‌زنی بذرهای جو کاهش و تولید مالون‌دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن و هدایت الکتریکی محلول در برگیرنده بذور افزایش می‌یابد. تولید قندهای محلول و پروتئین محلول به ترتیب تا سه و دو روز افزایش یافته و از آن به بعد کاهش پیدا کرد. محتوای پرولین با افزایش مدت زوال تا دو روز روند افزایشی داشته و از آن به بعد روند کاهشی به خود گرفت، ولی روند تولید اسید آسکوربیک در بذرهای زوال یافته با افزایش روزهای زوال کاهشی بود و تولید آن در تیمارهای زوال یک تا چهار روز بالاتر از تیمار شاهد بود. زوال سبب تغییر در میزان آنزیم‌های کاتالاز، پروکسیداز و آسکوربات پروکسیداز شد. با افزایش شدت زوال مصنوعی تا سه روز فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و تا دو روز فعالیت آنزیم‌های پروکسیداز و آسکوربات پروکسیداز افزایش یافته و از آن به بعد روند فعالیت آن‌ها کاهشی بود. شدت‌های پایین زوال مصنوعی نسبت به شدت‌های بالاتر خسارت کم‌تری را به سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی وارد نمود ولی با افزایش شدت زوال مصنوعی تا ۵ روز تجمع گونه‌های فعال اکسیژن بر این سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی غلبه نمود. در این شرایط خسارت به بذرها افزایش یافت که در نهایت منجر به کاهش قوه نامیه بذرها و کاهش درصد جوانه‌زنی آن‌ها شد.

**واژه‌های کلیدی:** آنتی‌اکسیدانت، پرولین، جو، کاتالاز، مالون‌دی‌آلدئید، هدایت الکتریکی

۱- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد، بروجرد، ایران

\* نویسنده مسئول: shaabanm14125@gmail.com

## مقدمه

جو گیاهی است با سازگاری وسیع و توقع بسیار کم و نسبت به شرایط بسیار سخت محیطی مقاوم می‌باشد. جو یکی از قدیمی‌ترین گیاهان زراعی بوده و محققان مبدأ این گیاه را آفریقا و عده‌ای نیز آسیا معرفی نموده‌اند. مهم‌ترین کشورهای تولید کننده جو در جهان روسیه (۲۳/۱ میلیون تن)، اوکراین (۱۲/۲ میلیون تن)، آلمان (۱۲ میلیون تن)، کانادا (۱۱/۸ میلیون تن)، اسپانیا (۸ میلیون تن)، بریتانیا (۶ میلیون تن) و ترکیه (۹ میلیون تن) می‌باشد. سطح زیر کشت جو در جهان در سال ۲۰۰۹، ۵۴۱۲۹ هزار هکتار بوده و مقدار تولید جهانی نیز ۱۵۰۲۷۱ هزار تن بوده است (Newman and Newman, 2006). در ایران نیز سطح زیر کشت جو ۱۶۷۵ هزار هکتار با تولید سالانه ۳۴۴۶ هزار تن می‌باشد. با توجه به محدود بودن زمین‌های کشاورزی ایران و نیاز جو برای علوفه دام افزایش عملکرد این گیاه در واحد سطح امری اجتناب ناپذیر می‌باشد. یکی از عواملی که باعث افزایش عملکرد این گیاه می‌شود استفاده از بذور مناسب می‌باشد (Emam, 2008). کیفیت بالاتر بذرها سبب جوانه‌زنی بهتر و تحمل بالاتر آن‌ها در مواجهه با تنش‌های محیطی شده، درصد ظهور گیاهچه و سرعت جوانه‌زنی را افزایش داده و در نهایت گیاهچه‌های نیرومندتری نیز تولید می‌نمایند (Akhter, 1992).

زوال بذر بستگی به دمای محیط، محتوای رطوبت بذر و طول مدت انبارداری داشته و افزایش در میزان دمای انبار و همچنین رطوبت نسبی محیط سبب کاهش قابلیت حیات (قوه نامیه) بذرها می‌گردد (Spanò *et al.*, 2004). بنابراین دمای انبارداری و رطوبت نسبی طی انبارداری از مهم‌ترین عوامل اثرگذار بر طول عمر بذرها می‌باشد (Lehner *et al.*, 2008). آزمون پیری تسریع شده بذر تحت شرایط دما و رطوبت نسبی بالا منجر به تسریع کاهش قدرت نامیه بذر شده و برآوردی از توانایی حفظ قدرت جوانه‌زنی طی دوره انبارداری را به ما ارائه می‌دهد (Tina *et al.*, 2008). زوال بذر سبب تخریب پروتئین‌های غشای سلولی می‌شود که در نتیجه‌ی آن نشت الکترولیت‌ها به بیرون از سلول افزایش می‌یابد. هرچه میزان نشت پذیر سلولی بیشتر باشد درصد جوانه‌زنی بذر نیز بیشتر کاهش خواهد یافت (Roosrokh and Gasemigolezani, 1999). تغییرات پراکسیداتیو در

ترکیب اسیدهای چرب غشاها سبب تغییر در کارکرد غشاها سلولی می‌شود که این موضوع به نوبه‌ی خود سبب کاهش گرانروی (ویسکوزیته) و افزایش نشت پذیری غشاها شده و در نهایت افزایش نشت الکترولیت‌ها و افزایش میزان هدایت الکتریکی محلول دربرگیرنده بذر را در پی خواهد داشت (Priestley, 1986). طی انبارداری بذر میزان رطوبت نسبی محیط اثر زیادی بر سرعت واکنش‌های دخیل در زوال بذر می‌گذارد. تحت این شرایط تغییرات فیزیکی و شیمیایی در پوسته بذر ایجاد شده و نفوذپذیری پوسته بذر نسبت به آب و گازها را افزایش می‌دهد (Qaderi *et al.*, 2003). در چنین شرایطی میزان نشت الکترولیت‌هایی مانند یون‌های آلی و غیر آلی، قندها، آمینواسیدها و حتی پروتئین‌ها به بیرون از سلول افزایش پیدا می‌کند (Govender *et al.*, 2008). زوال بذر در انبار کردن طولانی مدت و همچنین تحت شرایط بالا بودن رطوبت نسبی و دمای محیط شدیدتر خواهد بود. در این شرایط تغییراتی در متابولیسم سلولی و خصوصیات بیوشیمیایی بذرها از قبیل پراکسیداسیون لیپیدی، غیرفعال شدن آنزیمی، خسارت به DNA و اختلال در نفوذپذیری غشاء رخ می‌دهد (Hu *et al.*, 2012). اثرات کلی پراکسیداسیون لیپید شامل کاهش سیالیت غشاء، آسیب به پروتئین‌های غشاء و در نهایت غیرفعال شدن گیرنده‌ها، آنزیم‌ها و کانال‌های یونی می‌باشد (Gill and Tuteja, 2010). اگر چه مکانیسم دقیق زوال بذر هنوز مشخص نشده است ولی تجمع برخی گونه‌های فعال اکسیژن<sup>۱</sup> از قبیل رادیکال‌های سوپراکسید و پراکسید هیدروژن از دلایل عمده دخیل در زوال بذر می‌باشند (Lehner *et al.*, 2008). جوانه‌زنی بذرها زمانی تکمیل می‌گردد که تولید گونه‌های فعال اکسیژن در زیر حد آستانه و در محدوده پنجره اکسیداتیو باشد (Bailly *et al.*, 2008).

گیاه برای مقابله و کاهش خسارات ناشی از افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن دارای سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی است که پالایش گونه‌های فعال اکسیژن را بر عهده دارند. سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاهان شامل آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی از قبیل پرولین، آسکوربیک اسید، آلفا توکوفرول و برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت

<sup>۱</sup> Reactive Oxygen Species

رطوبت نسبی داخل ظرف‌های پلاستیکی ۱۰۰ درصد بود. از بذور زوال نیافته نیز به‌عنوان شاهد استفاده گردید. پس از اجرای زوال مصنوعی و به‌منظور انجام آزمون جوانه‌زنی ۲۵ بذر جو از هر واحد آزمایشی به تصادف انتخاب شده و بین دو عدد کاغذ صافی و درون پتری ۹ سانتی‌متری به مدت ۷ روز در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند (ISTA, 2012). معیار جوانه‌زنی نیز خروج ریشه به میزان حداقل ۲ میلی‌متر در نظر گرفته شد (Soltani *et al.*, 2006).

برای انجام آزمون هدایت الکتریکی ۵۰ عدد بذر جو از هر واحد آزمایشی به تصادف انتخاب شده و پس از توزین در بشرهای ۵۰۰ میلی‌لیتری قرار داده شدند. سپس ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن‌ها اضافه شد (به‌منظور هم‌دمایی آب مقطر ۲۴ ساعت قبل در انکوباتور ۲۰ درجه قرار داده شده بود). بشرها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بعد از این مدت هدایت الکتریکی نمونه‌ها اندازه‌گیری و نتایج به‌صورت میکروزیمنس بر سانتی‌متر بر گرم محاسبه شد (Hampton and TeKrony, 1995).

اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپید با تغییراتی در روش Heath و Packer انجام شد (Heath and Packer, 1968). در این روش میزان پراکسیداسیون لیپید براساس مقدار مالون‌دی‌آلدهید (MDA) موجود در هر عصاره طبق رابطه زیر محاسبه گردید:

$$LP = \left[ \frac{(A532 - A600) - [(A440)(MA)]}{155000} \right] \times 106$$

که در این رابطه LP مقدار مالون‌دی‌آلدهید بر حسب نانومول بر میلی‌لیتر و MA نسبت جذب مولی ساکارز در ۵۳۲ و ۴۴۰ نانومتر بوده که نسبتی معادل ۰/۰۵۷۱ می‌باشد و A532، A440 و A600 به ترتیب جذب نوری نمونه در طول موج‌های ۵۳۲، ۴۴۰ و ۶۰۰ نانومتر می‌باشد (Du and Bramlage, 1992). در نهایت میزان پراکسیداسیون لیپید بر اساس نانومول مالون‌دی‌آلدهید موجود با ازای هر گرم بافت بذری بیان گردید.

برای اندازه‌گیری پراکسید هیدروژن ۰/۵ گرم بافت بذری همراه با ۳ میلی‌لیتر اسید تری‌کلرواستیک ۰/۱ درصد در هاون چینی بر روی یخ هموزنیزه شد و پس از انتقال به میکروتیوب به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۵۰۰۰ دور و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد و عصاره

شامل کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و گلوکاتایون ردوکتاز است که وظیفه پالایش گونه‌های فعال اکسیژن را در شرایط مختلف بر عهده دارند (Moller *et al.*, 2007).

عدم توانایی بذرهای زوال یافته در تولید برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت ضروری از پیامدهای آنزیم سازی ناقص و ناکارا در این بذرها می‌باشد (Tavakolafshari *et al.*, 2007). گزارش شده که زوال شدید سبب کاهش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز می‌شود (Goel *et al.*, 2003). (Lehner *et al.*, 2008). کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمارهای زوال شدید بذر سبب تجمع پراکسید هیدروژن شده و همین امر به واسطه تشکیل رادیکال‌های هیدروکسیل به بذر آسیب رسانده و سبب عدم جوانه‌زنی مناسب آن می‌شود (Goel *et al.*, 2003). در تحقیقی که روی بذرهای زوال یافته سویا انجام شد این نتیجه حاصل شد که زوال بذرها سبب کاهش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت از قبیل پروکسیداز و آسکوربات پروکسیداز می‌شود (Sungand Chiu, 1995). در تحقیقی دیگر نیز پژوهشگران بیان نمودند که محتوای رطوبتی بذر و همچنین طول مدت انبارداری بذور به مدت ۶ و ۱۲ ماه بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت اثر دارد (Kong *et al.*, 2015). هدف از اجرای این پژوهش بررسی تغییر در متابولیسم آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی و غیر آنزیمی طی زوال بذرهای جو رقم والفجر می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه به‌منظور بررسی اثر زوال مصنوعی بر تغییرات آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی و غیر آنزیمی و تغییر در برخی صفات بیوشیمیایی بذرهای حاصل از برداشت بذرهای گواهی‌شده جو رقم والفجر در سال ۱۳۹۴ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد اجرا گردید. چهار تکرار ۱۰۰ تایی از بذور تازه برداشت شده جو در قالب طرح کاملاً تصادفی در داخل ظرف‌های پلاستیکی به ابعاد ۱۴×۹×۴ سانتی‌متر که حاوی ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر بود، قرار داده شدند. سپس در ظرف‌ها کاملاً بسته شده و در دمای ثابت ۴۳ درجه سانتی‌گراد به مدت یک، دو، سه، چهار و پنج روز در داخل انکوباتور قرار داده شدند. در طول آزمایش

میکروتیوب ریخته و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شده و تغییرات جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت دو دقیقه اندازه‌گیری و از یک دقیقه اول آن برای محاسبه فعالیت کاتالاز استفاده گردید (Luck, 1962).

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز ۲ گرم از بافت بذری با ۴ میلی‌لیتر بافر استخراج در هاون چینی بر روی یخ ساییده شده و پس از عبور از دو لایه پارچه ممل در میکروتیوب ریخته و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شده و تغییرات جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ۴ دقیقه اندازه‌گیری و از یک دقیقه اول آن برای محاسبه فعالیت پراکسیداز استفاده گردید (Resenda et al., 2002).

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ۰/۵ گرم از بافت بذری با ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج در هاون چینی بر روی یخ ساییده شده و پس از عبور از دو لایه پارچه ممل در میکروتیوب ریخته و به مدت ۳۰ دقیقه (دو زمان ۱۵ دقیقه‌ای) در ۱۵۰۰۰ دور و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شده و تغییرات جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت ۳ دقیقه اندازه‌گیری و از یک دقیقه اول آن برای محاسبه فعالیت آسکوربات پراکسیداز استفاده گردید (Resenda et al., 2002).

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD<sup>۱</sup>) حفاظت شده در سطح ۵ درصد با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد.

### نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر زوال بر همه صفات اندازه‌گیری شده از قبیل درصد جوانه‌زنی بذور، هدایت الکتریکی، قندهای محلول، پروتئین محلول، پرولین، اسید آسکوربیک، آنزیم کاتالاز، پروکسیداز و آسکوربات پروکسیداز معنی‌دار بود (جدول ۱).

مقایسات میانگین نشان داد در شرایط زوال مصنوعی با افزایش تعداد روزهای زوال درصد جوانه‌زنی بذرها به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد به‌طوری‌که بیش‌ترین مقدار جوانه‌زنی در تیمار شاهد به میزان ۹۶ درصد و کم‌ترین مقدار جوانه‌زنی به میزان ۷ درصد در تیمار پنج روز زوال

حاصله با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۹۰ نانومتر قرائت شد (Ghiazdowska et al., 2010). برای اندازه‌گیری قند کل از روش McCready و همکاران استفاده شد (McCready et al., 1950). برای این کار ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره الکلی تغلیظ شده در مرحله‌ی استخراج قند محلول و ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر با ۳ میلی‌لیتر معرف آنترون مخلوط و به مدت ۲۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. میزان جذب نور هر یک از تیمارها پس از سرد شدن در طول موج ۶۲۰ نانومتر قرائت شد و از طریق مقایسه با نمودار استاندارد گلوکز میزان قند محلول اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری پروتئین محلول، پس از استخراج آن با استفاده از بافر استخراج، ۱۰ میکرولیتر از عصاره پروتئینی به لوله‌های آزمایش منتقل و به آن ۹۰ میکرولیتر آب مقطر اضافه شد. به محلول حاصل ۵ میلی‌لیتر معرف برادفورد اضافه و به مدت ۲ دقیقه ورتکس شد. بعد از ۲۰ دقیقه، میزان جذب نور در طول موج ۵۹۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. از طریق مقایسه با نمودار استاندارد میزان پروتئین ترسیم شد و سپس با استفاده از سرم آلبومین گاوی میزان پروتئین محلول در هر یک از تیمارها تعیین گردید (Bradford, 1976).

برای اندازه‌گیری محتوای پرولین مقدار ۰/۵ گرم از نمونه‌ی بذری را توزین و پودر نموده و سپس آن‌ها را به لوله‌های آزمایش ۱۵ میلی‌لیتری منتقل کرده و ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳/۳ درصد به آن‌ها اضافه شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور سانتریفیوژ و از محلول‌های حاصل جهت اندازه‌گیری میزان پرولین به روش (Bates et al., 1973) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر استفاده شد.

برای اندازه‌گیری اسید آسکوربیک ۰/۵ گرم بافت بذری ۴ میلی‌لیتر اسید پرکلریک ۰/۵ میلی‌مولار در هاون چینی بر روی یخ ساییده شده و سپس در میکروتیوب ریخته و به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شده و جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۷۳۵ نانومتر انجام شد (Zhang et al., 2010).

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز یک گرم از بافت بذری با ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج در هاون چینی بر روی یخ ساییده شده و پس از عبور از دو لایه پارچه ممل در

<sup>۱</sup> Least Significant Difference (LSD)

مشاهده شد (شکل ۱). با توجه به افت درصد جوانه‌زنی در بذور جو مشاهده شد که در تیمار سه روز زوال درصد جوانه‌زنی بذور نسبت به شاهد حدود ۲۰ درصد کاهش یافته و در تیمار چهار روز زوال نیز افت جوانه‌زنی بذور به کمتر از ۵۰ درصد رسید. درصد جوانه‌زنی در شدت‌های بالاتر زوال تسریع شده نسبت به تیمار شاهد و شدت‌های کمتر زوال تسریع شده کاهش بیشتری را نشان داد و مشاهده گردید که با افزایش مدت زمان نگهداری بذور در شرایط با دمای ۴۳ درجه‌سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۱۰۰ درصد آسیب به قوه نامیه بذور افزایش یافته و از درصد جوانه‌زنی آن‌ها کاسته شده است (شکل ۱). گزارش شده است که افزایش دما و رطوبت نسبی محیط نگهداری بذر سبب تسریع زوال بذر می‌گردد (Nkang and Umoh, 1997). شدت زوال مصنوعی سبب کاهش کیفیت و در نهایت سبب کاهش حداکثر میزان جوانه‌زنی بذرهای نخود شد و این افت کیفیت در شدت‌های زوال چهار و پنج روزه بیش‌تر بود. پژوهش‌های صورت گرفته نشان داده است که در شرایط زوال مصنوعی، جوانه‌زنی بذر با وقفه‌ای شروع می‌شود که این وقفه در شدت‌های بالاتر زوال مصنوعی مدت زمان بیش‌تری به طول می‌انجامد. علت چنین وقفه‌ای این است که بذر برای بازسازی خسارت‌های وارد شده به غشاء و دیگر قسمت‌های سلولی و آغاز مجدد فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و مهار تنش اکسیداتیو به زمان نیاز داشته به‌طوری‌که تعمیر این خسارت‌ها فقط پس از جذب آب توسط بذر امکان پذیر می‌باشد (Zamani et al., 2010). با افزایش طول دوره زوال مصنوعی میزان هدایت الکتریکی محلول حاوی بذور به‌طور معنی‌داری افزایش یافته که به دلیل خسارت زوال بر غشاهای سلولی و افزایش نشت الکترولیت‌ها به بیرون از سلول می‌باشد (شکل ۲). بیش‌ترین هدایت الکتریکی بذور به میزان ۸۲ دسی‌زیمنس بر متر در تیمار زوال پنج روز و کم‌ترین آن نیز به میزان ۳۲ دسی‌زیمنس بر متر در تیمار شاهد حاصل شد که حدود ۳۰ درصد تیمار زوال ۵ روز بود. اگر چه در شدت‌های پایین زوال مصنوعی میزان افزایش هدایت الکتریکی بذور کم بود ولی در دوره‌های طولانی‌تر بالاتر میزان نشت الکترولیت‌ها افزایش بیش‌تری را نشان داد (شکل ۲). شرایط نامساعد نگهداری بذور سبب تغییرات فیزیکی و شیمیایی در پوشش‌های بذر می‌گردد

(Morrison et al., 1992). گزارش شده است که افزایش هدایت الکتریکی در اثر زوال بذر به دلیل افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و تغییر کارکرد میتوکندری‌هاست که کاهش میزان انرژی تولیدی را در پی خواهد داشت. این موضوع در نهایت سبب کاهش میزان جوانه‌زنی می‌گردد (McDonald, 1999). گزارش شده است در شدت‌های چهار و پنج روزه زوال مصنوعی مکانیسم‌های ترمیمی بذر فعال نبوده و غشاهای توانایی خود را در نگهداری منابع ذخیره‌ای از دست داده‌اند، در چنین شرایطی میزان نشت الکترولیت‌ها بیش‌تر افزایش می‌یابد (Fessel et al., 2006).

تولید مالون‌دی‌آلدئید که نشانه وقوع پراکسیداسیون لیپید در بذور جو است در تیمارهای زوال مصنوعی با افزایش طول دوره زوال روند افزایشی داشت. بیش‌ترین تولید مالون‌دی‌آلدئید در تیمار زوال مصنوعی ۵ روز به میزان ۱۰۵ نانومول بر گرم بود. در تیمار شاهد نیز تولید مالون‌دی‌آلدئید حدود ۳۹ نانومول بر گرم وزن تازه بذر بود که حدود ۶۰ درصد کم‌تر از تیمار زوال ۵ روز بود (شکل ۳). بالا بودن تولید مالون‌دی‌آلدئید در زوال ۵ روز نشان می‌دهد که رطوبت نسبی محیط انبار بذر و محیط به همراه دمای محیط اثر زیادی بر پراکسیداسیون لیپید دارد. سایر محققین نیز به نتایج مشابهی دست یافتند (Zhang et al., 2010). طی پژوهش‌های صورت گرفته توسط Goel و Sheoran عنوان شده است که افزایش تولید مالون‌دی‌آلدئید همراه با نشت الکترولیت‌ها بخش قابل توجهی از کاهش قابلیت جوانه‌زنی بذر و کاهش رشد گیاهچه را توجیه می‌نماید (Goel and Sheoran, 2003). افزایش میزان تولید مالون‌دی‌آلدئید ناشی از افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن در بذر است که می‌تواند ناشی از ضعف سیستم آنتی‌اکسیدانی باشد (Bailly, 2004). نتایج نشان داد تولید پراکسید هیدروژن با افزایش زوال مصنوعی افزایش یافت. بیش‌ترین میزان تولید پراکسید هیدروژن مربوط به تیمار زوال مصنوعی ۵ روز به میزان ۲۶۱ نانومول بر گرم بود و کم‌ترین میزان تولید پراکسید هیدروژن در تیمار شاهد به میزان ۱۰۰ نانومول بر گرم به دست آمد. بین زوال دو و سه روز و همچنین چهار و پنج روز از نظر این صفت اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ولی با این حال تولید پراکسید

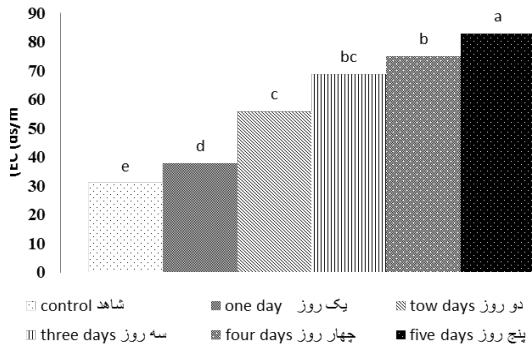
جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر زوال بر فعالیت آنٹی اکسیدانت‌ها و صفات بیوشیمیایی بذور جو

Table 1. Analysis of variance (mean square) of effect of ageing on antioxidant activity and biochemical characteristics of barley seeds

| منابع تغییرات<br>S.O.V | درجه<br>آزادی<br>(df) | درصد جوانه‌زنی<br>Germination<br>percentage | هدایت الکتریکی<br>EC | هدایت دی<br>MDA | هیدروژن<br>H2O2 | قند محلول<br>Soluble<br>sugar | پروتئین محلول<br>Soluble<br>protein | پروлін<br>Proline | اسکوربیک اسید<br>Ascorbic acid | کاتالاز<br>Catalas | پراکسیداز<br>Peroxidase | اسکوربات پراکسیداز<br>Ascorbat<br>peroxidase |
|------------------------|-----------------------|---|----------------------|-----------------|-----------------|-------------------------------|-------------------------------------|-------------------|--------------------------------|--------------------|-------------------------|--|
| زوال<br>Ageing         | 5                     | 3239**                                      | 699**                | 36**            | 22413           | 538**                         | 39.5**                              | 3332**            | 2.06**                         | 892659**           | 14548**                 | 173**  |
| خطا<br>Error           | 15                    | 10.22                                       | 10                   | 27              | 225             | 25                            | 0.69                                | 63                | 0.08                           | 344194             | 5452                    | 94   |
| ضرب تغییرات<br>CV(%)   |                       | 5.4   | 8                    | 12.5            | 9               | 8.7                           | 4.33                                | 12                | 10                             | 14                 | 12                      | 14   |

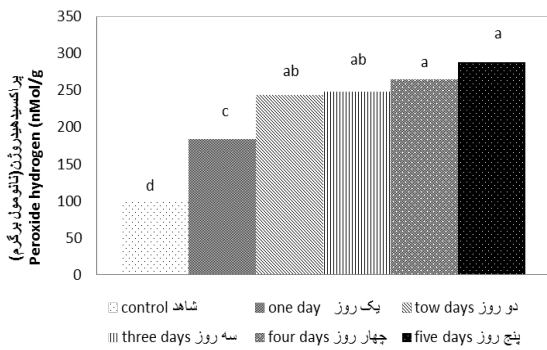
\*and\*\* significant at 5 and 1% respectively

\*\*\*به ترتیب معنی دار در سطح پنج و یک درصد



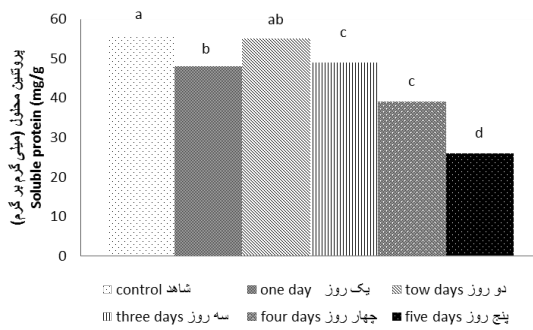
شکل ۲- اثر زوال مصنوعی بر هدایت الکتریکی محلول در بر گیرنده بذور جو (LSD=5.5)

Figure 2. Effect of accelerated ageing on EC of barley seeds solution (LSD=5.5)



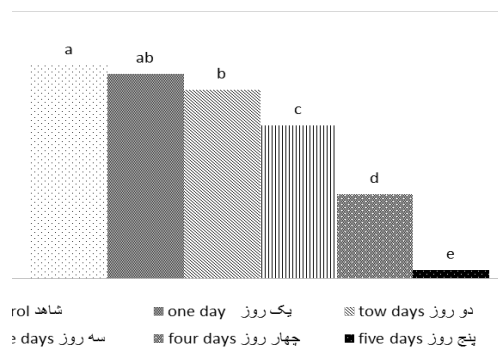
شکل ۴- اثر زوال مصنوعی بر میزان پراکسید هیدروژن در بذور جو (LSD=28.09)

Figure 4. Effect of accelerated ageing on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production of barley seeds (LSD=28.09)



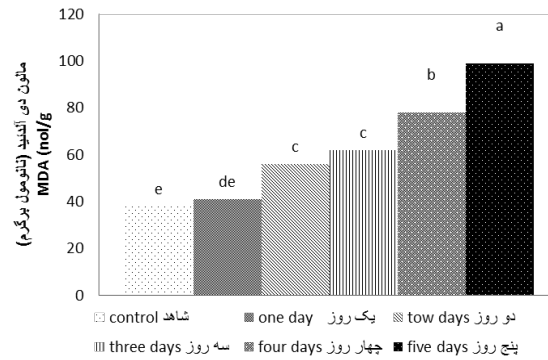
شکل ۶- اثر زوال مصنوعی بر میزان پروتئین محلول در بذور جو (LSD=1.21)

Figure 6. Effect of accelerated ageing on soluble protein of barley seeds (LSD=1.21)



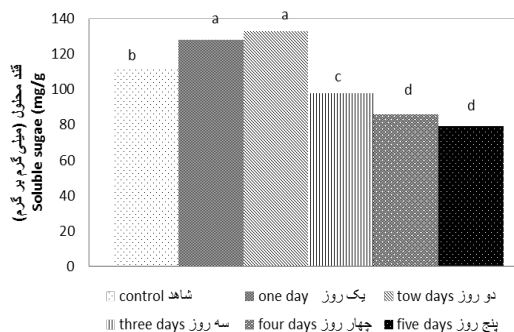
شکل ۱- اثر زوال مصنوعی بر درصد جوانه‌زنی بذور جو (LSD=4.76)

Figure 1. Effect of accelerated ageing on germination percentage of barley seeds (LSD=4.76)



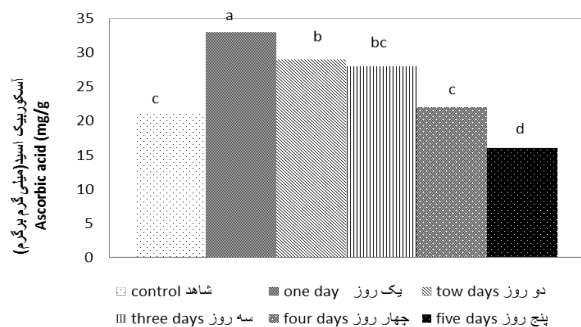
شکل ۳- اثر زوال مصنوعی بر میزان مالون دی آلدئید بذور جو (LSD=7.73)

Figure 3. Effect of accelerated ageing on MDA content of barley seeds (LSD=7.73)



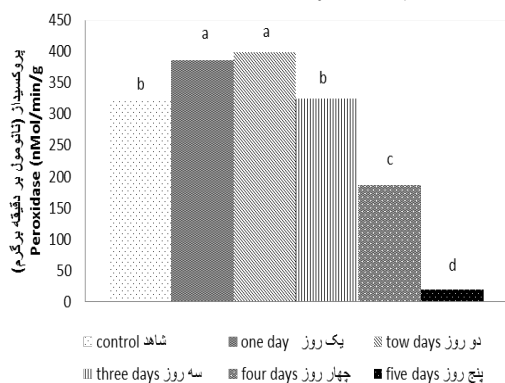
شکل ۵- اثر زوال مصنوعی بر میزان قندهای محلول در بذور جو (LSD=7.32)

Figure 5. Effect of accelerated ageing on soluble sugar of barley seeds (LSD=7.32)



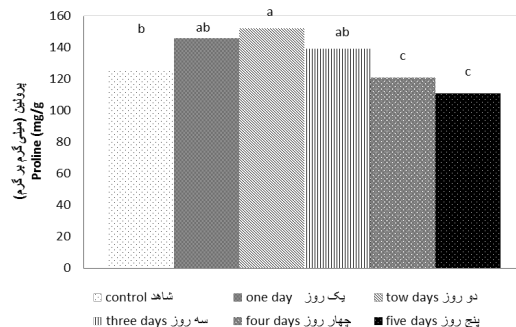
شکل ۸- اثر زوال مصنوعی بر میزان آسکوربیک اسید در بذر جو (LSD=0.42)

Figure 8. Effect of accelerated ageing on ascorbic acid amount of barley seeds (LSD=0.42)



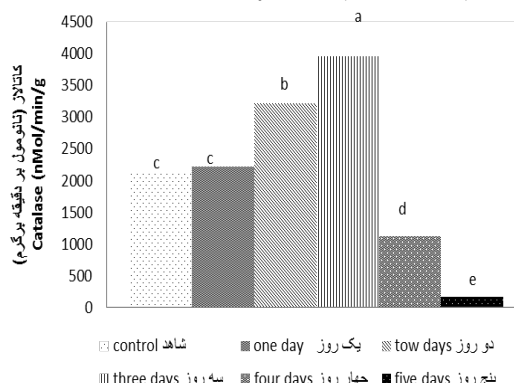
شکل ۱۰- اثر زوال مصنوعی بر میزان فعالیت آنزیم پروکسیداز بذر جو (LSD=107.77)

Figure 10. Effect of accelerated ageing on peroxidase activity of barley seeds (LSD=107.77)



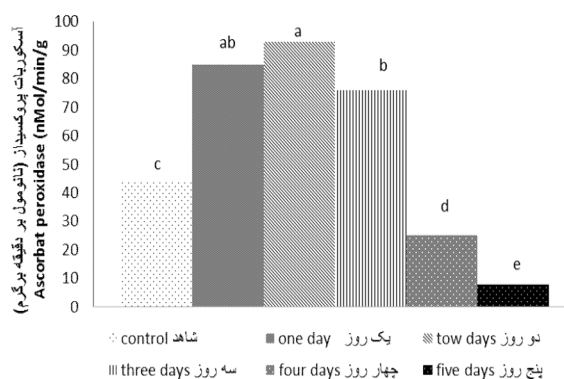
شکل ۷- اثر زوال مصنوعی بر محتوای پرولین در بذر جو (LSD=11.63)

Figure 7. Effect of accelerated ageing on proline content of barley seeds (LSD=11.63)



شکل ۹- اثر زوال مصنوعی بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در بذر جو (LSD=856.2)

Figure 9. Effect of accelerated ageing on catalase activity of barley seeds (LSD=856.2)



شکل ۱۱- اثر زوال مصنوعی بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پروکسیداز در بذر جو (LSD=14.16)

Figure 11. Effect of accelerated ageing on ascorbat peroxidase activity of barley seeds (LSD=14.16)



پژوهش مشاهده شد که بالاترین میزان تولید پروتئین محلول در تیمار شاهد و تیمار زوال دو روزه و ترتیب به میزان ۵۷ و ۵۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ بود. بنابراین در بین تیمارهای زوال مصنوعی بالاترین میزان پروتئین محلول به میزان ۵۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه بذر در تیمار دو روز زوال و کم‌ترین میزان آن نیز به مقدار ۲۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه بذر در تیمار پنج روز زوال حاصل شد که نسبت به تیمار دو روز زوال حدود ۵۰ درصد کاهش داشت (شکل ۶). پروتئین محلول تا دو روز زوال افزایش داشته و از آن به بعد روند تولید آن با افزایش تعداد روزهای قرارگیری بذور جو در شرایط رطوبت نسبی ۱۰۰ درصد در دمای ۴۳ درجه سانتی‌گراد کاهشی بود. تولید پروتئین محلول در بذور شاهد بالاتر از همه تیمارهای زوال بود ولی تولید قند محلول در تیمار دو روز بالاتر بود. اضافه شدن قندهای محلول از نوع احیایی طی زوال به پروتئین‌ها به صورت غیر آنزیمی صورت گرفته که به واکنش مایلارد معروف بوده و سبب غیر فعال شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در شرایط زوال بذر می‌گردد (Murthy et al., 2003).

پروکلین یکی از آنتی‌اکسیدانت‌های غیر آنزیمی است که در شرایط وقوع تنش‌های مختلف تولید آن در بافت‌های گیاهی افزایش می‌یابد. در این تحقیق مشاهده شد که در تیمارهای یک روزه و دو روزه‌ی زوال میزان تولید پروکلین بیش‌تر از تیمار شاهد بود. با افزایش شدت زوال از یک روز به دو روز میزان تولید پروکلین روند افزایشی داشته و از آن به بعد نیز روند تولید پروکلین کاهشی بود. بیش‌ترین میزان تولید پروکلین به میزان ۱۵۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه بذر در تیمار دو روز زوال و کم‌ترین میزان آن نیز در تیمار پنج روز زوال و به میزان ۱۱۷ میلی‌گرم بر گرم حاصل شد (شکل ۷). متابولیت‌های آنتی‌اکسیدانی طی زوال بذر تجمع یافته و سبب حذف گونه‌های فعال اکسیژن می‌گردند. نقش این متابولیت‌های آنتی‌اکسیدانت در بذور خشک مشهودتر است (Bailly, 2004). پروکلین نیز یکی از این متابولیت‌هاست که در این مطالعه میزان تولید آن در زوال‌های شدیدتر مصنوعی افزایش یافت. در این زمینه Kong و همکاران گزارش نمودند که در اثر وقوع تنش در گیاهان تولید برخی متابولیت‌های با وزن مولکولی کم که نقش اسمولیتی حفاظتی بر عهده دارند از قبیل پروکلین

هیدروژن در تیمارهای چهار و پنج روز بیش‌تر از تیمارهای دو و سه روز بود (شکل ۴). مشخص شده است که قابلیت جوانه‌زنی بذور با تجمع گونه‌های فعال اکسیژن کاهش پیدا می‌کند (Wojtyla et al., 2006). افزایش طول مدت زوال مصنوعی که سبب کاهش قابلیت جوانه‌زنی بذور شد با افزایش تولید پراکسید هیدروژن همراه بود. نتایج نشان داد با افزایش مدت زمان قرارگیری بذرها در شرایط زوال مصنوعی میزان تولید پراکسید هیدروژن افزایش می‌یابد. افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن طی تنش اکسیداتیو سبب تسریع در زوال بذر می‌گردد (McDonald, 1999).

نتایج نشان داد قند محلول در بذور جو در تیمار یک و دو روز زوال نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت به طوری که بیش‌ترین میزان قند محلول در تیمار دو روز زوال و به-میزان ۱۳۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه بذر حاصل شد. در تیمار شاهد نیز میزان تولید قندهای محلول ۱۱۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه بذر بود. در بذوری که به مدت بیش از دو روز تحت تیمار زوال بذر قرار گرفته بودند با افزایش طول دوره زوال میزان تولید قندهای محلول روند کاهشی داشت به طوری که کم‌ترین میزان تولید قندهای محلول به مقدار ۸۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه بذر در تیمار پنج روز زوال مصنوعی مشاهده شد که تولید قندهای محلول در این تیمار حدود ۴۰ درصد کم‌تر از تیمار زوال دو روز بود (شکل ۵). قند محلول تا سه روز زوال افزایش داشته و از آن به بعد روند تولید آن با افزایش تعداد روزهای قرارگیری بذور جو در شرایط رطوبت نسبی ۱۰۰ درصد در دمای ۴۳ درجه سانتی‌گراد کاهشی بود. میزان قندهای محلول طی انبارداری بذر ماش افزایش یافته است (Narayana and Wendell, 2000). این پژوهشگران هم‌چنین ذکر نمودند که افزایش هیدرولیز قندها طی انبارداری طبیعی و تبدیل آن‌ها به قندهای احیایی از قبیل گلوکز، فروکتوز و گالاکتوز دلیل اصلی وقوع واکنش‌های آمادوری و مایلارد بوده که در نهایت منجر به زوال بذر می‌گردد. هم‌چنین (Sun and Leopold, 1995) در تحقیق خود روی بذور سویا بیان نمودند که طی انبارداری بذور سویا قندهای احیایی ناشی از هیدرولیز رافینوز و استاچیوز افزایش یافته و به دنبال آن واکنش آمادوری و مایلارد نیز رخ داده است. در این

بودند (شکل ۹). بیشترین میزان فعالیت آنزیم پروکسیداز (به میزان ۳۹۸ نانومول بر دقیقه بر گرم) در بذوری دیده شد که به مدت دو روز تحت زوال قرار گرفته بودند و پس از آن تیمار یک روزه‌ی زوال دارای بالاترین میزان فعالیت این آنزیم به میزان ۳۸۰ نانومول بر دقیقه بر گرم بود. کمترین میزان فعالیت آنزیم پروکسیداز نیز مربوط به تیمار زوال ۵ روزه به میزان ۱۵ نانومول بر دقیقه بر گرم بود. بنابراین روند فعالیت آنزیم پروکسیداز از یک تا دو روز زوال به صورت افزایشی بوده و از آن به بعد تا پنج روز زوال روند کاهشی داشت. به هر حال میزان فعالیت آنزیم پروکسیداز در تیمار شاهد از تیمارهای زوال ۴ و ۵ روز بالاتر بود (شکل ۱۰). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پروکسیداز در تیمار دو روز زوال و به میزان ۹۳ نانومول بر دقیقه بر گرم بود. در این تیمار میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پروکسیداز تقریباً دو برابر تیمار شاهد بود. پس از تیمار دو روز زوال با افزایش تعداد روزهای زوال تا ۵ روز نیز میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پروکسیداز کاهش یافت به طوری که میزان فعالیت این آنزیم در تیمارهای چهار و پنج روز زوال کمتر از تیمار شاهد بود (شکل ۱۱). در نمونه‌های زوال مصنوعی، طی زوال بذر رطوبت آن‌ها در شرایط رطوبت نسبی ۱۰۰ درصد محیط افزایش می‌یابد که افزایش محتوای رطوبتی بذر سبب افزایش اکسیداسیون آنزیمی در این بذور شده و سبب تسریع خسارات سلولی شده است. این وقایع منجر به کاهش قابلیت حیات بذر می‌گردد (Gill and Tuteja, 2010). نتایج این آزمایش مشخص نمود که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت وابسته به محتوای رطوبتی بذر و همچنین طول زوال بذور می‌باشد. با شروع زوال مصنوعی در بذور میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پروکسیداز نیز شروع به افزایش نمود به طوری که میزان فعالیت آن‌ها از تیمار شاهد بیشتر شد. این درحالی است که فعالیت همه آنزیم‌ها در تیمار شاهد بیشتر از تیمار چهار و پنج روز زوال تسریع شده بود. افزایش در میزان پراکسید هیدروژن در نتیجه‌ی افزایش پراکسیداسیون لیپید و همچنین افزایش هدایت الکتریکی با افزایش شدت زوال مصنوعی افزایش یافت. این درحالی بود که میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت مورد نظر در این آزمایش نیز با افزایش شدت زوال تا حدی افزایش یافت و از آن به بعد کاهش

افزایش می‌یابد (Kong et al., 2015). همچنین (Kishor and Dange, 1990) در تحقیق خود عنوان نمودند که پرولین از عملکرد طبیعی سلولی با استفاده از سم‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن محافظت می‌نماید. افزایش شدت زوال بذر همگام با افزایش محتوای رطوبتی بذور سبب افزایش محتوای پرولین در بذور زوال یافته می‌گردد (Kong et al., 2015). اسید آسکوربیک یکی از آنتی‌اکسیدانت‌های غیر آنزیمی می‌باشد که تولید آن در تیمار زوال یک تا چهار روز نسبت به شاهد افزایش یافت ولی در تیمار پنج روزه‌ی زوال میزان تولید آن کمتر از تیمار شاهد بود. اختلاف بین تیمار شاهد و تیمار چهار روز زوال نیز معنی‌دار نبود. در تیمارهای زوال نیز بالاترین میزان تولید آسکوربیک اسید در تیمار یک روز زوال حاصل شد و با افزایش طول دوره زوال میزان تولید آسکوربیک اسید روند کاهشی داشت. بنابراین زوال سبب افزایش تولید آسکوربیک اسید شد ولی در طی دوره‌های طولانی‌تر زوال از تولید این آنتی‌اکسیدانت کاسته است (شکل ۸). با افزایش طول مدت زوال تا یک روز میزان تولید آسکوربیک اسید افزایش و از آن به بعد کاهش یافت. در تیمارهای یک تا چهار روز زوال تسریع شده با توجه به این که تولید آسکوربیک اسید روند کاهشی داشت ولی در این تیمارها میزان تولید آسکوربیک اسید بیشتر از تیمار شاهد بود. به هر حال گزارش شده که آنتی‌اکسیدانت‌های غیر آنزیمی سبب کاهش میزان گونه‌های فعال اکسیژن می‌شوند (Oliveira et al., 2012). این یافته‌ها نشان می‌دهد که در رطوبت‌های مختلف بذر اگر تولید یکی از این آنتی‌اکسیدانت‌ها کاهش یابد تولید دیگری افزایش یافته و کمبود آن را جبران می‌نماید.

فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار شاهد نسبت به تیمارهای زوال یک، دو و سه روزه‌ی بذر جو کمتر بود. بنابراین با افزایش طول دوره زوال از یک به سه روز میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در بذر جو افزایش و از آن به بعد با افزایش طول دوره زوال تا پنج روز روند فعالیت این آنزیم کاهشی بوده است. بنابراین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در بذوری که به مدت ۳ روز تحت زوال قرار گرفته بودند بیشترین مقدار و به میزان حدود ۴۰۰۰ نانومول بر دقیقه بر گرم بود. روند فعالیت این آنزیم در تیمارهای ۴ و ۵ روزه کاهشی بود به طوری که کمترین میزان فعالیت کاتالاز در بذوری دیده شد که تحت تیمار زوال ۵ روزه قرار گرفته

است و می‌توان گفت که فعالیت این آنزیم‌ها به همراه آنتی‌اکسیدانت‌های غیرآنزیمی وابسته به هم بوده و تکمیل کننده یکدیگر می‌باشد (Kong *et al.*, 2015).

### نتیجه‌گیری

استفاده از بذور با کیفیت در زراعت جو سبب جوانه‌زنی و استقرار مناسب گیاه شده و در نتیجه عملکرد گیاه زراعی افزایش خواهد یافت. نتایج این تحقیق نشان داد افزایش تعداد روزهای زوال سبب کاهش درصد جوانه‌زنی و افزایش پراکسیداسیون لیپید، تولید پراکسید هیدروژن و افزایش هدایت الکتریکی محلول در بر گیرنده بذرها می‌شود. دوره‌های کوتاه‌تر زوال تولید قندهای محلول و پروتئین محلول بیشتر از دوره‌های طولانی‌تر زوال بود. با افزایش شدت زوال مصنوعی تا سه روز فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پروکسیداز و آسکوربات پروکسیداز نیز در زوال‌های کم‌تر افزایش یافت ولی با ادامه شدت زوال میزان فعالیت آن‌ها کاهش یافت. نتایج نشان داد در شرایط زوال در بذور جو تا دو روز هر دو سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی فعال بوده و سبب حذف گونه‌های خسارت‌زا اکسیژن می‌شوند ولی از تیمار سه روز به بعد این سیستم‌ها به تدریج کارایی خود را از دست می‌دهند که در نهایت منجر به کاهش قوه نامیه بذور و عدم جوانه‌زنی مناسب در شرایط مساعد می‌گردد.

### تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر بخشی از نتایج طرح پژوهشی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد با کد ۹۳۱۸۵ بوده که بودجه آن از محل منابع دانشگاه مذکور تأمین شده است. از مسئولین دانشگاه به خاطر مساعدت در اجرای طرح و همچنین سرکار خانم دکتر معصومه زند، به خاطر راهنمایی‌های ارزنده ایشان و تمامی زحماتی که در این مسیر برای بنده کشیدند کمال تشکر و قدردانی را دارم. همچنین از استاد بزرگوام جناب آقای دکتر فرشید قادری‌فر دانشیار محترم دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان که تمامی مطالب و فنون فوق را در محضر ایشان فراگرفته‌ام کمال تشکر و قدردانی دارم.

یافت، به طوری که آنزیم کاتالاز در سه و دو آنزیم پروکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در دو روز زوال مصنوعی حداکثر فعالیت را دارا بودند و از آن به بعد به دلیل غلبه‌ی تولید گونه‌های فعال اکسیژن و عدم کارایی این آنزیم‌ها از فعالیت آن‌ها کاسته شد. در شرایط زوال تولید پرولین و آسکوربیک اسید یکی از مکانیسم‌های مقابله با تجمع گونه‌های فعال اکسیژن بوده که با افزایش محتوای رطوبتی بذر اثر آن بیش‌تر شده است و تولید آسکوربیک اسید در تیمارهای زوال به جز زوال پنج روز بیش‌تر از شاهد بوده است. به نظر می‌رسد افزایش در طول مدت زوال تا ۵ روز سبب تولید بیش‌تر پراکسید هیدروژن در بذرها می‌شود. بنابراین تحت چنین شرایطی اثر سیمت ناشی از پرکسید هیدروژن و سایر گونه‌های فعال سبب متأثر شدن فعالیت سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پروکسیداز و آسکوربات پروکسیداز شده است (Kong *et al.*, 2014). گزارش شده است که کاتالاز از مهم‌ترین آنزیم‌های آنتی-اکسیدانتی است که با افزایش فعالیت در طی زوال بذر می‌تواند خسارت‌های ناشی از زوال بذر را کاهش دهد. در صورت وجود زمان و شرایط مناسب برای وقوع مکانیسم‌های ترمیمی در بذور زوال یافته ممکن است این بذر توانایی ایجاد یک گیاهچه طبیعی را داشته باشد (Tavakolafshari *et al.*, 2007). این پژوهشگران بیان نمودند که با آنگیری بذور زوال یافته میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به طور چشمگیری افزایش یافت. آنزیم‌های آنتی-اکسیدانت از جمله مکانیسم‌هایی هستند که می‌توانند در پروسه ترمیمی بذور دخالت داشته و با تأثیر رویدادهای زوالگر در بذور مقابله نمایند (Tavakolafshari *et al.*, 2007). در شرایط زوال ۵ روزه میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت بسیار کم بود که نشانه عدم توانایی بذرها می‌باشد که ترمیم صحیح ساختارهای ضروری جهت ادامه جوانه‌زنی و رشد گیاهچه می‌باشد.

در شرایط زوال ۴ و ۵ روز از میزان تولید پرولین و آسکوربیک اسید نیز کاسته شد و این نتایج نشان داد که در شرایط زوال شدید هر دو سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی بر اثر تجمع گونه‌های فعال اکسیژن آسیب می‌بینند. به هر حال نتایج نشان داد روند فعالیت هر سه آنزیم با افزایش شدت زوال مصنوعی تقریباً مشابه

## منابع

- Akhter, F.N., Kabir, G., Mannan, M.A. and Shaheen, N.N. 1992. Aging effect of wheat and barley seeds upon germination mitotic index and chromosomal damage. *Journal of Islamic Academic of Science*, 5: 44-48. **(Journal)**
- Bailly, C. 2004. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. *Seed Science Research*, 14:93-107. **(Journal)**
- Bailly, C., El-Maarouf-Bouteau, H. and Corbineau, F. 2008. From intracellular signaling networks to cell death: the dual role of reactive oxygen species in seed physiology. *Comptes Rendus Biologies*, 331: 806-814. **(Journal)**
- Bates, L.S., Walden, R.P. and Teave, I.D. 1973. Rapid degermination of free praline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39:205-207. **(Journal)**
- Bradford, 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: 248-252. **(Journal)**
- Du, Z. and Bramlage, W.J. 1992. Modified thiobarbituric acid assay for measuring lipid oxidation in sugar-rich plant tissue extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40: 1566-1570. **(Journal)**
- Emam, Y. 2008. Cereal production. Shiraz University Press. 190 pp. **(Book)**
- Fessel, S.A., Vieira, R.D., Cruz, M.C.P., Paula, R.C. and Panobianco, M. 2006. Electrical conductivity testing of corn seeds as influenced by temperature and period of storage. *Pesqui Agropecu of Brasil*, 41:1551-1559. **(Journal)**
- Ghiazdowska, A., Krasuska, U. and Bogatek, R. 2010. Dormancy removal in apple embryos by nitric oxid or cyanide involves modifications in ethylene biosynthetic pathway. *Planta*, 232: 1397-1407. **(Journal)**
- Gill, S.S. and Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48: 909-930. **(Journal)**
- Goel, A. and Sheoran, I.S. 2003. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes in cotton seeds under natural ageing. *Biologia Plantarum*, 46: 429-434. **(Journal)**
- Goel, A., Coel, 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. **(Journal)**
- Govender, V., Aveling, T.A.S. and Kritzing, Q. 2008. The effect of traditional storage methods on germination and vigor of maize (*Zea mays* L.) from northern KwaZulu-Natal and southern Mozambique. *Southern African Journal of Botany*, 74:190-196. **(Journal)**
- Hampton, J.G. and Tekrony, D.M. 1995. Handbook of Vigor Test Methods. The International Seed Testing Association, Zurich 117 pp. **(Handbook)**
- Heath, R.L. and Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplast: kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Biochemistry and Biophysics*, 12: 189-198. **(Journal)**
- Hu, D., Ma, G., Wang, Q., Yao, J.H., Wang, Y. and Pritchard, H. 2012. Spatial and temporal nature of reactive oxygen species production and programmed cell death in elm (*Ulmus pumila* L.) seeds during controlled deterioration. *Plant Cell and Environment*, 35: 2045-2059. **(Journal)**
- ISTA. 2012. International Rules for Seed Testing. Bassersdorf: International Seed Testing Association. **(Handbook)**
- Kishor, P.B.K. and Dange, V. 1990. Sucrose metabolism in callus-cultures of cotton during growth. *Indian Journal of Experimental Botany*, 28: 352-355. **(Journal)**
- Kong, L., Huo, H. and Moa, P. 2015. Antioxidant response and related gene expression in aged oat seed. *Frontiers in Plant Science*, 6: 1-9. **(Journal)**
- Kong, Q., Mao, P.S., Yu, X.D. and Xia, F.S. 2014. Physiological changes in oat seeds aged at different moisture contents. *Seed Science and Technology*, 42: 190-201. **(Journal)**
- 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. **(Journal)**
- Luck, H. 1962. Methods of enzymatic analysis. E.B. By Bergmeyer (1th edition), Verlag chemie weinheim Pp:885-894. **(Book)**
- McCready, R.M., Guggolz, J., Silviera, V. and Owens, H.S. 1950. Determination of starch and amylase in vegetables. *Analytical Chemistry*, 22: 1156-1158. **(Journal)**

- McDonald, M.B. 1999. Seed deterioration: physiology, repair, and assessment. *Seed Science and Technology*, 27: 177-237. **(Journal)**
- Moller, I.M., Jensen, P.E. and Hansson, A. 2007. Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annual Review in Plant Biology*, 58: 459-481. **(Journal)**
- Morrison, D.A., Auld, T.D., Rish, S., Porter, C. and McClay, K. 1992. Patterns of testa-imposed seed dormancy in native Australian legumes. *Annals of Botany*, 70: 157-163. **(Journal)**
- Murthy, U.M.N., Kumar, P.P. and Sun, W.Q. 2003. Mechanisms of seed ageing under different storage conditions for *Vigna radiate* (L.) Wilczek: lipid peroxidation, sugar hydrolysis, Maillard reactions and their relationship to glass state transition. *Journal of Experimental Botany*, 54: 1057-1067. **(Journal)**
- Narayana, U.M. and Wendell, Q.S. 2000. Protein modification by amadori and maillard reactions during seed storage: roles of sugar hydrolysis and lipid peroxidation. *Journal of Experimental Botany*, 348: 1221-1228. **(Journal)**
- Newman, C.W. and Newman, R.K., 2006. A brief history of barley foods. *Cereal Foods World*, 51: 4-7. **(Journal)**
- Nkang, A. and Umoh, E.O. 1997. Six month storability of five soybean cultivars as influenced by stage of harvest, storage temperature and relative humidity. *Seed Science and Technology*, 25: 93-99. **(Journal)**
- Oliveira, J.T.A., Andrade, N.C., Martins-Miranda, A.S., Soares, A.A., Gondim, D.M.F. and Araujo, J.H. 2012. Differential expression of antioxidant enzymes and PR-proteins in compatible and incompatible interactions of cowpea (*Vigna unguiculata*) and the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 51: 145-152. **(Journal)**
- Priestley, D.A. 1986. Seed ageing. Cornell University Press, Ithava, New York. **(Book)**
- Qaderi, M.M., Cavers, P.B. and Bernards, M.A. 2003. Pre- and post-dispersal factors regulate germination patterns and structural characteristics of Scotch thistle (*Onopordum acanthium*) cypselas. *New Phytology*, 159: 263-278. **(Journal)**
- Resenda, M.L.V., Nojosa, G.B.A., Cavalcanti, L.S., Aguilar, M.A.G., Silva, L.H.C.P., Perez, J.O., Andrade, G.C.G., Carvalho, G.A. and Castro, R.M. 2002. Induction of resistance in coca against *Crinipellis perniciosa* and *Verticillium dahlia* by acibenzolar-s-methyl (ASM). *Plant Pathology*, 51: 624-628. **(Journal)**
- Roozrokh, M. and Ghasemigolezani, K. 1999. Effect of seed ageing on emergence, yield and yield components in tow chickpea cultivars under complete and limited irrigation. M.Sc. thesis in Agronomy, Tabriz University, Tabriz, Iran. (In Persion)**(Journal)**
- Soltani, A., Gholipoor, M. and Zeinali, E. 2006. Seed reserve utilization and seedling growth of wheat as affected by drought and salinity. *Environmental and Experimental Botany*, 55: 195-200. **(Journal)**
- Spanò, C., Castiglione, M.R., Bottega, S. and Grilli, I. 2004. Natural ageing of wheat seeds. *Current Topics in Plant Biology*, 5: 89-94. **(Journal)**
- Sun, W.Q. and Leopold, A.C. 1994. Glassy state and seed storage stability: A viability equation analysis. *Annals of Botany*, 74: 601-604. **(Journal)**
- Sun, W.Q. and Leopold, A.C. 1995. The Maillard reaction and oxidative stress during aging of soybean seeds. *Plant Physiology*, 94: 94-104. **(Journal)**
- Sung, J.M. and Chiu, C.C. 1995. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes of naturally aged soybean seed. *Plant Science*, 110: 45-52. **(Journal)**
- Tavakolafshari, R., Ghasem, F., Majnoonhosseini, N., Alizadeh, H. and Bihamta, M.R. 2007. Effect of seed ageing on germination traits and catalase and peroxidase antioxidant activity in barley genotypes. *Journal of Iranian Agricultural Science*, 37(2): 337-346. (In Persion)**(Journal)**
- Tina, X., Song, S. and Lei, Y. 2008. Cell death and reactive oxygen species metabolism during accelerated ageing of soybean axes. *Russian Journal of Plant Physiology*, 55: 33-40. **(Journal)**
- Wojtyla, Ł., Garnczarska, M., Zalewski, T., Bednarski, W., Ratajczak, L. and Jurga, S. 2006. A comparative study of water distribution, free radical production and activation of antioxidative metabolism in germinating pea seeds. *Journal of Plant Physiology*, 163: 1207-1220. **(Journal)**
- Zamani, A., Sadatnoori, S.A. Tavakolafshari, R., Irannejad, H., Akbari, Gh.A. and Tavakoli, A. 2010. A study on lipid peroxidation and activity of some antioxidant enzymes in safflower seeds under accelerated and natural ageing. *Iranian Journal of Crop Science*, 41(3): 545-555. (In Persion)**(Journal)**

Zhang, M., Zhuo, J.J., Wang, X., Wu, S. and Wang, X. F. 2010. Optimizing seed water content: relevance to storage stability and molecular mobility. *Journal of Integrative Plant Biology*, 52: 324–33. **(Journal)**

## **Effect of aging on enzymatic and non-enzymatic antioxidant changes and biochemical characteristics in barley (*Hordeum vulgare* L.) seeds cv. Valfajr**

**Morad Shaaban\***

Received: January 25, 2016

Accepted: April 4, 2016

### **ABSTRACT**

This study was laid out to study the effect of accelerate aging duration on enzymatic and non-enzymatic antioxidant activity and biochemical characteristics of barley (*Hordeum vulgare* L.) seeds in Islamic Azad University, Boroujerd branch, at 2015 summer, that laid out in completely randomized design with four replications. Treatments included 5 accelerated ageing days (control and 1, 2, 3, 4 and 5 days). Results of analysis of variance showed that effect of ageing on germination percentage, electrical conductivity, soluble sugar, soluble protein, proline, acid ascorbic, catalase, peroxidase and ascorbat peroxidase enzymes were significant. Mean comparison results showed that, increase of ageing duration decreased germination percentage of barley seeds but, Malondialdeid, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content and electrical conductivity were increased. Soluble sugar and soluble protein were increased until 3 and 2 aging days respectively then decreased. With increasing of aging levels until two days proline content increased then decreased but, ascorbic acid production procedure was decreasing and ascorbic acid production in 1-4 ageing days was more than control. Ageing changed catalase, peroxidase and ascorbat peroxidase amount. With increasing of aging levels until 3 days catalase activity increased and until 2 days peroxidase and ascorbat peroxidase activity were increased then decreased. Lower ageing levels induced enzymatic and non-enzymatic damaging less than higher ageing levels but, with increasing of accelerated ageing until 5 days reactive oxygen species accumulation over come on these antioxidant systems. In this condition seed damage increased that laid to decrease of vigor and seed germination percentage.

**Key words: Antioxidant; Barley; Catalase; Electrical conductivity; Malondialdeid; Proline**