علوم و تحقیقات بذر ایران
سال پنجم/ شماره چهارم/ ۱۳۹۷ (۵۸ - ۴۷)

DOI: 10.22124/jms.2018.2945

تأثیر مدت زمان نگهداری بذر سویا بر پراکسیداسیون چربی‌ها، قندهای محلول، پروتئین، هدایت الکتریکی، خصوصیات کیفی و ظهور گیاهچه

سامان شیدائی*[۱]، حسین حیدری شریف آبادی[۲]، آیدین حمیدی[۳]، قربان نورمحمدی[۲]، علی مقدم[۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۶/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۲۹

چکیده

به‌منظور بررسی تغییرات کیفی بذر سویا در طی زوال بذر، پژوهشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی(آزمایشگاه) و بلوک‌های کامل تصادفی(مزرعه) انجام شد. تیمارها شامل دو رقم سویا ویلیامز و L17 و سه مدت زمان انبارداری ۶، ۱۸ و ۳۰ ماه بود. صفات مورد بررسی درصد گیاهچه عادی، سرعت جوانه‌زنی، هدایت الکتریکی، میزان قندهای محلول، پروتئین، مالون‌دی-آلدئید، درصد ظهور اولیه و نهایی گیاهچه و سرعت ظهور جوانه‌زنی بود. نتایج نشان داد با افزایش مدت انبارداری از کیفیت بذر کاسته شد و کاهش کیفیت بذر در طی انبارداری سبب کاهش درصد ظهور گیاهچه در مزرعه گردید. کاهش در کیفیت بذر در دوره سوم نسبت به دوره دوم انبارداری به‌مراتب بیشتر بود، همچنین رقم ویلیامز نسبت به L17 قابلیت انبارمانی بالاتری داشت. تعداد گیاهچه‌های عادی پس از ۱۸ و ۳۰ ماه نسبت به ۶ ماه انبارداری برای رقم ویلیامز، ۵ و ۱۷/۸ درصد و برای رقم L17، ۱۲/۹ و ۲۵/۸ درصد کاهش یافت. نتایج نشان داد که کیفیت بذر با میزان قندهای محلول و پروتئین بذر رابطه مستقیم و با نشت مواد سلولی و میزان مالون‌دی‌آلدئید رابطه معکوسی دارد. درصد پروتئین کل از ۳۶/۵٪ پس از ۶ ماه انبارداری به‌ترتیب به ۳۳/۵ و ۳۱/۳٪ پس از ۱۸ و ۳۰ ماه انبارداری کاهش یافت. نتایج نشان دادند سرعت زوال بذر پس از ۳۰ ماه انبارداری نسبت به دوره قبل از آن به‌مراتب بیشتر بود که نشان می‌دهد بذر سویا حداکثر برای یک فصل زراعی بعد قابل نگهداری بوده و پس از آن شاهد کاهش کیفیت و بدسبزی خواهیم بود.

واژه‌های کلیدی: انبارداری، پروتئین، سویا، قندهای محلول، مالون دی‌آلدئید

۱- دانش‌آموخته دکترای زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
۲- استاد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
۳- دانشیار پژوهش، مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
۴- عضو هیأت علمی، موسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
*نویسنده مسئول: saman_sheidaee@yahoo.com

مقدمه

سویا به‌عنوان یکی از مهم‌ترین گیاهان دانه روغنی و پروتئینی به‌شمار می‌رود که با دارا بودن ۲۰-۱۴ درصد روغن و ۴۰-۳۰ درصد پروتئین اهمیت فوق‌العاده‌ای در تغذیه انسان، دام و طیور و مصارف متعدد صنعتی دارد. از آنجا که بذر سویا دارای لیپید و پروتئین بالا است و قابلیت جوانه‌زنی خود را فقط تا چند ماه در شرایط معمولی حفظ می‌کند، نگهداری و انبارداری بذر تا فصل بعدی رشد یا زمان فروش یکی از مراحل مهم در صنعت بذر سویاست و عدم توجه دقیق و کافی به آن سبب می‌شود بذر سویا دچار خسارت فیزیکی و فیزیولوژیکی شده و ترک دار شدن و زوال بذر تشدید شود (Ma *et al*., 2004).

طی انبارداری، بذرها به‌تدریج دچار زوال می‌شوند و به‌دنبال آن قابلیت جوانه‌زنی بذرها و ظاهر شدن گیاهچه کاهش می‌یابد. تأخیر در ظاهر شدن گیاهچه از اولین علائم قابل مشاهده می‌باشد که سرعت کندتر رشد گیاهچه و نمو و کاهش جوانه‌زنی را به‌همراه دارد. با تداوم زوال بذر، شرایط محیطی که بذرها در آن جوانه خواهند زد محدودتر می‌شود. از دست رفتن پتانسیل ظهور در مزرعه از علائم دیگر زوال بذر می‌باشد، که به‌کرات مشاهده شده است (Soltani, 2009). نتایج آزمایش ساها و سلطانا بر روی انبارداری سویا (Saha and Sultana, 2008) نشان دادند که با افزایش زمان انبارداری تا ۲۰ ماه، میزان ظهور گیاهچه در مزرعه کاهش نشان داد. کاهش مقاومت به تنش‌های محیطی در طول جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه نیز از علائم زوال بذر می‌باشد. از علائم دیگر، کاهش پتانسیل عملکرد و در نهایت از دست رفتن کامل قابلیت جوانه‌زنی و نابودی بذر می‌باشد (Roberts, 1986).

تحقیقات گذشته نشان می‌دهد که اکسیداسیون لپیدها، سلول‌ها و غشاءهای میتوکندریایی، DNA، RNA و پروتئین‌ها مهمترین خساراتی است که در طی پیری بذر رخ می‌دهد (Bailly, 2004; Osborne, 1994; Rajjou and Debeaujon, 2008). در سویا نیز سانگ و چیو (Sung and Chiu, 1995)نشان دادند که پراکسیداسیون لپیدها مهمترین فرآیندی است که در طی زوال بذر اتفاق می‌افتد. یکی از علائمی که در بیشتر موارد در بذرهای زوال یافته مشاهده می‌شود، افزایش میزان مواد نشت کرده در زمان آبنوشی می‌باشد. خروج مواد نتیجه تخریب غشای سلول‌ها در بذرهای زوال یافته است، که غلظت آن‌ها با روش هدایت الکتریکی و همچنین تعیین مقدار قندهای موجود در محلول نشت‌یافته اندازه‌گیری می‌شود (Mirdad *et al*., 2006; Bhattacharjee and Mukherjee, 1998).

پیش‌بینی میزان کاهش کیفیت یک توده بذری که با رطوبت و قوه نامیه خاصی در یک انبار مشخص تا فصل کاشت نگهداری می‌شود، ضروری می‌باشد تا بتوان تمهیدات لازم برای جلوگیری از کاهش جوانه‌زنی، کاهش رشد گیاهچه و در نتیجه نقصان عملکرد صورت پذیرد. در بعضی از سال‌ها با توجه به شرایط مساعد محیطی، بذر گواهی شده بیش از نیاز مصرف تولید می‌گردد و با توجه به هزینه‌های بالایی که برای تولید بذرهای با کیفیت صرف می‌گردد، ضرورت توجه به نگهداری این بذرها و بررسی مکانیزم‌های زوال بذر بیش از پیش احساس می‌گردد. این‌رو این تحقیق با هدف مطالعه اکوفیزیولوژیکی تغییرات زوال بذر در طی زمان‌های مختلف انبارداری و پیرو آن عملکرد بوته های حاصل انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تغییرات کیفی بذر سویا در طی زوال بذر، پژوهشی در دو مرحله آزمایشگاهی و مزرعه‌ای انجام شد. تیمارها شامل دو رقم سویای ویلیامز و L_{17} و سه مدت زمان انبارداری ۶، ۱۸ و ۳۰ ماه در شرایط دما و رطوبت کنترل شده بود. مرحله آزمایشگاهی به‌صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار و بخش مزرعه‌ای به‌صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی درچهار تکرار شامل ۲ رقم و ۳ مدت زمان انبارداری اجرا شد.

۱- آزمایشگاه: در ابتدا بذرهای رقم ویلیامز و L_{17} (این ارقام از گروه رسیدگی ۳، با طول رشد حدود ۱۲۰ روز و تیپ رشدی نامحدود هستند) تولیدی مغان با قوه نامیه (۸۵٪) و رطوبت استاندارد براساس استانداردهای ملی تولید بذر کشور (۱۲-۱۱درصد) در انبار کنترل شده نگهداری

شدند. بدین منظور پس از برداشت بذرهای مزارع تولید بذر ارقام ویلیامز و L17 متعلق به شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی در منطقه مغان، عملیات بوجاری، فرآوری و کیسه-گیری توسط شرکت تولید کننده صورت پذیرفت. سپس براساس قوانین ایستا (ISTA, 2009) از کیسه‌های بذری نمونه‌برداری شد و آزمون تعیین قوه نامیه برای نمونه‌های بذری در آزمایشگاه ملی کیفی بذر ایران انجام پذیرفت و نمونه‌های با قوه نامیه ۸۵٪ و رطوبت بذر ۱۲-۱۱٪ برای بررسی زوال طبیعی بذر سویا و انبار کردن طولانی‌مدت بذر در شرایط کنترل شده انتخاب گردیدند. این عملیات طی ۳ سال و در سال‌های ۸۹، ۹۰ و ۹۱ تکرار گردید و در اواخر آذرماه هر سال بذرهای با قوه نامیه و رطوبت ذکر شده که از منطقه تولید بذر مشخصی تهیه شده بود به انبار کنترل شده واقع در مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال کرج که دارای سیستم خنک کننده بوده و دارای محدوده دمایی ۱۶-۱۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۰-۴۰٪ بود منتقل گردیدند. در اواخر خردادماه سال ۱۳۹۲ همزمان با زمان مناسب کشت سویا، بذرهای سویا که مدت ۶، ۱۸ و ۳۰ ماه از انبار کردن آنها با دما و رطوبت توصیه شده می-گذشت، جهت تعیین کیفیت بذری مورد بررسی قرار گرفتند. آزمایشات تجزیه کیفی بذر شامل درصد گیاهچه عادی، سرعت جوانه‌زنی و هدایت الکتریکی در آزمایشگاه ملی کیفی بذر ایران و آزمایش‌های فیزیولوژیکی بذر شامل درصد پروتئین بذر، میزان قندهای محلول و میزان مالون‌دی‌آلدئید در مجتمع آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی- واحد علوم و تحقیقات تهران انجام شد.

بررسی تغییرات کیفی و زوال بذر در طول انبار کردن: در ابتدای آزمایش پس از طی دوره‌های انبار کردن آزمون‌های بنیه، جوانه‌زنی استاندارد و آزمایش‌های مزرعه‌ای بر روی این بذرها انجام پذیرفت، تا روند کاهش کیفیت بذر سویا مشخص گردد. تیمارهای مورد آزمایش شامل دو رقم ویلیامز و L17 به عنوان عامل اول و زمان انبار کردن در ۳ سطح ۶، ۱۸ و ۳۰ ماه به عنوان عامل دوم در نظر گرفته شدند.

آزمون جوانه‌زنی استاندارد: این آزمون به روش کاشت در بین کاغذ جوانه‌زنی انجام شد. برای هر تیمار ۵۰ عدد بذر از هر نمونه انتخاب و در داخل سه لایه حوله‌کاغذی گذاشته شد (ISTA, 2009). بذرها در روشنایی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ روز در اتاق کشت قرار داده شدند. در طول دوره به صورت روزانه بازدید انجام شد و خروج ریشه-چه به اندازه ۲ میلی‌متر یا بیشتر به‌عنوان معیار جوانه‌زنی در نظر گرفته و یادداشت گردید. در پایان دوره اجرای این آزمون گیاهچه‌های عادی تعیین شد. به‌منظور تعیین سرعت جوانه‌زنی به‌طور روزانه ظرف‌های کشت شده مورد بازدید قرار گرفت و تعداد بذرهای جوانه‌زده یادداشت شد. سرعت جوانه‌زنی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{سرعت جوانه‌زنی} = \sum_{i}^{n} \frac{Si}{Di} \quad (۱$$

که در آن Si تعداد بذرهای جوانه‌زده در هر دفعه شمارش، Di تعداد روز تا شمارش nام و n دفعات شمارش

آزمون هدایت الکتریکی: برای اجرای آزمون چهار نمونه شامل ۵۰ عدد بذر از نمونه بذر خالص مربوط به یک توده بذر به‌صورت تصادفی تهیه کرده و وزن کردیم. بعد از ریختن بذرها درون ظرف حاوی ۲۵۰ میلی لیتر آب دآیونیزه بعد از گذشت ۲۴ ساعت که ظرف‌های محتوی بذر در دمای ۱ ±۲۰ قرار داده شدند هدایت الکتریکی محلول با استفاده از دستگاه هدایت سنج الکتریکی اندازه‌گیری شد (ISTA, 2009).

$$\text{میزان هدایت الکتریکی (میکرو زیمنس) برای هر ظرف} = \text{میکرو زیمنس بر سانتی‌متر گرم}$$
$$\frac{\text{میزان هدایت الکتریکی (میکرو زیمنس) برای هر ظرف}}{\text{وزن نمونه بذر (بر حسب گرم)}} \quad (۲$$

جهت اندازه‌گیری قندهای محلول کل از روش فنل-اسید سولفوریک (AOAC, 1995) با کمی تغییر استفاده شد و برای اندازه‌گیری پروتئین از روش بردفورد (Bradford, 1976) و تخمین میزان مالون‌دی‌آلدئید (پراکسیداسیون چربی‌ها) از روش داوی (Davey *et (al.*, 2005) استفاده گردید.

آزمایش مزرعه‌ای

این آزمایش به‌صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه بلوک-های کامل تصادفی و چهار تکرار در مزرعه پژوهشی مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال واقع در کرج اجرا شد. عامل اول شامل ۲ رقم و عامل دوم شامل ۳ مدت زمان

انبارداری بود. میزان بارندگی سالانه در شهر کرج حدود ۳۰۰ میلی‌متر است و رشته کوه‌های البرز موجب تعدیل آب و هوا در این منطقه شده است. مزرعه پژوهشی مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال نیز در موقعیت ۳۵ درجه و ۴۸ دقیقه شمالی و ۵۰ درجه و ۵۸ دقیقه شرقی قرار گرفته است. با فرا رسیدن تاریخ کاشت مناسب در ۱۵ خردادماه با تراکم ۴۰۰ هزار بوته(فاصله ردیف ۵۰ سانتی‌متر و فاصله بوته ۵ سانتی‌متر) در هکتار کشت گردید. قبل از کاشت خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک اندازه‌گیری شد(جدول ۱) و با انجام عملیات خاک‌ورزی در ۱۵ خرداد کشت شدند.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه آزمایشی

Table 1. Physical and chemical properties of soil in experimental fields

بافت Texture	شن Sand(%)	لوم Loam(%)	رس Clay(%)	نیتروژن Nitrogen(%)	پتاسیم Potassium (p.p.m)	فسفر Phosphorus (p.p.m)	اسیدیته Acidity	شوری EC (dS/m)
لوم	38.4	47	14.6	0.22	149.91	8.09	7.01	2.4

هر کرت شامل ۴ خط کاشت به طول ۵ متر بوده و کاشت با رعایت عمق کاشت یکنواخت بذرها به‌صورت دستی انجام شده و کلیه مراحل داشت مزرعه در طی دوره رشد به‌طور معمول اجرا گردید.

به‌منظورتعیین میزان ظهور گیاهچه در مزرعه و ویژگی‌های مرتبط از هرکرت دو خط کاشت و از هر یک طولی که در برگیرنده جمعاً ۱۰۰ بذر کشت شده بود در نظر گرفته شد و به‌طور روزانه مورد بازدید قرار گرفته و تعداد گیاهچه‌های ظاهر شده تا ۱۴ روز پس از کاشت یادداشت گردید. درصد ظهور اولیه گیاهچه‌ها (۷ روز پس از کاشت)، درصد ظهور نهایی گیاهچه ها (۱۴ روز پس از کاشت)، سرعت ظهور تجمعی (CER)گیاهچه‌ها در مزرعه نیز با استفاده از رابطه زیر مشخص شد.

$$CER = \frac{\text{تعداد گیاهچه‌های شمارش شده}}{\text{تعداد روز تا شمارش آخر}} + \frac{\text{تعداد گیاهچه‌های شمارش شده}}{\text{تعداد روز تا شمارش نخست}} \quad (۳$$

داده‌های مربوط به این آزمایش با استفاده از نرم افزار آماری SAS مورد تجزیه واریانس قرار گرفتند و مقایسه میانگین تیمارها با آزمون LSD صورت گرفت. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار EXCEL رسم گردیدند.

نتایج و بحث

آزمون جوانه‌زنی استاندارد و آزمون هدایت الکتریکی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها(جدول ۲) نشان داد اثر متقابل مدت زمان نگهداری بذر × رقم برای صفت درصد گیاهچه‌های عادی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شدند. مقایسه میانگین اثر متقابل مدت زمان نگهداری بذر × رقم برای درصد گیاهچه‌های عادی (شکل ۱) نشان داد که در تیمار ۶ ماه انبارداری تفاوت معنی‌داری بین دو رقم وجود نداشت ولی در تیمارهای ۱۸ و ۳۰ ماه انبارداری رقم L_{17} نسبت به رقم ویلیامز به‌طور معنی‌داری درصد گیاهچه‌های عادی پایین‌تری داشت. نتایج این آزمایش نشان داد که در صورت نگهداری بذرها برای فصل کشت بعدی، تعداد گیاهچه‌های عادی پس از ۱۸ و ۳۰ ماه نسبت به ۶ ماه انبارداری(فصل جاری) به‌ترتیب برای رقم ویلیامز، ۵ و ۱۷/۸ درصد و برای رقم L_{17}، ۱۲/۹ و ۲۵/۸ درصد کاهش یافت.

بسیاری از محققین بر این باورند اکسیداسیون چربی‌ها و افزایش میزان اسیدهای چرب آزاد در طی دوره انبارداری سویا باعث زوال سریع آن نسبت به گیاهان غیرروغنی می‌گردد (Reuzeau and Cavalie, 1995; Trawatha *et al*., 1995; Balasevic-Tubic *et al*., 2005).

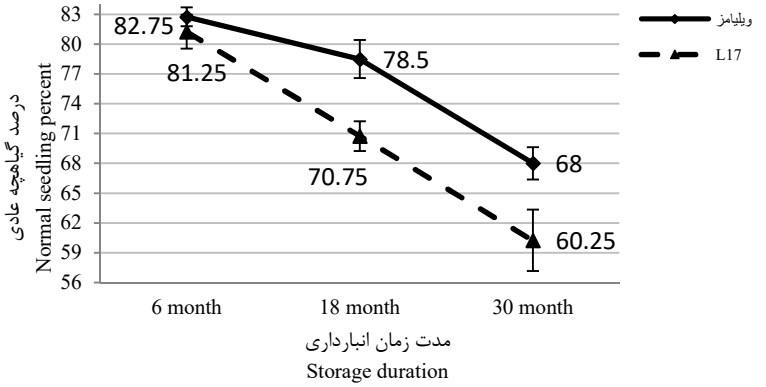
مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۳) نشان داد رقم ویلیامز به‌طور معنی‌داری دارای سرعت جوانه‌زنی بیشتری نسبت به رقم L_{17} بود. سرعت جوانه‌زنی با افزایش مدت زمان انبارداری کاهش معنی‌داری نشان داد. نتایج تحقیقات نشان داد پیری بذر در طی انبارداری به‌طور معنی‌داری سرعت

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد بررسی ارقام سویا در آزمایشگاه

Table 2. The Variance analysis of studied traits of soybean varieties in lab

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean Squares					
		درصد گیاهچه عادی Normal Seedling	سرعت جوانه‌زنی Germination Rate	هدایت الکتریکی Electrical Conductivity	قندهای محلول Soluble Sugars	پروتئین کل Total Protein	مالون دی‌آلدئید malondialdehyde
رقم Cultivar	1	192.67**	12.30**	14.03**	40.80**	5.55 ns	60.50**
مدت انبارداری Storage Duration	2	645.54**	70.20**	11.72**	451.20**	40.39**	1579.50**
رقم × مدت انبارداری Cultivar×Storage Duration	2	26.04**	2.53 ns	1.75 ns	10.23*	0.06 ns	19.50*
خطا Error	18	3.66	1.00	2.23	2.59	1.64	3.96
ضریب تغییرات C.V. ٪		2.60	3.74	5.67	2.36	3.79	3.44

جوانه‌زنی را کاهش می‌دهد (Rehman *et al*., 1999; Khajeh-Hosseini *et al.,* 2003). سازوکارهای مختلفی در فرآیندهای پیری شرکت دارند که سبب کاهش بنیه و کیفیت بذر می‌شوند که از جمله می‌توان به آسیب غشایی، کاهش در میزان فسفولیپیدهای غشاء، تغییر در اسید چرب و پراکسیداسیون لیپیدها، رادیکال‌های آزاد، خسارت‌های ژنتیکی، اختلال در فعالیت‌های تنفسی، تغییر در پروتئین‌ها و آنزیم‌ها، تجمع متابولیت‌های سمی، تغییرات هورمونی و... اشاره کرد. (Lachman *et al*., 2003; Stadtman, 2004; McDonald, 2004; Simic *et al*., 2005; Bewley *et al*., 2013).



شکل ۱- مقایسه میانگین‌های اثر متقابل تأثیر رقم و دوران انبارمانی بر درصد گیاهچه عادی(۲/۸۴۴ = (۰/۰۵) LSD)

Figure 1. The mean comparison of storage duration × cultivar on normal seedling percent LSD (0.05)=2.844

همچنین اختلاف معنی‌داری از نظر میزان هدایت الکتریکی در بین ارقام مشاهده شد، به‌طوری‌که رقم ویلیامز به‌طور معنی‌داری میزان هدایت الکتریکی و نشت الکترولیت-های کمتری نسبت به رقم L17 داشت. ویلسون و مک‌دونالد (Wilson and McDonald, 1986) بیان داشتند یک دلیل برای قابلیت انبارمانی پایین بذرهای سویا، میزان بالای پراکسیداسیون چربی‌ها می‌باشد که منجر به کاهش یکپارچگی غشاء سلولی می‌گردد. در بین ارقام مورد مطالعه رقم ویلیامز که نشت سلولی پایین‌تری داشت، کیفیت بذر بالاتری داشت. در طول انبارداری میزان هدایت الکتریکی در

۱۸ و ۳۰ ماه انبارداری نسبت به ۶ ماه انبارداری به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ولی بین ۱۸ و ۳۰ ماه انبارداری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

نتایج بسیاری از تحقیقات نشان داد که هدایت الکتریکی در محورهای جنینی بذرهای زوال یافته سویا افزایش می‌یابد. افزایش مواد نشتی از بذر موجب از بین رفتن سلامت غشاء، افزایش نفوذ پذیری و پارگی غشاء می‌گردد و بذر در معرض آبنوشی قرار می‌گیرد که نتیجه همه این عوامل کاهش بنیه و جوانه‌زنی بذر است (Lachman *et al*., 2003; Stadtman, 2004; Torres *et al*., 2004)).

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های تأثیر رقم و دوران انبارمانی بر صفات سرعت جوانه‌زنی و هدایت الکتریکی

Table 3. The mean comparison of the effects of Storage duration and cultivar on germination rate and electrical conductivity

	Mean میانگین	
	Germination Rate سرعت جوانه‌زنی	Electrical Conductivity هدایت الکتریکی
Cultivar رقم		
Williams ویلیامز	27.52[a]	25.58[b]
L_{17}	26.09[b]	27.11[a]
LSD(0.05)	0.860	1.278
Storage Duration مدت زمان انبارداری		
6 month ۶ ماه	29.85[a]	25.03[b]
18 month ۱۸ ماه	26.64[b]	26.61[a]
30 month ۳۰ ماه	23.93[c]	27.41[a]
LSD(0.05)	1.054	1.565

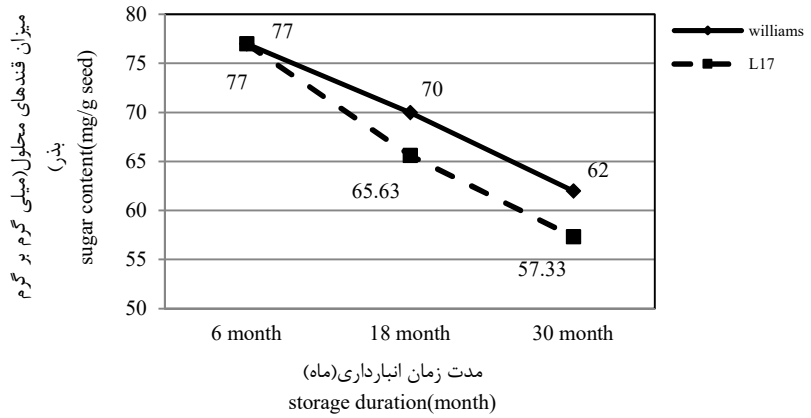
حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD می‌باشد.

Means with the same letter are not significantly different at 5% level

بررسی تغییرات فیزیولوژیکی زوال بذر سویا

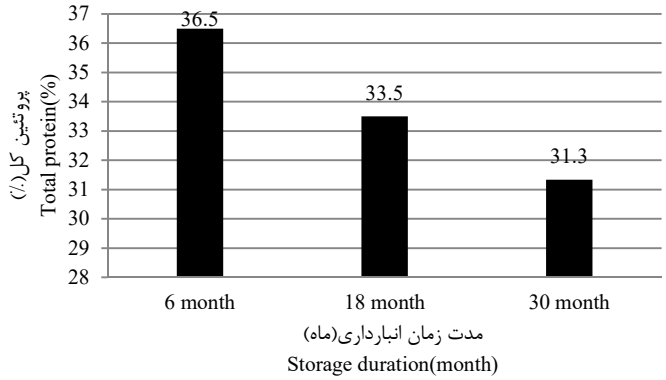
محتوای قندهای محلول: مقایسه میانگین اثر متقابل مدت زمان نگهداری بذر × رقم برای صفت محتوای قندهای محلول(شکل ۲) نشان داد در تیمار ۶ ماه انبارداری بذرهای دو رقم ویلیامز و L17 تفاوت معنی‌داری از نظر محتوای قندهای محلول نداشتند ولی در تیمار ۱۸ ماه انبارداری محتوای قندهای محلول در رقم L17 نسبت به ویلیامز به‌طور معنی‌داری کاهش بیشتری نشان داد(۱۵٪ در مقابل ۹٪) و همزمان با کاهش بیشتر در محتوای قندهای محلول در رقم L17، کاهش بیشتر کیفیت بذر نیز در این رقم نسبت به ویلیامز پس از ۱۸ ماه انبارداری اتفاق افتاد. در تیمار ۳۰ ماه انبارداری نیز محتوای قندهای محلول در هر دو رقم کاهش معنی‌داری نشان داد. با توجه به کاهش کیفیت بذر در این شرایط می‌توان گفت با افزایش زوال بذر از میزان قندهای محلول در طی انبارداری کاسته می‌شود و افزایش زمان انبارداری سبب کاهش بیشتر در محتوای قندهای محلول می‌گردد. بر این اساس می‌توان نتیجه گرفت مدت زمان انبارداری بذر و رقم که طبق نتایج به‌دست آمده بر زوال بذر در طی انبارداری نقش اساسی بازی می‌کنند بر محتوای قندهای محلول بذر نیز مؤثر می‌باشند. لوچر و بوچلی(Locher and Bucheli, 1998) در آزمایشی بر روی انبارداری سویا نشان دادند همزمان با کاهش در درصد جوانه‌زنی، میزان قندها نیز کاهش یافت.

درصد پروتئین: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد درصد پروتئین کل تحت تأثیر مدت زمان نگهداری بذر قرار گرفت ولی رقم تأثیر معنی‌داری بر درصد پروتئین کل بذر نداشت (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۳) نشان داد که درصد پروتئین کل با افزایش زمان نگهداری بذر به‌طور معنی‌داری کاهش نشان داد. به‌طوری که درصد پروتئین کل از ۳۶/۵ درصد پس از ۶ ماه انبارداری به‌ترتیب به ۳۳/۵ و ۳۱/۳ درصد پس از ۱۸ و ۳۰ ماه انبارداری کاهش نشان داد.



شکل ۲- مقایسه میانگین‌های اثر متقابل تأثیر رقم و دوران انبارمانی بر محتوای قندهای محلول بذر سویا(۲/۸۶ = (LSD (۰/۰۵)

Figure 2. The mean comparison of storage duration × cultivar on soybean sugar content LSD (0.05)= 2.86



شکل ۳- مقایسه میانگین‌های اثر دوران انبارداری بر درصد پروتئین کل بذر سویا (۱/۶۱ = (LSD (۰/۰۵)

Figure 3. The mean comparison of storage duration on soybean total protein LSD (0.05)= 1.61

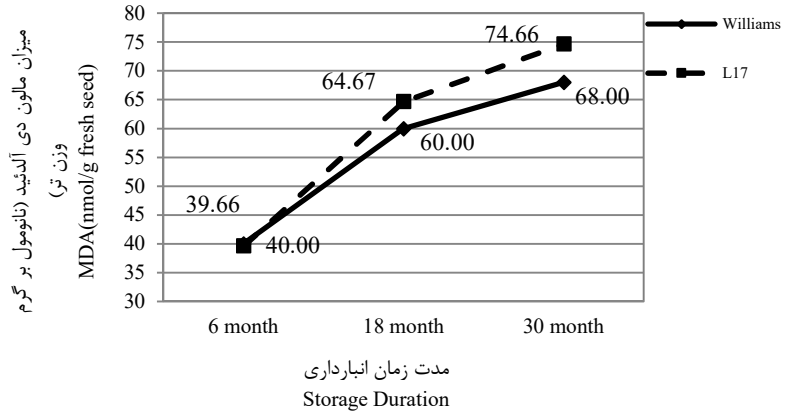
کاهش در میزان کل پروتئین بذر یکی از حوادثی است که در طول پیری بذر به‌وقوع می‌پیوندد. یکی از دلایل کاهش پروتئین بذر، خسارت به سیستم‌های سنتز کننده پروتئین است. از دلایل دیگر، می‌توان به سنتز و فعالیت بالای آنزیم‌های پروتئولیتیک در طول زوال بذر اشاره کرد. افزایش در فعالیت پروتئازها همراه با زوال بذر در دوره نگهداری از دیگر آسیب‌های زوال در بذر است (McDonald, 2004). کریشنان و همکاران (Krishnan *et al*., 2000) نشان دادند که در طول دورهٔ نگهداری بذر، میزان پروتئین سویا کاهش پیدا می‌کند. طی تحقیقات انجام شده توسط مورتی و همکاران(Murty *et al*., 2003) مشخص گردید که طی زوال بذر رادیکال‌های آزاد سبب اکسیداسیون لیپیدها، غیر فعال شدن آنزیم‌ها، تجزیه پروتئین و صدمه غشاء می‌شود.

میزان مالون‌دی‌آلدئید: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که میزان مالون دی‌آلدئید در بذرهای انبار شده تحت تأثیر اثر متقابل مدت زمان نگهداری و رقم قرار گرفت(جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها(شکل ۴) نشان داد در تیمار ۶ ماه انبارداری تفاوت معنی‌داری بین دو رقم مشاهده نشد ولی در تیمارهای ۱۸ و ۳۰ ماه انبارداری میزان مالون دی-آلدئید به‌طور معنی‌داری در رقم L17 نسبت به رقم ویلیامز بالاتر بود.

این نتایج نشان می‌دهد با توجه به اینکه در طی انبارداری طولانی‌مدت از کیفیت بذر کاسته و به‌تدریج زوال

می‌یابد، بین زوال بذر و میزان مالون دی‌آلدئید رابطه مستقیمی وجود دارد. با توجه به اینکه میزان مالون‌دی‌آلدئید با پراکسیداسیون چربی‌ها رابطه مستقیمی داشته و پراکسیداسیون چربی‌ها از عوامل مهم زوال بذر می‌باشد، زوال سریعتر در رقم L_{17} نسبت به رقم ویلیامز با میزان بالاتر مالون‌دی‌آلدئید مرتبط می‌باشد.

تغییرات در لیپیدهای غشاء ناشی از پراکسیداسیون، ممکن است در افزایش نفوذپذیری غشاء و نشت سلولی که با پیری بذر مرتبط هستند، دخیل باشند. گونه‌های فعال اکسیژن همچنین می‌توانند آسیب به DNA و ناهنجاری‌های کروموزومی در دوره پیری بذر را افزایش دهند (Bewley *et al*., 2013).



شکل ۴- مقایسه میانگین‌های اثر متقابل تأثیر رقم و دوران انبارمانی بر میزان مالون دی‌آلدئید بذر سویا

LSD (۰/۰۵)=۳/۵۴

Figure 4: The mean comparison of storage duration × cultivar on malondialdehyde of soybean seed

LSD (0.05)= 3.54

نتایج آزمایش مزرعه‌ای

نتایج حاصل از اندازه‌گیری صفات مزرعه‌ای نشان داد مدت زمان نگهداری بذر و رقم تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد بر روی صفت‌های درصد ظهور اولیه گیاهچه، درصد ظهور نهایی گیاهچه و سرعت ظهور تجمعی داشتند (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین صفات نشان داد رقم ویلیامز به‌طور معنی‌داری درصد ظهور اولیه، درصد ظهور نهایی و سرعت ظهور تجمعی بالاتری نسبت به رقمL_{17} داشت که این امر به‌دلیل زوال بذر بالاتر در رقم L_{17} نسبت به ویلیامز در طی انبارداری می‌باشد (جدول ۵). این نتایج با نتایج بخش آزمایشگاهی همخوانی دارد و با توجه به میزان بالاتر گیاهچه‌های عادی در آزمون‌های آزمایشگاهی به‌خصوص پس از دوره‌های انبارکردن در رقم ویلیامز بالطبع درصد ظهور بالاتری در مزرعه شاهد شد. نتایج آزمایش Saha and Sultana (2008) نشان دادند که با افزایش زمان انبارکردن تا ۲۰ ماه، میزان ظهور گیاهچه در مزرعه کاهش نشان داد. کاهش در جوانه‌زنی بذرهای زوال یافته ممکن است ناشی از کاهش فعالیت آلفا آمیلاز و میزان قندها یا دناتوره شدن پروتئین‌ها باشد.

مقایسه میانگین‌های صفات نشان دادند افزایش مدت زمان انبارکردن به‌طور معنی‌داری درصد ظهور اولیه، درصد ظهور نهایی و سرعت ظهور تجمعی را کاهش داد. میزان کاهش این صفات در ۱۸ ماه انبارداری نسبت به ۶ ماه و همچنین پس از ۳۰ ماه انبارداری نسبت به ۱۸ ماه برای صفت درصد ظهور اولیه گیاهچه به‌ترتیب ۳۸ و ۵۷/۸ درصد، برای درصد ظهور نهایی گیاهچه ۱۹/۹ و ۴۴/۵ درصد و سرعت ظهور تجمعی ۲۱ و ۲۸ درصد بود. با توجه به میزان کاهش این صفات در دو فاز انبارداری می‌توان نتیجه گرفت همان‌طور که در آزمون جوانه‌زنی استاندارد به‌دست آمد، درصد کاهش کیفیت بذر پس از ۳۰ ماه انبارداری نسبت به ۱۸ ماه انبارداری در مقایسه با کاهش ۱۸ ماه نسبت به ۶ ماه کاهش بیشتری نشان داد (جدول ۵). این امر نشان می‌دهد

علاوه بر افزایش زوال بذر در طی زمان انبارداری، سرعت زوال بذر نیز با افزایش مدت زمان انبارکردن افزایش می‌یابد. نتایج آزمون‌های فیزیولوژیکی نیز نشان داد که با افزایش مدت زمان انبارداری میزان مالون‌دی‌آلدئید افزایش و میزان قندهای محلول و پروتئین کاهش نشان داد که این تغییرات سبب پیری بذر و کاهش توانایی در جوانه‌زنی و ظهور گیاهچه در مزرعه گردید. آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن بیشترین گسترش را در بذرهای خشک دارد. پراکسیداسیون لیپیدها با گرفتن یک هیدروژن توسط رادیکال‌های هیدروکسیل آغاز و واکنش زنجیره‌ای شکستن لیپیدها (به‌ویژه چربی‌های اشباع نشده) سبب آزاد سازی ترکیب‌هایی از قبیل آلدئیدهای واکنش‌پذیر می‌گردد که این ترکیب‌ها باعث آسیب‌های بعدی به پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌گردند. تغییر در

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد بررسی سویا در مزرعه

Table 4. The variance analysis of soybean studied characteristics in the field

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean Squares			
		درصد ظهور اولیه گیاهچه first seedling emergence percentage	درصد ظهور نهایی گیاهچه final seedling emergence percentage	سرعت ظهور تجمعی Cumulative seedling emergence rate	عملکرد Yield
بلوک Block	3	6.81^{ns}	31.73^{ns}	28.02^{ns}	8194.00^{ns}
رقم Cultivar	1	188.16**	372.80**	646.88**	510416.00**
مدت انبارداری Storage Duration	2	1426.26**	2989.42**	1399.34**	1367917.0**
رقم × مدت انبارداری Cultivar×Storage Duration	2	11.70^{ns}	62.63^{ns}	10.68^{ns}	107916.00^{ns}
خطا Error	15	4.74	22.35	14.39	52861.00
ضریب تغییرات ٪ C.V.		9.62	9.20	7.93	6.42

* و **؛ به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و ^{ns} غیر معنی‌دار

ns: non significant ; ** significant at 1% level; * significant at 5% level.

جدول ۵- مقایسه میانگین‌های تأثیر رقم و دوران انبار مانی بر صفات مورد بررسی سویا در مزرعه

Table 5. The mean comparison of the effects of Storage duration and cultivar on soybean studied characteristics in the field

	میانگین Mean			
	ظهور اولیه گیاهچه first seedling emergence (%)	ظهور نهایی گیاهچه final seedling emergence (%)	سرعت ظهور تجمعی Cumulative emergence rate	عملکرد Yield (Kg)
رقم Cultivar				
ویلیامز Williams	25.43^{a}	55.28^{a}	53.02^{a}	3725.00^{a}
L_{17}	19.83^{b}	47.40^{b}	42.63^{b}	3433.00^{b}
LSD(0.05)	1.90	4.11	3.30	200.06
مدت زمان انبارداری Storage Duration				
۶ ماه 6 month	36.12^{a}	68.62^{a}	60.97^{a}	3975.00^{a}
۱۸ ماه 18 month	22.35^{b}	54.93^{b}	47.97^{b}	3612.00^{b}
۳۰ ماه 30 month	9.42^{c}	34.46^{c}	30.52^{c}	3150.00^{c}
LSD(0.05)	2.32	5.03	4.04	245.03

حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD می‌باشد

Means with the same letter are not significantly different at 5% level .

لیپیدهای غشاء ناشی از پراکسیداسیون ممکن است در افزایش نفوذپذیری غشا و نشت سلولی که با پیری بذر مرتبط هستند، دخیل باشند. گونه‌های فعال اکسیژن همچنین می‌توانند آسیب DNA و ناهنجاری‌های کروموزومی در دوره پیری بذر را افزایش دهند. آنتی-اکسیدانت‌ها از قبیل فنل‌ها و آسکوربات می‌توانند رادیکال-های آزاد را از بین ببرند و گسترش‌شان را کاهش و آسیب به بذر را متوقف کنند. با توجه به اینکه سازوکارهای آنزیمی برای احیاء آنتی‌اکسیدانت‌ها در بذرهای خشک، به‌علت رطوبت پایین غیرفعال هستند، بنابراین، این انتظار می‌رود که نیروی آنها با افزایش زمان سرانجام از بین رفته و گونه-های فعال اکسیژنی آسیب‌رسان شوند. (Bewley *et al.*, 2013).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این آزمایش نشان داد با افزایش مدت انبارداری کیفیت بذر به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. این کاهش در دوره سوم انبارداری (پس از ۳۰ ماه در برابر ۱۸ ماه) نسبت به دوره دوم انبارداری (پس از ۱۸ ماه در برابر ۶ ماه) به-مراتب بیشتر بود که نشان می‌دهد با افزایش زمان انبارداری سرعت زوال بذر افزایش می‌یابد. همچنین رقم ویلیامز نسبت به رقم L_{17} قابلیت انبارمانی بالاتری داشت. با توجه به اینکه درصد گیاهچه‌های سبز شده حاصل از بذرهای با کیفیت بیشتر است، این امر دستیابی به تراکم مطلوب را در مزرعه امکان پذیر می‌سازد. بذرهای پیر و زوال یافته به‌دلیل کاهش ظهور گیاهچه در مزرعه و تراکم نهایی پایین‌تر، عملکرد کمتری خواهند داشت. این نتایج نشان می‌دهد با توجه به اینکه در طی انبارداری طولانی‌مدت از کیفیت بذر کاسته و به‌تدریج زوال می‌یابد، بین زوال بذر و میزان قندهای محلول و پروتئین بذر رابطه معکوسی وجود دارد و با افزایش پیری و زوال بذر از میزان آنها کاسته می‌شود. میزان مالون دی‌آلدئید رابطه مستقیمی با زوال بذر نشان داد و در طی انبارداری پراکسیداسیون چربی‌ها باعث افزایش میزان مالون دی‌آلدئید و نشت مواد سلولی و در نتیجه کاهش کیفیت بذر گردید. براساس نتایج به‌دست آمده بذر سویا در طی انبارداری به-سرعت کیفیت خود را از دست می‌دهد و نگهداری آن بیش از یک فصل زراعی توصیه نمی‌شود.

منابع

ISTA. 2009. International Rules for Seed Testing. Zurichtstr.50. CH 8303. Bassersdorf, Switzerland, Edition 2009/1.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1995. Official Methods of Analysis, 16th Ed. AOAC International, Gaithersburg, MD. USA.

Bailly, C. 2004. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. Seed Science Research. 14: 93-107. **(Journal)**

Balasevic-Tubic, S., Malencic, D., Tatic, M. and Miladinovic, J. 2005. Influence of aging process on biochemical changes in sunflower seed. Helia. 28 (42): 107-114. **(Journal)**

Bewley, J. D., Bradford, K. J., Hilhorst, H. W. and Nonogaki, H. 2013. Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy, 3rd Edition Springer New York.

Bhattacharjee, A. and Mukherjee, A. K. 1998. The deleterious effects of high temperature during early germination on membrane integrity and subsequent germination of *Amaranthus lividus*. Seed Science and Technology. 26: 1-8. **(Journal)**

Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein day binding. Analytical Biochemistry. 72: 248-254. **(Journal)**

Davey, M. W., Stals, E., Panis, B., Keulemans, J. and Swennen, R. L. 2005. High-throughput of malondialdehyde in plant tissues. Analytical Biochemistry, 347: 201-207.

Khajeh-Hosseini, M., Powell, A., A. and Bingham, I. J. 2003. The interaction between salinity stress and seed vigor during germination of soya bean seeds. Seed Science and Technology. 31: 715- 725. **(Journal)**

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

Lachman, J., Dudjak, J., Orsak, M. and Pivec, V. 2003. Effect of accelerated aging test on the content and composition of polyphenolic complex of wheat (*Triticum aestivum* L.) grains. Plant Soil Environment. 94: 1-7. **(Journal)**

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

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

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.

Mirdad, Z., Powel, A. A. and Matthews, S. 2006. Prediction of germination in artificially aged seeds of *Brassica* spp using the bulk conductivity test. Seed Science and Technology. 34: 273-286. **(Journal)**

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

Osborne, D.J. 1994. DNA and desiccation tolerance. Seed Science. Research. 4: 175-185. **(Journal)**

Rajjou, L. and Debeaujon, I. 2008. Seed longevity: Survival and maintenance of high germination ability of dry seeds. C. R. Biologies. 331: 796-805. **(Journal)**

Rehman, S., Harris, P. J. C. and Bourne, W. F. 1999. Effect of artifficial ageing on the germination, ion leakage and salinity tolerance of Acacia tortilis and A. coriacea seeds. Seed Science and Technology. 27: 141-149. **(Journal)**

Reuzeau, C. and Cavalie, G. 1995. Activities of free radical processing enzymes in dry sunflower seeds. New Phytol. 130: 59-66. **(Journal)**

Roberts, E. H. 1986. Quantifying seed deterioration. P. 101-123. In McDonald, M.B., and Nelson, C.J. (ed.). Physiology of seed deterioration. UK.

Saha, R. R. and Sultana, W. 2008. Influence of seed ageing on growth and yield of soybean. Bangladesh Journal of Botany. 37: 21-26. **(Journal)**

Simic, A., Sredojevic, S., Toldovic, S., Dukanovic, L. and Damjanovic, M. 2005. Estimation of total phenolic in soybean (*Glycine max* L.) exudates and seed quality during accelerated aging test. Seed Science and Technology. 33: 761-765. **(Journal)**

Soltani, A., Galeshi, S., Kamkar, B. and Akramghaderi, F. 2009. The effect of seed aging on the seedling growth as affected by environmental factors in wheat. Research Journal. Environmental Science, 3(2): 184-192.

Stadtman, E. R. 2004. Role of oxidant species in aging. Current Medicinal Chemistry. 11: 1105-1112.

Sung, J. M., and C. C. Chiu. 1995. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes of naturally aged soybean seed. Plant Science. 110 (1): 45-52. **(Journal)**

Torres, R. M., Vieira, R. D. and Panobic, M. 2004. Accelerated aging and seedling field emergence in soybean. Agriculture Research. 61: 476-480. **(Journal)**

Trawatha, S. E., TeKrony, D. M. and Hildebrand, D. F. 1995. Relationship on soybean quality to fatty acid and C6-aldehyde levels during storage. Crop Science.35: 1415-1422. **(Journal)**

Wilson, D. O. and McDonald, M. B. 1986. The lipid peroxidation model of seed ageing. Seed Science and Technology. 14: 269-300. **(Journal)**

Impact of storage period of soybean seed on lipids peroxidation, soluble sugars, protein, electrical conductivity, quality characteristics and seedling emergence

Saman Sheidaei[*1], Hosein Heidari Sharifabad[2], Aidin Hamidi[3], Ghorban NoorMohammadi[4], Ali Moghadam[5]

Received: September 12, 2017 Accepted: February 18, 2018

Abstract

In order to evaluate the variations of soybean seed quality and also biochemical changes during seed deterioration at natural aging conditions, this research employed a factorial experiment based on a completely randomized design (in laboratory) and randomized complete block design (at field). The treatments included two cultivars of Williams and L17 and three storage durations of 6, 18 and 30 months. The studied characteristics included normal seedling percent, electrical conductivity, soluble sugars, total protein, malondialdehyde, first and final seedling emergence percent and cumulative seedling emergence rate. The result showed that seed quality significantly decreased by increasing the storage duration and this loss of seed quality storage resulted in the reduction of field seedling emergence. The reduction of seed quality in the third duration was significantly higher than the second storage duration. Also, the cultivar Williams had more storability as compared to L17. The number of normal seedlings decreased more significantly 5 and 17.8 percent for Williams and 12.9 and 25.8 percent for L17 subsequent to 18 and 30 months as compared to 6 months of storage. The results indicated a positive correlation between seed quality and seed's soluble sugars and protein and also a negative correlation between leakage of cell substances and the rate of MDA in seeds. Total protein percent decreased from 36.5% (6 months of storage) to 33.5% and 31.5% (18 and 30 months of storage). Results revealed that seed deterioration rate after 30 months of storage was significantly higher as compared to its previous period. This finding shows that soybean seeds was storable for at least one crop season and the decrease in the seed quality and emergence problem will then be witnessed.

Keywords: Malondialdehyde; Protein; Seed Storing; Soluble Sugars; Soybean

How to cite this article

Sheidaei, S., Heidari Sharifabad, H., Hamidi, A., NoorMohammadi, Gh. and Moghadam, A. 2019. Impact of storage period of soybean seed on lipids peroxidation, soluble sugars, protein, electrical conductivity, quality characteristics and seedling emergence. Iranian Journal of Seed Science and Research, 5(4): 47-58. (In Persian)(Journal)

DOI: 10.22124/jms.2018.2945

COPYRIGHTS

Copyrights for this article are retained by the author(s) with publishing rights granted to the Iranian Journal of Seed Science and Research

The content of this article is distributed under Iranian Journal of Seed Science and Research open access policy and the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY4.0) License. For more information, please visit http://jms.guilan.ac.ir/

1. Ph.D Candidate of Agronomy, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2. Professor, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
3. Associate Research, Seed and Plant Certification and Registration Institute (SPCRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
4. Faculty member, Seed and Plant Improvement Institute (SPII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

*Corresponding author Email: saman_sheidaee@yahoo.com