



علوم و تحقیقات بذر ایران
سال پنجم / شماره دوم / ۱۳۹۷ (۲۱ - ۱۱)

DOI: 10.22124/jms.2018.2907

اثر پیری تسریع شده بر جوانه زنی، رشد گیاهچه و برخی ترکیبات آنتی اکسیدانی ژنوتیپ های جو

زهرا مرادیان^۱، سعیده ملکی فراهانی^{۲*}، علیرضا رضازاده^۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۲/۲۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۹/۲۳

چکیده

به منظور بررسی اثر پیری تسریع شده بر فعالیت ترکیبات آنتی اکسیدانی و شاخص های جوانه زنی جو آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی روی هشت ژنوتیپ بومی جو به همراه دو رقم شاهد به رخ و نصرت در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل پیر کردن بذر در دو سطح پیری و عدم پیری (شاهد) و عامل دوم شامل ده ژنوتیپ جو بود. درصد جوانه زنی پس از پیری در بیشتر ژنوتیپ ها کاهش یافت اما این کاهش نسبت به بذرهای پیر نشده معنی دار نبود. پیری تسریع شده به طور معنی داری سرعت جوانه زنی، طول ساقه چه، طول ریشه چه، غلظت رنگیزه های فتوسنتزی و فعالیت آنزیم کاتالاز را کاهش داد اما میانگین مدت زمان جوانه زنی و محتوای کل فنلی ژنوتیپ ها و دو رقم به رخ و نصرت پس از پیری افزایش یافت. ژنوتیپ شماره سه بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز را پس از پیری داشت. افزایش فنل در ژنوتیپ ها متفاوت بود به طوری که ژنوتیپ شماره هشت بیشترین محتوای فنل را قبل و بعد از پیری داشت. همچنین این ژنوتیپ نسبت به سایر ژنوتیپ ها کمتر تحت تأثیر پیری تسریع شده قرار گرفت به طور کلی ژنوتیپ هایی که محتوای فنلی و فعالیت آنزیمی بالایی داشتند از بنیه و سرعت جوانه زنی بالایی پس از پیری بذر برخوردار بودند.

واژه های کلیدی: آنزیم، پروتئین، جو، کاروتنوئید، کلروفیل a، محتوای کل فنلی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و تکنولوژی بذر، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۲- عضو هیئت علمی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

*نویسنده مسئول maleki@shahed.ac.ir

مقدمه

فرسودگی بذر پدیده‌ای فیزیولوژیک است که در دوره پس از برداشت در شرایط بالابودن دما، رطوبت، فشار اکسیژن و عوامل تأثیرگذار از جمله ژنتیک، وجود موجودات ذره‌بینی و رطوبت بذر به تدریج در محیط انبارداری آغاز می‌شود و موجب تخریب ساختار DNA و RNA ریوزومی، افزایش فعالیت آنزیمی، تنفس و نفوذپذیری غشاهای سلولی، کاهش قوه نامیه، بنیه بذر، استقرار گیاهچه و در نهایت کاهش عملکرد محصول می‌شود که در این میان رطوبت و دما و طول دوره نگهداری از مهم‌ترین این عوامل هستند (Amini and Hadad, 2013).

فرآیند فرسودگی بذر در سطح مولکولی، سلولی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیک با تغییرات ویژه در ساختمان سلول، افزایش تشکیل رادیکال‌های فعال اکسیژن، افزایش پراکسیداسیون لیپیدی، اختلال در فعالیت‌های تنفسی، تخلیه ذخائر غذایی، اختلال در سازوکارهای مسئول تحریک جوانه‌زنی و در نهایت کاهش درصد جوانه‌زنی و نمو بذر شناسایی می‌گردد (Hossenikhah, 2013). جهت درک بهتر فرآیندهای فرسودگی لازم است مکانیسم‌های تنظیم‌کننده میزان رادیکال‌های فعال اکسیژن در گیاهان بررسی گردد. پیری بذر باعث تجمع گونه‌های آسیب‌رسان فعال اکسیژن شده که منجر به پراکسیداسیون لیپید، تخریب ساختار RNA و پروتئین، و تغییر ساختار DNA در طول ذخیره‌سازی می‌شود (Fangshan et al., 2015). به‌طور کلی ترکیبات فعال بیوشیمیایی نقش مهمی در کاهش فرسودگی بذر دارند. ارقام مختلف از طریق فعال کردن سیستم آنتی‌اکسیدانی باعث کاهش پراکسیداسیون سلولی می‌شود (Tabatabai, 2014). گیاهان برای مقابله با آثار مخرب انواع اکسیژن فعال مجهز به سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی هستند. آنتی‌اکسیدان‌ها به دو گروه آنزیمی و غیرآنزیمی تقسیم می‌شوند. ترکیبات آنزیمی شامل آنزیم کاتالاز، گلوکاتایون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز می‌باشد و ترکیبات غیر آنزیمی شامل ترکیبات آب‌گریز از جمله توکوفرول، توکوتریونول و کاروتنوئیدها و ترکیبات آب‌دوست از جمله اسید آسکوربیک (ویتامین C)، گلوکاتایون و ترکیبات فنلی می‌باشد (Amini and Hadad, 2013).

تبدیل آنها به رادیکال آزاد جلوگیری می‌کند (Masoodian et al., 2014). رادیکال‌های فعال اکسیژن به طور مستقیم باعث تخریب پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه، اسیدهای نوکلئیک و پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی می‌شوند (Amini and Hadad, 2013). بررسی نحوه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به‌عنوان بخشی از سیستم دفاعی سلول، در درک بهتر فرآیندهایی که منجر به مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی می‌شوند، نقش مهمی دارد (Amini and Hadad, 2013).

محتوای ترکیبات فنلی بذر بستگی به شرایط آب و هوایی و روش‌های کشاورزی در کشت و برداشت، زمان برداشت، شرایط انبارداری و عوامل ژنتیکی مؤثر بر ارقام مختلف دارد. ترکیبات فنلی به مقدار فراوان در دانه‌های خشک حضور داشته و چندین نقش بر عهده دارند و در شرایط آزمایشگاهی این ترکیبات آنتی‌اکسیدان مؤثرتر از توکوفرول و اسید اسکوربیک هستند (2007 Pukacka and Ratajczak). به‌طور کلی ترکیبات فعال بیوشیمیایی نقش مهمی در کاهش فرسودگی بذر دارند. درصد سبز شدن بذرهای پنبه با افزایش در مدت پیری تسریع شده کاهش پیدا می‌کند به‌طوری که درصد سبز شدن از ۸۷ درصد در بذرهای شاهد به صفر درصد در بذرهایی که ۱۵ روز تسریع پیری شده بودند، رسید (Basra et al., 2003). در بذر پنبه (*Linum usitatissimum*) با افزایش زمان پیری تسریع شده درصد جوانه‌زنی کاهش می‌یابد (Basra et al., 2003). به‌طور معمول بذرهای زنده ماندن در شرایط مناسب، از زمان برداشت تا کاشت مجدد در انبار ذخیره می‌شوند. هرچه زمان نگهداری بذر با توجه به هدف نگهداری بیشتر باشد، هزینه آن بیشتر و درصد جوانه‌زنی کاهش می‌یابد. انتخاب ارقام مقاوم به شرایط نامساعد محیطی انبار می‌تواند مشکلات بقای بذر را حل کند و از هزینه اضافی جهت پایین نگه‌داشتن دما جلوگیری کند (Tabatabai, 2014). لذا این مطالعه با هدف بررسی پتانسیل انبارمانی ژنوتیپ‌های مختلف در شرایط تسریع شده انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر پیری تسریع شده بر جوانه‌زنی و فعالیت ترکیبات آنتی‌اکسیدان بذرهای جو، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر

جدول ۱- مشخصات ژنوتیپ‌های مورد بررسی

Table 1. The induces of investigated genotypes

شماره Number	شماره بانک ژن Gene Bank Number	محل جمع‌آوری Gathering location
1	71411	انگلستان England
2	71938	پاکستان Pakistan
3	72493	چین China
4	72493	چین China
5	72655	ایران Iran
6	72689	ایران Iran
7	72482	ایران- تربت جام Iran-Torbat Jam
8	72747	ایران Iran
9		بهرخ Behrokh
10		نصرت Nosrat

استخراج و سنجش میزان محتوای کل فنلی به‌عنوان
آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی

محتوی کل فنلی با استفاده از معرف فولین-سیوکالتیو ۱ بر اساس روش گائو و همکاران (Gao *et al.*, 2000) اندازه‌گیری شد. جهت تهیه عصاره ۰/۱ گرم بذر با ۱۰ سی‌سی متانول هم-وژنه شد و سپس در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد و به نیم میلی‌لیتر از هر عصاره (۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) نرمال، ۲/۵ میلی‌لیتر واکنش-گر فولینسی‌وکالتیو ۰/۲ نرمال اضافه شده، پس از ۵ دقیقه ۲ میلی‌لیتر از محلول ۷/۵ گرم بر لیتر کربنات سدیم به آن اضافه شد. جذب مخلوط ۹۰ دقیقه بعد در طول موج ۷۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در مقابل بلانک قرائت شد. اسید گال یک به‌عنوان استاندارد برای سم منحنی کالیبراسیون به کار می‌رود. میزان تامفنولیک بر اساس میزان معادل میلی‌گرم اسیدگال یک در گرم عصاره گزارش گردید. آزمایش‌ها ۳ بار تکرار و میانگین آن‌ها گزارش شد (Gao *et al.*, 2000).

استخراج و سنجش میزان کاتالاز به‌عنوان آنتی‌اکسیدان
آنزیمی

به‌منظور سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز از روش پیرا و همکاران (Pereira *et al.*, 2002) استفاده شد. بررسی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با مطالعه تغییرات جذب در طول ۲۴۰

دانشگاه شاهد در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل پیر کردن بذر در دو سطح پیری و عدم پیری (شاهد) و عامل دوم شامل ده ژنوتیپ جو بود که ارقام جو به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. ژنوتیپ‌های مورد مطالعه توده-های بومی جو دریافتی از بانک ژن ملی ایران شامل نمونه‌های خارجی و داخلی بودند که طی سه سال در مؤسسه تحقیقات دیم کشور خالص‌سازی شده بودند و ارقام به‌رخ و نصرت نیز به عنوان شاهد مورد بررسی قرار گرفتند (جدول ۱). به‌منظور پیر نمودن، از آزمون پیری تسریع‌شده استفاده شد (ISTA, 2008). البته این آزمون در ابتدا برای سویا معرفی شد ولی نتایج تحقیقات بعدی نشان داد که برای محصولاتی از قبیل پنبه، ذرت و جو نیز می‌تواند استفاده شود (MalekiFarahani and Chaichi, 2012). بدین‌منظور، بذرهای هر ژنوتیپ بر روی صفحات مشبک استیل در ظرف‌های شیشه‌ای حاوی ۲۰۰ سی-سی آب مقطر قرار گرفت. درب ظرف‌ها بسته شد و سپس بذرها در آون با دمای ۵/۰ ± ۴۰ به مدت ۷۲ ساعت قرار گرفتند.

پس از پیر نمودن بذرها آزمون جوانه‌زنی و رشد گیاهچه انجام شد. در این آزمون درصد، سرعت، میانگین مدت زمان جوانه‌زنی اندازه‌گیری شد. به‌همین منظور ۲۵ عدد بذر ضدعفونی شده از هر ژنوتیپ در سه تکرار روی کاغذ واتمن با فواصل مناسب قرار گرفت. سپس پتری‌ها به داخل ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انتقال یافت. با شروع جوانه‌زنی در هر روز در ساعت مشخصی بذر جوانه‌زده شمارش شد. معیار جوانه‌زنی خروج ریشه‌چه به اندازه دو میلی‌متر در نظر گرفته شد. درصد، سرعت جوانه‌زنی توسط برنامه Germin محاسبه شد (Soltani and Maddah, 2010). این برنامه D₅₀ (یعنی مدت زمانی که طول می‌کشد تا جوانه‌زنی به ۵۰ درصد حداکثر خود برسد) را از طریق درون‌یابی منحنی افزایش جوانه‌زنی در مقابل زمان محاسبه می‌کند. همچنین، سرعت جوانه‌زنی در این برنامه از طریق معکوس زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی محاسبه می‌شود. بعد از اتمام مدت زمان جوانه‌زنی (هفت روز) نمونه‌ها از ژرمیناتور خارج و صفات مربوط به رشد گیاهچه اندازه‌گیری شد. قابل ذکر است قبل از این‌که لاین‌های خالص و دو رقم به‌رخ و نصرت در شرایط پیری قرار گیرند آزمون ارزیابی قابلیت جوانه‌زنی اولیه روی آنها انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان می‌دهد که اثر پیری بذر، ژنوتیپ و اثر متقابل آنها بر تمامی صفات به جز درصد جوانه‌زنی معنی‌دار بود (جدول ۲).

درصد جوانه‌زنی

نتایج جدول مقایسه میانگین در مورد درصد جوانه‌زنی نشان داد، اگرچه درصد جوانه‌زنی در بذره‌های پیرشده نسبت به بذره‌های پیرنشده کاهش یافت ولی این کاهش معنی‌دار نبود (جدول ۳).

سرعت جوانه‌زنی

قبل از این‌که بذرها در معرض پیری قرار بگیرند از نظر سرعت جوانه‌زنی تفاوت معنی‌داری بین لاین‌ها وجود نداشت اما بعد از سه روز پیری بیشترین سرعت جوانه‌زنی مربوط به ژنوتیپ‌های شماره ۳، ۷، ۴ و ۸ بود. پایین‌ترین سرعت جوانه‌زنی در ژنوتیپ‌های شماره ۲، ۵، ۶ و رقم به‌رخ مشاهده شد. نتایج نشان داد روند و پاسخ ژنوتیپ‌ها به تیمار پیری‌زودرس یکسان نبوده است. کاهش سرعت جوانه‌زنی در اثر پیری تسریع‌شده احتمالاً به دلیل وقفه‌ای است که برای جذب آب در بذره‌های پیر شده ایجاد می‌شود. بنابراین میانگین مدت زمان لازم برای تکمیل فرایند جوانه‌زنی در بذره‌های زوال‌یافته افزایش می‌یابد که نتیجه آن کاهش سرعت جوانه‌زنی است (Bailly *et al.*, 2000).

میانگین مدت زمان جوانه‌زنی

نتایج مقایسه میانگین لاین‌های خالص و دو رقم به‌رخ و نصرت نشان داد، ژنوتیپ‌ها قبل از این‌که تحت پیری قرار بگیرند میانگین مدت زمان جوانه‌زنی‌شان نسبت به تیمار پیری کمتر بود به طوری که رقم به‌رخ بالاترین میانگین را به خود اختصاص داد. ژنوتیپ‌های ۳، ۴، ۷ و ۸ بعد از اعمال پیری در مدت زمان کمتری جوانه‌زنی خود را کامل کردند. به طور کلی پیری باعث افزایش میانگین مدت زمان جوانه‌زنی در تمام ژنوتیپ‌ها شد اما این افزایش در ژنوتیپ ۷ و ۸ معنی‌دار نبود. در این تحقیق افزایش میانگین مدت زمان جوانه‌زنی در بذره‌های پیر باعث کاهش سرعت جوانه‌زنی شد که با نتایج بیلی و همکاران (Balliv *et al.*, 2000) مطابقت دارد.

نانومتر انجام شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم $\text{pH} = 7.5$ صد میلی‌مولار و آب اکسیژنه ۲۵ میلی‌مولار می‌باشد. فرآیند با افزودن ۰/۱ از عصاره خام به مخلوط واکنش آغاز شد. بلافاصله پس از افزودن عصاره آنزیمی به مخلوط فرآیند، کاهش جذب در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در ۴۰ نانومتر به مدت یک دقیقه به وسیله اسپکتروفتومتر ثبت شد. میزان فعالیت ویژه آنزیم برحسب میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد.

اندازه‌گیری مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدهای گیاهچه

نیم گرم برگ را در هاون چینی ریخته، سپس با استفاده از استون آن را خرد کرده ۲۰ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد به نمونه اضافه، سپس در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. عصاره جدا شده فوقانی حاصل از سانتریفیوژ را در کووت اسپکتروفتومتر ریخته و سپس به‌طور جداگانه در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a و ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b و ۴۷۰ برای کاروتنوئیدها مقدار جذب قرائت شد. در نهایت با استفاده از فرمول‌های زیر میزان کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه به دست آمد (Arton, 1949).

$$\begin{aligned} \text{Chlorophyll a} &= (19.3 * A663 - 0.86 * A645) V/100W \\ \text{Chlorophyll b} &= (19.3 * A645 - 3.6 * A663) V/100W \\ \text{Carotenoides} &= 100(A470) - 3.27(\text{mg chl. a}) - 104(\text{mg chl. b})/227 \end{aligned}$$

$V =$ حجم محلول صاف شده (محلول فوقانی حاصل از سانتریفیوژ)، $A =$ جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر، $W =$ وزن تر نمونه بر حسب گرم.

محاسبات آماری

داده‌های جوانه‌زنی با برنامه Germin جهت تعیین درصد، سرعت و میانگین مدت زمان جوانه‌زنی مورد پردازش قرار گرفتند. سپس داده‌های آزمایش‌ها توسط نرم‌افزارهای آماری SAS (نسخه ۹،۱،۳) مورد تجزیه واریانس قرار گرفتند و مقایسات میانگین با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر پیری تسریع شده بر شاخص‌های جوانه‌زنی ژنوتیپ‌های جو

Table 2. Analysis of variance of aging on germination indices of barley genotypes

منابع تغییرات S.V	درصد جوانه-زنی Germination Percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	میانگین مدت زمان جوانه‌زنی Mean germination time	طول ریشه‌چه Shoot length	طول ریشه‌چه Radicle length	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کاروتنوئید Carotenoid	محتوای کل فنلی Total phenolic content	کاتالاز Catalase
ژنوتیپ Genotype	11.85 ^{ns}	0.00006**	4.02 ^s	3.17**	9.80**	11.66**	64.71**	17.17**	627512**	0.11**
پیری Aging	2.81 ^{ns}	0.06**	91.58**	0.26**	9.58**	3.55**	0.36**	0.08**	1828424796/6**	1.47**
ژنوتیپ*پیری Genotype* Aging	3.26 ^{ns}	0.00005**	1.43**	2.15**	1.24**	3.55**	4.32**	0.72**	10667917978**	0.05**
خطا Error	12.53	0.000004	0.39	0.5291	1.24	3.90	0.98	0.38	80366045.47**	0.0009
ضریب تغییرات CV	3.61	4.90	4.41	12.87	16.82	13.94	15.41	16.18	3.72	6.66

ns, ** و * به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

Not significant, *and **significant at 5 and 1%

طول ساقه‌چه

نتایج مقایسه میانگین نشان داد با اعمال پیری، طول ساقه-چه در مقایسه با شاهد در بین ژنوتیپ‌های ۲، ۵، ۶، رقم به‌رخ و نصرت کاهش یافت که با نتایج توکل‌افشاری و همکاران (Afshahri *et al.*, 2007) مطابقت دارد. نتایج برخی بررسی‌ها حاکی از کاهش طول ساقه‌چه به‌واسطه پیری بوده است (Tahmasebi *et al.*, 2015). با پیر شدن بذرها طول ساقه‌چه در ژنوتیپ‌های شماره ۱، ۳، ۴، ۷، ۸ همچنان در سطح بالا باقی ماند و تفاوت معنی‌داری در مقایسه با شاهد از خود نشان نداد. اصولاً علت کاهش طول ساقه‌چه در ژنوتیپ‌های ۲، ۵، ۶، رقم به‌رخ، نصرت و ثابت بودن طول ساقه‌چه در ژنوتیپ‌های ۱، ۳، ۴، ۷ و کاهش کم طول ساقه‌چه در ژنوتیپ ۸ را می‌توان به واکنش‌های متفاوت لاین‌های مورد بررسی نسبت داد که این موضوع به دلیل تفاوت ذاتی (ژنتیکی) در ذخایر بذری بین لاین‌ها می‌باشد.

طول ریشه‌چه

روند تغییرات طول ریشه‌چه متأثر از ژنوتیپ‌های مورد آزمایش قبل و بعد از اعمال پیری نشان داد که ژنوتیپ شماره ۶ قبل از پیر شدن طول ریشه‌چه بسیار کمی را به خود اختصاص داد (جدول ۲). ژنوتیپ‌های شماره ۳، ۴، ۷ و ۸ پس از کشت در محیط نرمال طول ریشه‌چه بیشتری را به خود اختصاص دادند، زمانی که این ژنوتیپ‌ها پیر شدند به جز ژنوتیپ ۴، ۷ و ۸ که تفاوت چندانی با شاهد پیر نشده نداشتند بقیه ژنوتیپ‌ها نسبت به شاهد طول ریشه‌چه کمتری داشتند. ژنوتیپ ۲ با کمترین

طول ریشه‌چه در مرتبه آخر قرار گرفت. در آزمایشی روی زوال بذر نخود ایرانی نشان داده بودند، تنش پیری باعث کاهش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه می‌گردد (Jatoi *et al.*, 2001) که با نتایج به دست آمده در این آزمایش مطابقت دارد.

رنگیزه‌های فتوسنتزی

پیری به‌مدت سه روز کاهش در مقادیر کلروفیل a را موجب شد (جدول ۲). کلروفیل a در ژنوتیپ ۷ بعد از فرسودگی نسبت به ژنوتیپ‌های پیر شده دیگر در بالاترین حد قرار داشت. ژنوتیپ شماره ۲ مقدار کلروفیل a بسیار کمی را به خود در مقابل ژنوتیپ‌های پیر شده دیگر اختصاص داد. کاهش محتوای کلروفیلی در شرایط تنش‌هایی مانند پیری تسریع شده ناشی از افزایش سرعت تخریب این رنگیزه‌ها یا کاهش سنتز آن‌ها به علت اختلال در فعالیت آنزیم‌ها می‌باشد (Volti *et al.*, 1998). کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی در این تحقیق به دلیل کاهش عوامل لازم جهت سنتز کلروفیل و تخریب ساختمان آن می‌باشد (Ahmad Mousavi *et al.*, 2015). مقایسه میانگین اثر متقابل پیری و ژنوتیپ برای ویژگی کلروفیل b مشخص کرد که همه ژنوتیپ‌ها به جز ژنوتیپ ۷ که با وجود پیری بذر بنیه آن حفظ شده کاهش بیشتری را در صفت کلروفیل b از خود نشان دادند. کمترین مقدار کلروفیل b مربوط به ژنوتیپ ۱ بعد از پیر شدن بود. کاهش کلروفیل طی مراحل پیری در سایر گونه‌های گیاهی نیز گزارش شده است (Buchanan-Wollaston *et al.*,)

مرحله رشدی گیاهچه احتمالاً" برای نگهداری کاروتنوئید در حد اشباع جهت دفع رادیکال‌های آزاد تولید شده در خلال تجزیه کلروفیل بوده است. نتایج مطالعه سایر محققان نشان داد در اوایل دوران پیری کاهش معنی‌داری در مقدار کاروتنوئیدها مشاهده نگردید اما در اواخر پیری میزان آن‌ها به شدت کاهش یافت (Munne-Bosch *et al.*, 2003).

2003). قبل از این‌که بذرها در معرض پیری قرار بگیرند ژنوتیپ‌های ۴ و ۵ از نظر صفت کاروتنوئید در بالاترین حد قرار داشتند و بعد از پیری به یک اندازه کاهش نشان دادند، همچنین ژنوتیپ ۷، ۸ و سپس ژنوتیپ ۶ در مرتبه بعد قرار گرفتند. ژنوتیپ ۱ کمترین میزان کاروتنوئید را دارا بود. ژنوتیپ ۳ و ۷ هم از نظر صفت کاروتنوئید در یک گروه قرار گرفتند. کاروتنوئید ژنوتیپ‌های ۱، ۲ و رقم به‌رخ به ترتیب بعد از پیری کاهش یافت. روند دیده شده در کاهش میزان کاروتنوئید در

جدول ۳- مقایسه میانگین برهمکنش پیری و ژنوتیپ در صفات مورد اندازه‌گیری

Table 3. Mean comparison the interaction effect of seed aging and genotype on measured characteristics

پیری تسریع شده Accelerated aging	ژنوتیپ Genotype	درصد جوانه‌زنی Germination (%)	سرعت جوانه‌زنی (1/ساعت) Germination Rate (1/hour)	میانگین مدت زمان جوانه‌زنی Mean (ساعت) germination time (hour)	طول ساقچه (سانتی‌متر) Shoot length (cm)	طول ریشه‌چه (سانتیمتر) Radicle length a (cm)	کلروفیل (میلی گرم بر گرم) Chlorophyll a (mg/gr)	کلروفیل (میلی گرم بر گرم) Chlorophyll b (mg/gr)	کاروتنوئید (میلی‌گرم بر گرم) Carotenoid (mg/gr)
پیر نشده Non aged	1	97.33 ^a	0.066667 ^a	12.62 ^{cd}	5.88 ^{ab}	6.8 ^{abcde}	14.3533 ^{cd}	4.5967 ^{efg}	1.7432 ^{defg}
	2	100 ^a	0.066667 ^a	12 ^d	5.8533 ^{ab}	7.84 ^{abcd}	13.9195 ^{de}	5.1581 ^e	2.2618 ^d
	3	100 ^a	0.07 ^a	12 ^d	6.94 ^a	8.3767 ^a	17.0746 ^a	9.9801 ^b	3.3191 ^{bc}
	4	100 ^a	0.066667 ^a	12 ^d	6.18 ^{ab}	8.42 ^a	17.598 ^a	11.7151 ^a	4.3233 ^a
	5	98.66 ^a	0.066333 ^a	12.74 ^{cd}	5.64 ^{bcd}	6.51 ^{abcde}	15.3902 ^{bc}	6.2702 ^d	4.0583 ^a
	6	94.66 ^a	0.067 ^a	12.4433 ^{cd}	5.1667 ^{bcd}	4.94 ^{ef}	15.4141 ^{bc}	6.5132 ^j	3.44 ^{abc}
	7	100 ^a	0.07116 ^a	12 ^d	6.18 ^{ab}	8.42 ^a	17.642 ^a	7.7502 ^c	4.0518 ^{ab}
	8	100 ^a	0.07133 ^a	12.63 ^{cd}	6.18 ^{ab}	8.23 ^{ab}	16.4987 ^{ab}	7.6039 ^c	3.6474 ^{ab}
	9	97.33 ^a	0.067667 ^a	13.33 ^c	6 ^{bab}	6.73 ^{cde}	15.5713 ^{bc}	5.218 ^e	2.5634 ^{cd}
	10	97.33 ^a	0.067 ^a	12.67 ^{cd}	5.92 ^{ab}	5.72 ^{de}	14.615 ^{cd}	6.4612 ^d	2.6318 ^{cd}
پیر شده Aged	1	98.33 ^a	0.043333 ^b	15.8633 ^{ab}	5 ^{bc}	3.3667 ^{fg}	10.18 ^{fg}	2.3933 ^j	0.94 ^g
	2	98.66 ^a	0.05 ^c	15.8333 ^{ab}	4.7267 ^{cdef}	2.8033 ^g	10.4567 ^g	3.554 ^{hi}	1.0267 ^{fg}
	3	98.33 ^a	0.067333 ^a	13.1267 ^c	5.88 ^{ab}	5.73 ^{de}	14.7267 ^{cd}	4.7537 ^{ef}	1.8767 ^{def}
	4	95 ^a	0.067 ^a	13.1667 ^c	6 ^{ab}	8.2667 ^{ab}	14.7433 ^{cd}	10.0629 ^b	2.1367 ^{de}
	5	98.33 ^a	0.05 ^c	16.0533 ^{ab}	4.7267 ^{cdef}	6 ^{cde}	11 ^{fg}	3.3757 ^{hi}	2.12 ^{de}
	6	97.33 ^a	0.055333 ^{bc}	16.5433 ^a	3.8567 ^{bcd}	3.1667 ^{fg}	11.333 ^f	3.3406 ^{hi}	3.2433 ^{bc}
	7	95 ^a	0.06 ^a	13.1167 ^{cd}	6.2867 ^{ab}	7.62 ^{abcde}	15.6667 ^{bc}	7.75 ^c	1.9533 ^{def}
	8	100 ^a	0.072 ^a	13.05 ^{cd}	5.5667 ^{bcd}	8 ^{abc}	14.7267 ^{cd}	5.2118 ^e	1.82 ^{defg}
	9	95.33 ^a	0.049 ^{cd}	15.2567 ^b	4.4867 ^{efg}	6.1933 ^{abcde}	13 ^{de}	2.613 ^{ij}	1.3067 ^{efg}
	10	95 ^a	0.057 ^b	15.8733 ^{ab}	4.5767 ^{defg}	6.2633 ^{bcd}	10.2867 ^{fg}	2.8035 ^{hi}	1.8033 ^{defg}

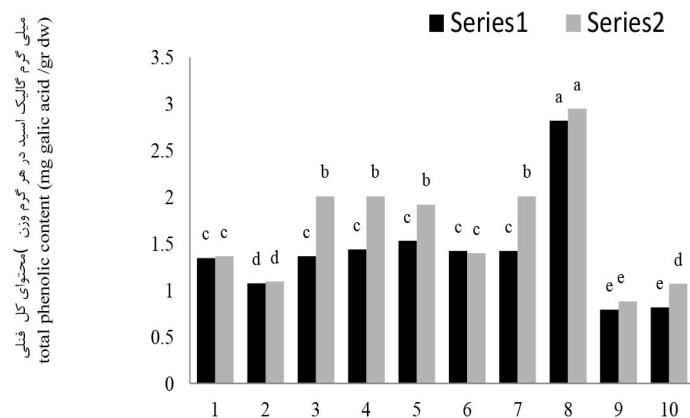
میزان فنل در ژنوتیپ ۸ بیشترین بود. انتظار می‌رود که این تفاوت به قابلیت ژنوتیپ برای سنتز این ترکیبات در شرایط نامساعد فیزیولوژیکی مربوط باشد. همچنین، ژنوتیپ‌هایی که مقدار فنل آنها طی پیری ثابت‌تر است یا مقدار پلی فنل بیشتری دارند، مقاوم‌تر هستند (Masoodian *et al.*, 2013). قدرت بذر تحت تأثیر پیری و زوال بذر می‌باشد و در پی آن شاخص‌های

محتوای کل فنلی

نتایج مقایسه میانگین میزان ترکیبات فنلی بذر قبل و بعد از پیری نشان داد که در تمامی ژنوتیپ‌ها به جز ژنوتیپ ۶، میزان فنل کل بذر بعد از پیری افزایش یافت (شکل ۱). این افزایش در ژنوتیپ‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ رقم به‌رخ و نصرت معنی‌دار نبود، اما در ژنوتیپ‌های ۳، ۴ و ۵ این افزایش معنی‌دار بود. در بین ژنوتیپ‌ها،

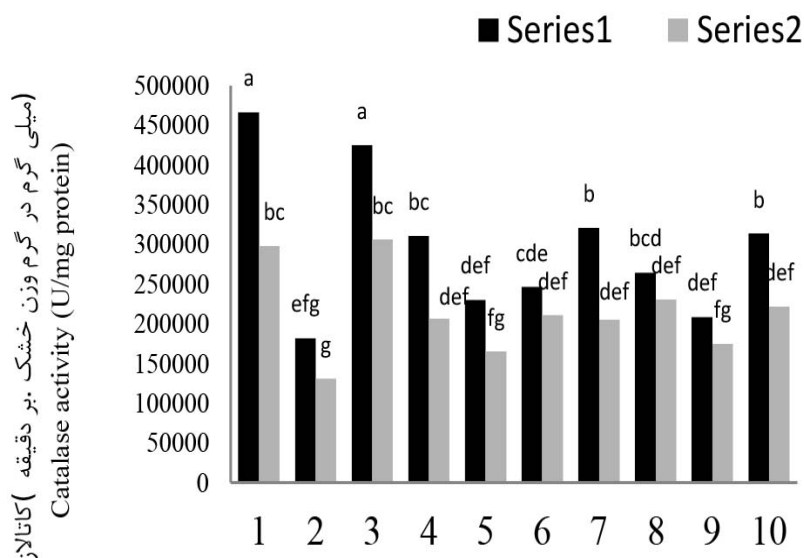
مؤثر بر قدرت ذخیره‌سازی ترکیبات فنلی بود که یک سازوکار دفاعی در ارقام مقاوم است. محققان در این زمینه اظهار داشتند که زوال ناشی از تست پیری تسریع‌شده باعث افزایش سطوح فنل می‌شود که این افزایش در ژنوتیپ‌های مختلف متفاوت است (Lachman *et al.*, 2003).

جوانه‌زنی کاهش می‌یابد. طی بررسی‌هایی که نگال و همکاران (Negal *et al.*, 2009) انجام دادند، تنوع ژنتیکی فراوانی بین ژنوتیپ‌های جو خارجی مشاهده شد و این گونه‌ها تفاوت معنی‌داری در قدرت جوانه‌زنی داشتند. نتایج این مطالعه نشان داد که در بین توده‌های داخلی جو نیز چنین تنوعی به لحاظ قدرت انبارداری و ذخیره‌سازی بذر وجود دارد و یکی از مکانیزم‌های



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و پیری بر محتوای کل فنولی

Figure 1. Mean comparison of the interaction effect of genotype and aging on total phenolic content



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ جو و پیری بر فعالیت ویژه کاتالاز

Figure 2. Mean comparison of the interaction effect of genotype and aging on catalase specific activity

جدول ۳- ضرایب همبستگی ساده بین صفات
Table 3. Simple correlation coefficients among characteristics

صفات characteristics	1	2	3	4	5	6	7	8	9
درصد جوانه‌زنی 1- Germination percentage	1								
سرعت جوانه‌زنی 2- Germination rate	0.89174**	1							
میانگین مدت زمان جوانه‌زنی 3- Mean germination time	0.51915**	0.45474**	1						
یکنواختگی جوانه‌زنی 4- Germination invariable	0.85657**	0.86069**	0.46848**	1					
طول ساقه‌چه 5- Shoot length	0.88087**	0.88747**	0.48471**	0.93507**	1				
طول ریشه‌چه 6- Radicle length	0.87045**	0.87132**	0.50638**	0.92833**	0.96659**	1			
طول گیاهچه 7- Seedling length	0.88234**	0.88577**	0.50097**	0.93906**	0.98950**	0.99349**	1		
محتوای کل فنلی 8- Total phenolic content	0.44519**	0.48521**	0.25488**	0.42403**	0.41251**	0.44987**	0.43702**	1	
کاتالاز 9- Catalase	0.38942**	0.29564**	0.30135**	0.22107**	0.19846**	0.19700**	0.19929**	0.25207**	1

کاتالاز

محققان در گندم، سویا، جو و همچنین در چاودار نشان داده است که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در تیمار پیری تسریع شده به علت افزایش رادیکال‌های آزاد کاهش یافته است (Godrzian et al., 2013; Ansari and Sharif) (Zade, 2013; Buchvarov and Gantcheff, 1984).
زمان پرایمینگ تحت شرایط تنش شوری، جوانه‌زنی را نسبت به بذرهای پرایم نشده افزایش داد (شکل ۱) که با توجه به این نتایج پژوهش‌های جوکار و همکاران (2012) (Jowkar et al., در بررسی تأثیر زمان پرایمینگ بر جوانه‌زنی بذرهای *Silybum marianum* تحت تنش شوری نشان داد که ۱۲ ساعت پرایمینگ بذرهای این گیاه در شرایط تنش شوری (۲- بار) باعث افزایش جوانه‌زنی نسبت به بذرهای بدون پرایم شد. بین میانگین مدت زمان جوانه‌زنی (**۰/۴۶۸۴۸) و سرعت جوانه‌زنی (**۰/۸۶۰۶۹) نیز همبستگی مثبت مشاهده گردید (جدول ۳). به نظر می‌رسد با توجه به این نتایج محتوای کل فنلی شاخص خوبی برای ارزیابی سریع درصد و سرعت جوانه‌زنی در بذرهای پیر شده باشد، از طرفی دیگر ژنوتیپ‌هایی که فعالیت آنزیم آنتی-اکسیدان کاتالاز در آنها بالاتر بود، پاسخ بهتری در مقابله با

فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان کاتالاز به‌عنوان یکی از آنزیم‌های مهم در جوانه‌زنی جو (Tavakolafshari et al., 2007) در ژنوتیپ‌های مختلف جو در شرایط پیری تسریع شده مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تجزیه واریانس آنزیم کاتالاز نشان داد که اثر متقابل پیری و ژنوتیپ در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار است (جدول ۱). میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در هر ده ژنوتیپ در تیمار بدون پیری بیشتر از تیمار پیری زودرس بود و میزان فعالیت آنزیم در ژنوتیپ‌های ۱، ۳، ۴، ۷ و ۸ بیشتر از ژنوتیپ‌های ۲، ۵، ۶ و ۹ بود (شکل ۲). نتایج نشان داد پیری زودرس باعث کاهش فعالیت آنزیم می‌شود. واکنش ژنوتیپ‌های ۱ و ۳ نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها کمتر بود. ژنوتیپ‌های ۴، ۶، ۷، ۸ و رقم نصرت تفاوت معنی‌داری از نظر حفظ آنزیم کاتالاز طی پیری با هم نداشتند. بیشترین کاهش فعالیت آنزیم در ژنوتیپ ۲ مشاهده شد. مشاهدات انجام شده در گونه‌های مختلف نشان داده است که تنش اکسیداتیو همزمان با سن بذر با کاهش اثربخشی دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیم کاتالاز، رادیکال‌های آزاد پیری را افزایش می‌دهد (Kibinza et al., 2011). یافته‌های

رادیکال‌های آزاد داشتند و از نظر شاخص‌های جوانه‌زنی بالاتر بودند.

نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی اثر پیری تسریع شده بر ژنوتیپ‌های مورد بررسی جو متفاوت و بین ژنوتیپ‌ها نیز از لحاظ قدرت انبارمانی و ذخیره‌سازی تنوع وجود داشت و احتمالاً یکی از مکانیزم‌های مؤثر بر قدرت ذخیره‌سازی، ترکیبات فنلی بود که یک سازوکار دفاعی در ارقام متحمل به شرایط نامساعد انبار است. از بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی ژنوتیپ‌های ۳، ۴، ۷ و ۸ پتانسیل انبارداری و قدرت جوانه‌زنی بالایی از خود

نشان دادند. به‌طور کلی پیری تسریع‌شده فعالیت آنزیم را در تمامی ژنوتیپ‌ها کاهش داد و ژنوتیپ ۳ بیشترین فعالیت کاتالاز را پس از پیری داشت. محتوای کل فنلی بعد از اعمال پیری افزایش از خود نشان داد که این افزایش در بین ژنوتیپ‌ها متفاوت بود و ژنوتیپ ۸ بیشترین محتوای فنل را قبل و بعد از پیری داشت. همچنین این ژنوتیپ نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها کمتر تحت تأثیر پیری تسریع‌شده قرار گرفت. ژنوتیپ‌های ۳ و ۸، پس از پیری دارای فعالیت آنتی-اکسیدانی بالایی بودند لذا می‌توان از این ژنوتیپ‌ها در برنامه‌های اصلاحی تولید بذرهای با پتانسیل بالای انبارداری استفاده کرد.

منابع

- Ahmadi Mousavi, E. S., Manuchehri Chalantari, Kh. and Torkzadeh, M. 2005. Effects of Brasynvyd (24-epilbrassinolide), concentration of lipid peroxidation, proline, sugar and photosynthetic pigments in canola (*Brassica napus* L.) under water stress conditions. *Iranian Journal of Biology*, 18: (4). (In Persian)(**Journal**)
- Amini, Z. and Haddad, R. 2013. The role of photosynthetic pigments and antioxidant enzymes against oxidative stress. *Iranian Journal of Biology*, 26: (3). (In Persian)(**Journal**)
- Ansari, O. and Sharif Zadeh, F. 2012. Slow moisture content reduction (SMCR) can improve some seed germination indexes in primed seeds of Mountain Rye (*Secale montanum*) under accelerated aging conditions. *Journal of Seed Science and Technology*, 3(2): 68-76. (**Journal**)
- Arton, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24: 1-15. (**Journal**)
- Bailly, C., Benamar, A., Corbineau, C. and Côme, C. 2000. Antioxidant systems in sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds as affected by priming. *Seed Science and Technology*, 10: 35-42. (**Journal**)
- Basra, S. M. A., Ahmad, N., Khan, M. M., Iqbal, N. and Cheema, M. A. 2003. Assessment of cotton seed deterioration during accelerate. *Seed Science and Technology*, 31: 531-540. (**Journal**)
- Buchvarov, P. and Gantcheff, T. S. 1984. Influence of accelerated and natural aging on free radical levels in soybean seeds. *Physiology Plantarum*, 60: 53-56. (**Journal**)
- Fangshan X., Xianguo W., Manli, L. and Peisheng, M. 2015. Mitochondrial structural and antioxidant system responses to aging in oat (*Avena sativa* L.) seeds with different moisture contents. *Plant Physiology and Biochemistry*, 94: 122-129. (**Journal**)
- Godarzian, M., Ghasemi, E., Mansouri Far, S., Saidi, M. and Heidary, Z. 2014. The effect of accelerated aging on germination indices and antioxidant enzyme activities in different hybrids of maize embryos. *Iranian Journal of Seed Science and Research*, 4(2): 38-44. (In Persian)(**Journal**)
- Hossenikhah, F., Parsa, S., Tavakol Afshari, R. and Esmaeili, A. 2013. Effect of ascorbic acid (vitamin C) and alpha-tocopherol (vitamin E) on the decay process two sesame seed (*Sesamum indicum*). *Iranian Journal of Seed Science and Technology*, 2(1): 83-100. (In Persian)(**Journal**)
- ISTA. 2008. International rules for seed testing. International Seed Testing Association. Bassersdorf. (**Handbook**)
- Jatoi, S. A., Afzal, M., Nasim, S. and Anwar, R. 2001. Seed deterioration study in pea, using accelerated aging techniques. *Pakistan Journal of Biological Science*, 4: 1490-1494. (**Journal**)

- Kibinza, S., Vinel, D., Côme, D., Bailly, C. and Corbineau, F. 2011. Sunflower seed deterioration as related to moisture content during ageing, energy metabolism and active oxygen species scavenging. *Physiologia Plantarum*, 128: 496–506. **(Journal)**
- Lachman, J., Dudjak, J., Oršuk, M. and Pivec, V. 2003. Effect of accelerated ageing on the content and composition of polyphenolic complex of wheat (*Triticum aestivum* L.) grains. *Plant Soil Environment*, 1(1): 1-7. **(Journal)**
- Malekifarhahi, S. and Chaichi, R. 2012. Barley seed storability as affected by water deficit and fertilizing during grain development. *International Journal of Agriculture*, 2(3): 115-124. **(Journal)**
- Masoudian, Z., Noraste Nia, A. and Falakrou, K. 2014. Study on drought resistance in selected clone's tea (*Camellia sinensis* L.). *Iranian Journal of Biology*, 6 (20): 155-170. (In Persian)**(Journal)**
- Munne-Bosch, S. Jubany-Mari, T. and Alegre, L. 200). Drought-induced senescence is characterized by a loss of antioxidant defences in chloroplasts. *Plant Cell and Environmental*, 24: 1319-1327. **(Journal)**
- Nagel, M., Vogel, M., Landjeva, H., Buck-Sorlin, S., Lohwasser, G., Scholz U. and Borner, A. 2009. Seed conservation in ex situ genebanks genetic studies on longevity barley. *Euphytica*, 170: 5–14. **(Journal)**
- Pereira, Ch. 2002. Configuring global, national, and local in governance agendas and women's struggles in Nigeria. *Social Research*, 69(3): 781-804. **(Journal)**
- Pukacka, S. and Ratajczak, E. 2007. Age-related biochemical changes during storage of beech (*Fagus sylvatica* L.) seeds. *Seed Science Research*, 17: 45–53. **(Journal)**
- Soltani, A. and Maddah, V. 2010. Simple applied programs for education and research in Agronomy. Issa Press, Iran. 80p. **(Book)**
- Tabatabai, S. A. 2014. Coefficients viability of barley seeds under different conditions Storage. *Iranian Journal of Seed Science and Research*, 20: 2-13. (In Persian)**(Journal)**
- Tavakol Afshari, R., Rashidi, S. and Alizadeh, H. 2007. Effect on germination vigor and activity of catalase and peroxidase in the early stages of germination in two cultivars of canola. (*Brassica napus* L.). *Iranian Journal of Field Crop Science*, 8(2): 83-100. (In Persian)**(Journal)**
- Volti, S. R., Singh, V. P. and Uprety, P. C. 1998. Chlorophyll and proline as affected by moisture stress in young and mature leaf tissues of *Brassica carinata* hybrids and their plants. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 180(2): 123-126. **(Journal)**



The effect of accelerated aging on germination, seedling growth and some antioxidant compounds in barley genotypes

Zahra Moradian¹, Saeideh Maleki Farahani^{*2}, AliReza RezaZadeh³

Received: December 13, 2016

Accepted: March 13, 2017

Abstract

In order to evaluate the effect of accelerated aging on antioxidant compounds and germination indices of barley, an experiment was conducted as factorial in a completely randomized design on eight native barley genotypes and two barley variety Behrokh and Nosrat with three replications. The first factor was seed aging at two levels including aging and non-aging as control and the second factor was ten barley genotypes that the varieties were as control. Germination percentage of the most genotypes decreased after aging although it has not significant difference with non-aged seed. The results showed that accelerated ageing decreased significantly germination rate, shoot length and root length, concentration of photosynthetic pigments and catalase (CAT) activity. However mean germination time and total phenol content of genotypes and Behrokh and Nosrat varieties increased significantly after seed aging. Genotype 3 had the highest enzyme CAT activity after ageing. Increment of phenol content was different among the genotypes and genotype 8 had the highest phenol content before and after aging rather than the other genotypes and it affected less than the other genotypes by accelerated ageing. Totally the results of this study indicated that genotypes that initially had high phenolic content and enzymatic activity also had vigor and germination rate after seed aging.

Keywords: Carotenoids; Chlorophyll a; Enzyme; *Hordeum*; Proteins; Total phenolic content

How to cite this article

Moradian, Z., Maleki Farahani, S. and RezaZadeh, A. 2018. The effect of accelerated aging on germination, seedling growth and some antioxidant compounds in barley genotypes. Iranian Journal of Seed Science and Research, 5(2): 11-21. (In Persian)(Journal)

DOI: [10.22124/jms.2018.2907](https://doi.org/10.22124/jms.2018.2907)

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- MSc Student of Seed Science and Technology, College of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran

2- Faculty member, College of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran

*Corresponding author Email: maleki@shahed.ac.ir