



علوم و تحقیقات بذر ایران

سال ششم / شماره دوم / ۱۳۹۸ (۲۰۱ - ۱۸۹)

DOI: 10.22124/jms.2019.3599

## تأثیر تیمارهای بذری بر تغییرات محصولات آمادوری - میلارد و بنیه بذر جو (*Hordeum vulgare* L.) بعد از ۸ ماه انبارداری

لیلا یاری<sup>۱\*</sup>، محمد صدقی<sup>۲</sup>، آیدین حمیدی<sup>۳</sup>، رئوف سید شریفی<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۵/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۲۱

### چکیده

آزمایشی به صورت فاکتوریل دوعاملی با طرح پایه کاملاً تصادفی طی دو سال بر بنیه بذر جو (*Hordeum vulgare* L.) رقم یوسف بعد از ۸ ماه انبارداری انجام گردید، فاکتورهای مورد آزمایش شامل رطوبت بذر در زمان برداشت در سه سطح (۱۴، ۱۶ و ۱۸ درصد) و تیمار بذر در پنج سطح (اسپریمین، پوترسین، اسپرمیدین، آب) و شاهد (بذر بدون تیمار) بودند. بذرها پس از برداشت با سطوح رطوبتی مورد نظر، به مدت هشت ماه نگهداری و سپس تیماری‌های بذری بر آنها اعمال گردید. نتایج بیانگر این است که اثرات متقابل تیمار بذر × رطوبت بذر بر محصولات آمادوری و میلارد در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار گردید. در بررسی اثرات متقابل، کم‌ترین مقدار محصولات آمادوری و میلارد در بذره‌ای تیمار شده با پلی‌آمین اسپریمین و برداشت شده با رطوبت ۱۸ درصد مشاهده گردید، در حالی که بیش‌ترین محصولات آمادوری و میلارد متعلق به بذره‌ای شاهد (بدون تیمار) و برداشت شده با رطوبت ۱۴ درصد بود. بذرهایی که دارای محتوای بالاتری از محصولات آمادوری و میلارد بودند، از بنیه پائین‌تری برخوردار بوده و در نهایت درصد گیاهچه‌های عادی کم‌تری را تولید نمودند و به‌طور کلی قوه زیست در آنها با افزایش محصولات آمادوری و میلارد کاهش یافت. با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان از تیمارهای PAS و آب جهت بهبود بنیه بذر بعد از یک دوره انبارداری و تقریباً یک ماه قبل از کاشت استفاده نمود، به‌طوری‌که تیمارهای PAS و به‌ویژه اسپریمین در این تحقیق باعث بهبود در بنیه بذر و جلوگیری از اثرات مخرب فرسودگی بر کیفیت بذر گردید.

**واژه‌های کلیدی:** بنیه بذر، پلی‌آمین، رطوبت بذر، محصولات آمادوری، میلارد

۱- دانش آموخته مقطع دکتری علوم و تکنولوژی بذر، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۲- استاد، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۳- دانشیار پژوهش، مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

۴- دانشیار، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

\*نویسنده مسئول: lielayari@gmail.com

## مقدمه

جو (*Hordeum vulgare* L.) چهارمین غله مهم دنیا است و اغلب به عنوان غذای دام و در صنایع تخمیری به کار می‌رود. سطح زیر کشت این محصول زراعی در ایران ۱/۶ میلیون هکتار و در جهان ۴۷/۳ میلیون هکتار است (FAO, 2016).

فرسودگی یا پیری بذر به فرآیند از دست رفتن کیفیت بذر با گذشت زمان اطلاق می‌شود و توانایی بذر برای زنده ماندن را کاهش می‌دهد. با افزایش درجه فرسودگی بذر، بنیه آن‌ها کاهش می‌یابد. لذا بذرهای ضعیف و با بنیه پائین در مقایسه با بذرهای قوی در شرایط مزرعه قادر به جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه‌های قوی نخواهند بود (Sedghi *et al.*, 2012). بعضی از تولیدکنندگان بذر به منظور کاهش خسارت ناشی از تأخیر در برداشت (ریزش، خرد شدن بذر در هنگام برداشت، خسارت توسط پرندگان)، بدون توجه کافی به درصد رطوبت بذر، مبادرت به برداشت زود هنگام می‌نمایند. در نتیجه بذرهای با رطوبت بالا در انبار به تدریج کیفیت خود را از دست خواهند داد (Sadeghi, 2009).

مکانیزم‌های فرسودگی بذر ممکن است که تحت شرایط انبارداری مختلف، متفاوت باشند. در دماهای پائین محیط، آسیب ناشی از رادیکال آزاد ممکن است که رخداد اصلی فرسودگی بذر باشد، در حالی که کاهش قوه زیست بذر در دماهای بالاتر ارتباط نزدیکی با غیرفعال شدن پروتئین‌ها دارد (Sun *et al.*, 1998). میزان آب عامل مهم دیگری است که بر سرعت فرسودگی بذر مؤثر است. در بذرهای خشک واکنش‌های آنزیمی ممکن است که نقش اندکی در فرسوده شدن بذر داشته باشند، زیرا در بذرهای خشک متابولیسم فعال آنزیمی حداقل است. با این حال واکنش‌های غیر آنزیمی ویژه‌ای، از قبیل واکنش‌های آمادوری و میلارد، حتی در محتوای رطوبت پایین می‌تواند اتفاق بیفتد (Sun and Leopold, 1995; Lehner *et al.*, 2008).

واکنش‌های آمادوری و میلارد، واکنش‌های غیر آنزیمی کربونیل آمین هستند که در سیستم‌های خشک اتفاق می‌افتد. یکی از مکانیزم‌های فرسوده شدن بذر از طریق واکنش‌های میلارد است که از طریق حمله غیر آنزیمی به گروه‌های آمین پروتئین‌ها و ترکیبات پروتئین-اسید نوکلئیک با احیای قندها و آلدئیدها رخ می‌دهد (Sedghi *et al.*, 2012; Murthy and Sun, 2000).

در واکنش‌های آمادوری و میلارد، ابتدا گلوکز فعال (به شکل خطی) به گروه آمین پروتئین‌ها یا اسیدهای آمینه حمله می‌کند و موجب تولید محصولات آمادوری می‌شود. سپس، این محصولات تغییر وضعیت می‌دهند و محصولات نهایی گلیکوزیده<sup>۱</sup> را تولید می‌کنند (محصولات میلارد یا محصولات قهوه‌ای) (Veselovsky and Veselova, 2012).

شکل‌های پیشرفته محصولات نهایی گلیکوزیده در هر دو نوع فرسودگی طبیعی و مصنوعی بافت‌های بذر مشاهده می‌شود و طی دوره ذخیره‌سازی در همه شرایط رطوبتی و دمایی افزایش می‌یابد و تجمع محصولات واکنش میلارد با کاهش قوه زیست بذر<sup>۲</sup> همراه است (Lugo and Leopold, 1992; Nagel *et al.*, 2016). طی هیدرولیزهای غیر آنزیمی کربوهیدرات‌ها (الیگوساکاریدها، ساکارز) منوساکاریدها به صورت مواد حدواسط و به شکل خطی تولید می‌شوند و سپس، کاهش در وضعیت آن‌ها مشاهده می‌شود که این کاهش در منوساکاریدها به نقش آن‌ها جهت شرکت در گلیکوزیلاسیون پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه و اسیدهای نوکلئیک برمی‌گردد. این فرآیند در محتوای رطوبتی ۶ تا ۱۵ درصد در بذر فعال است (Veselovsky and Veselova, 2012).

کاهش کیفیت بذر طی دوره انبارداری، ابتدا به صورت کاهش در سرعت رشد محورهای جوانه‌زنی (بنیه بذر) و سپس، به صورت کاهش در قابلیت جوانه‌زنی واقعی است (Bewley *et al.*, 2013).

تحقیقات نشان می‌دهد که هیدرولیز قند و پراکسیداسیون لیپیدها با واکنش‌های آمادوری و میلارد مرتبط هستند و تأیید شده است که تغییرات غیر آنزیمی پروتئین‌ها و آنزیم‌ها از طریق واکنش‌های آمادوری و میلارد، نقش مهمی در فرسودگی بذر طی دوره انبارداری را ایفا می‌کند (Murthy and Sun, 2000). تغییر ماکرومولکول‌ها از طریق واکنش‌های میلارد، بر فعالیت پروتئین‌ها مؤثر است، به ویژه بعضی از آنزیم‌های آنتی-اکسیدانت از قبیل گلوکاتایون ردوکتاز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز به واکنش‌های میلارد حساس هستند که موجب کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود، در نتیجه آسیب اکسیداتیو در دوره جوانه‌زنی پیش می‌آید و

<sup>1</sup>Glycosylation<sup>2</sup>Viability

(عرض جغرافیایی)، اقلیم معتدل و با ارتفاع ۱۳۲۰ متر از سطح دریا قرار دارد، بافت خاک مزرعه لومی، اسیدیته آن (pH=۷/۱) و شوری خاک (EC=۲/۴ mmhos/cm) بوده است. رقم جو که برای کاشت در مزرعه انتخاب گردید، از مهم‌ترین ارقام آبی مورد کشت در منطقه معتدله کشور به نام یوسف بود که بذر آن از طبقه مادری در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران در ورامین ۱۳۹۱ تولید شده بود، تهیه گردید. این رقم، رقمی جدید و از سطح کشت بالایی در پروسه تولید بذر کشور برخوردار است. دارای تیپ رشد بهاره، زودرس، نیمه-حساس به سرما و در شرایط بدون تنش دارای عملکرد ۶/۱ تن در هکتار می‌باشد (Haydarpoor et al., 2012). کاشت در مزرعه همزمان با تاریخ کاشت جو در منطقه مورد آزمایش در دو سال مورد آزمایش، اواخر مهرماه سال های ۱۳۹۱ و ۱۳۹۲ بود. پس از شخم و تهیه زمین، کرت-های آزمایشی به مساحت ۱۰ مترمربع آماده گردید، لازم به ذکر است قبل از کاشت از کودهای شیمیایی اوره به میزان ۱۵۰ گرم و سوپر فسفات ساده به میزان ۱۰۰ گرم در هر کرت اعمال گردید، سپس در هر کرت ۵ ردیف با فاصله بین ردیف ۲۰-۳۰ سانتی‌متر، فاصله بین بوته ۴-۵ سانتی‌متر و طول ردیف ۵ متر کاشت گردید. کلیه عملیات کاشت، داشت و برداشت توسط کارگر صورت گرفت. بعلاوه نحوه آبیاری با استفاده از تیپ و به‌صورت قطره‌ای بوده است. به‌طور مرتب از مزرعه بازدید به عمل آمد، سپس بعد از مرحله رسیدگی فیزیولوژیک، با استفاده از رطوبت‌سنج الکتریکی قابل حمل مدل (Dickey-John mini GAC) رطوبت بذر را به‌صورت روزانه ارزیابی و با رسیدن میزان رطوبت بذر به سطح رطوبتی مورد نظر (۱۴، ۱۶ و ۱۸ درصد) بوته‌هایی از خطوط میانی در اوایل خرداد ماه با دست برداشت گردیدند. بذر را پس از خارج کردن از سنبله‌ها درون ظرف‌های نفوذناپذیر قرار گرفتند. پس از انتقال به آزمایشگاه میزان دقیق رطوبت بذر به روش استاندارد دمای بالا و ثابت به وسیله آون<sup>۳</sup> بر مبنای معیارهای انجمن بین‌المللی آزمون بذر<sup>۴</sup> (ISTA) (ISTA, 2011) اندازه‌گیری شد. برای تعیین رطوبت بذر را در آزمایشگاه، بذر را با استفاده از آسیاب خرد و سپس، به مدت ۲ ساعت در دمای ۱۳۰ درجه سلسیوس درون آون

پیامد آن تخریب بنیه بذر و کاهش قوه زیست بذر است (Murthy et al., 2003). نتایج حاصل از تحقیق پژوهشگران بر محصولاتی از جمله گندم، ماش، نخود، عدس و لوبیا بیانگر این است که محصولات حاصل از واکنش‌های آمادوری در طی دوره انبارداری بذر افزایش می‌یابد، به‌طوری‌که میزان این واکنش‌ها در بذر به رطوبت و دما بستگی داشته و در نهایت موجب کاهش در بنیه بذر می‌گردند (Murthy, et al., 2003; Lehner et al., 2008; Moussou et al., 2017).

لذا بنیه بذر را می‌توان با تکنیک‌هایی از قبیل پرایمینگ بذر (آبگیری و خشک‌کردن) بهبود بخشید، به‌طوری‌که این تکنیک باعث بهبود در کارایی بنیه بذرهای ضعیف می‌گردد (Walters et al., 2010). از مواد مختلفی جهت پیش‌تیمار بذر استفاده می‌گردد که از جمله آن‌ها می‌توان به پلی‌آمین‌ها اشاره کرد. پلی‌آمین‌های پوترسین (Putrescine)، اسپرمیدین (Spermidine)، اسپرمین (Spermine) و کاداورین (Cadaverine)، پلی‌کاتیون‌های آلی با وزن مولکولی پایین هستند که فعالیت بیولوژیک بالایی دارند. پلی‌آمین‌ها در همه اجزای گیاهی موجود هستند که نشان‌دهنده تنوع سهم آن‌ها در فرآیندهای اساسی سلول است (Kuzenetsov et al., 2007). نتایج پیش‌تیمار بذر با پلی‌آمین‌ها بر روی محصولات مختلف از جمله گندم، پیاز، توتون، ذرت، برنج و آفتاب‌گردان که دارای اثرات مفیدی بر بنیه بذر بوده است، توسط محققان گزارش شده است (Farooq 2011؛ Xu et al., 2011؛ Cao et al., 2008؛ Zhang et al., 2008؛ Basra et al., 1994). لذا در این راستا، هدف از این تحقیق بررسی تأثیر رطوبت بذر در زمان برداشت و تأثیر پیش‌تیمارهای بذر با پلی‌آمین‌ها و آب بر بنیه بذر جو رقم یوسف و واکنش‌های مرتبط با فرسودگی آن، بعد از ۸ ماه انبارداری بوده است.

## مواد و روش‌ها

### کاشت در مزرعه

این تحقیق در مزرعه پژوهشی و آزمایشگاه تجزیه کیفی بذر مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال واقع در کرج طی سال‌های ۹۳-۱۳۹۱ اجرا گردید. مزرعه پژوهشی در موقعیت جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۸ دقیقه شمالی (طول جغرافیایی) و ۵۰ درجه و ۵۸ دقیقه شرقی

<sup>3</sup>High constant temperature oven method

<sup>4</sup>International Seed Testing Association (ISTA)

گرم بذر در یک لیتر محلول بود. بعد از تیمارشیدن، بذرها در دمای اتاق خشک شدند تا به رطوبت اولیه خود رسیدند. سپس بذرها پیش تیمارشده دوباره در انبار به مدت یک ماه با دمای ۴-۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند.

#### آزمون جوانه زنی استاندارد

پس از اتمام یک ماه انبارداری بذرها تیمارشده با پلی آمین از انبار خارج و به منظور تعیین درصد تولید گیاهچه های عادی و بنیه بذر به روش حوله کاغذی کشت و در ژرمناتور در دمای  $20 \pm 1$  و با ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی  $65 \pm 5$  درصد قرار داده شدند. سپس طول گیاهچه، طول ریشه چه و وزن خشک گیاهچه ها نیز مورد ارزیابی قرار گرفت.

شاخص بنیه گیاهچه از حاصل ضرب درصد گیاهچه های عادی در وزن خشک گیاهچه با توجه به رابطه زیر محاسبه گردید (Sadeghi et al., 2014).

$$VI = NG \times SW \quad \text{رابطه (۳)}$$

VI - شاخص بنیه گیاهچه، SW - وزن خشک گیاهچه و NG - درصد گیاهچه های عادی

#### اندازه گیری محصولات آمادوری و میلارد

##### استخراج پروتئین

یک گرم از بذر جو در هاون با نیتروژن مایع خرد و به آن ۵ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۰۵ مول با pH ۷/۲ اضافه گردید. سپس، استخراج به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه (هر ۵ دقیقه به مدت ۳۰ ثانیه محلول به هم زده شد) انجام گرفت. عصاره حاصل در ۵۰۰۰ g به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتریفیوژ گردید و سپس، ۰/۵ میلی لیتر سولفات استرپتومایسین که در ۰/۰۵ مول HEPES با pH ۷/۲ حل شده بود، به آن اضافه شد تا اسیدهای نوکلئیک ته نشین شود. سانتریفیوژ در ۱۵۰۰۰ g به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه انجام و سپس، دوباره ۰/۵ میلی لیتر سولفات استرپتومایسین به آن افزوده شد و دوباره سانتریفیوژ گردید. پروتئین های موجود در روشناور توسط سولفات آمونیوم ته نشین شد. پس از هم زدن و سانتریفیوژ مجدد، پروتئین ها توسط ستون PD-10 خالص سازی شدند. عصاره پروتئینی خالص شده برای اندازه گیری محصولات آمادوری و میلارد مورد استفاده قرار گرفت (Murthy and Sun, 2000).

#### اندازه گیری محصولات آمادوری

مقدار محصولات آمادوری در عصاره پروتئینی بذر با

خشک قرار داده شدند و میزان رطوبت بذر (۱۴ و ۱۶ درصد) با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (ISTA, 2011).

$$M = (M_2 - M_3) \times 100 / (M_2 - M_1) \quad \text{رابطه (۱)}$$

که در آن  $M_1$  وزن ظرف و درپوش آن بر حسب گرم،  $M_2$  وزن ظرف، درپوش و بذرها خرد شده قبل از خشک کردن بر حسب گرم،  $M_3$  وزن ظرف، درپوش و بذرها خرد شده بعد از خشک کردن بر حسب گرم و  $M$  درصد رطوبت نهایی بذر است.

بعلاوه برای تعیین رطوبت بذر بیش تر از ۱۷ درصد از رابطه زیر استفاده گردید (ISTA, 2011):

$$M = (S_1 + S_2) - (S_1 \times S_2) / 100 \quad \text{رابطه (۲)}$$

$S_1$  - درصد رطوبت بذر بعد از ۵-۱۰ دقیقه خشک کردن در دمای ۱۳۰ درجه سانتی گراد (مرحله اول)

$S_2$  - درصد رطوبت بذر بعد از دو ساعت خشک کردن در دمای ۱۳۰ درجه سانتی گراد (مرحله دوم)

$M$  - درصد رطوبت نهایی بذر

سپس بذرها برداشت شده با رطوبت های مورد نظر (۱۶، ۱۴، ۱۸ درصد) پس از رسیدن به تعادل رطوبتی با محیط، در سردخانه در دمای ۴-۵ درجه سلسیوس به مدت هشت ماه قرار گرفتند.

#### تیمار بذرها بعد از هشت ماه انبارداری

بعد از هشت ماه انبار کردن در انبار سرد مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال در دمای ثابت ۴-۵ درجه سلسیوس بذرها با محلول پلی آمین پوترسین<sup>۶</sup>، اسپرمیدین و اسپرمین که از محصولات شرکت سیگما آلدريج (Sigma-Aldrich) تهیه شده بودند، به مدت ۱۶ ساعت تیمار شدند. غلظت محلول، ۲۰ میلی گرم از هر نوع پلی آمین در یک لیتر و با نسبت یک گرم بذر در ۵ میلی لیتر ۱:۵ (یک گرم بذر در ۵ میلی لیتر محلول)، یعنی ۲۰۰

<sup>۵</sup> پلی آمین ها یک گروه از ترکیبات آلی هستند که دارای حداقل دو گروه آمین -NH<sub>2</sub> می باشند، معمولاً از آمونیاک استخراج می شوند که جای هیدروژن ها گروه آلکیلی قرار می گیرند. آمین ها به عنوان اجزاء آمینواسیدها، پپتیدها و آلکالوئیدها، در بیوشیمی حائز اهمیت هستند، این ترکیب ها بسیار متنوعند و کارکردهای متعددی دارند. از جمله پلی آمین های زیستی می توان به پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین اشاره کرد.

<sup>۶</sup> 2NH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>, Molecular Weight 88.15

<sup>۳</sup> NH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>, Molecular Weight 145.25

<sup>۴</sup> NH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH<sub>2</sub>, Molecular Weight 202.34

گردید. طول گیاهچه فقط تحت تأثیر اثر اصلی تیمارهای بذری در سطح احتمال ۱ درصد قرار گرفت (جدول ۱).  
**طول گیاهچه:** تیمارهای بذری تأثیر معنی‌داری در مقایسه با شاهد (بذرهای بدون تیمار) بر طول گیاهچه داشتند و باعث افزایش در طول گیاهچه گردیدند، به طوری که بیش‌ترین طول گیاهچه با میانگین ۲۶/۷۶ سانتی‌متر در تیمار اسپرمین مشاهده گردید. که نسبت به شاهد باعث افزایش ۱۰/۴۴ درصدی در طول گیاهچه گردید. بعلاوه سایر تیمارها و آب نیز باعث افزایش معنی‌داری در طول گیاهچه در مقایسه با گیاهچه‌های حاصل از بذرهای شاهد (بدون تیمار) گردیدند. همچنین تأثیر مثبت تیمار پوترسین در مقایسه با سایر تیمارهای اسپرمیدین و اسپرمین بر افزایش طول گیاهچه کم‌تر بود (جدول ۲).

**طول ریشه‌چه:** در بررسی اثرات متقابل سال×تیمار بذر، بیش‌ترین طول ریشه‌چه با میانگین ۱۴/۳ سانتی‌متر در بذرهای تیمار شده با اسپرمین و سال دوم آزمایش مشاهده گردید که در مقایسه با شاهد ۳۱/۵ درصد افزایش مشاهده شد. کم‌ترین میزان طول ریشه‌چه در سال دوم آزمایش و بذرهای شاهد (بدون تیمار) و با میانگین ۱۰/۸ سانتی‌متر بدست آمد. لازم به ذکر است که در دو سال آزمایش کلیه تیمارهای بذری پلی‌آمین و آب باعث افزایش معنی‌داری در طول ریشه‌چه در مقایسه با شاهد (بذرهای بدون تیمار) گردیدند. در سال اول آزمایش بین تیمارهای بذری پلی‌آمین و آب از نظر تأثیر بر رشد ریشه‌چه تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نگردید، در حالی که در سال دوم آزمایش تأثیر مثبت تیمار اسپرمین بیش‌تر از سایر تیمارهای پلی‌آمین (پوترسین، اسپرمیدین) و تیمار آب بود (جدول ۳).

بر اساس گزارش محققان پلی‌آمین‌ها موجب بهبود در بنیه بذر و تسریع در جوانه‌زنی بذر می‌گردد. Pas همچنین، موجب بهبود در بنیه گیاهچه‌ها می‌شود، به طوری که موجب طولیل شدن بیش‌تر ریشه‌چه، ساقه‌چه و همین‌طور بهبود در وزن خشک گیاهچه‌ها در گوجه‌فرنگی گردید (Afzal et al., 2008). در تحقیق حاضر نیز PAS موجب طولیل تر شدن ریشه گیاهچه‌ها و بهبود بنیه آن‌ها

استفاده از نیتروبلو تترازولیوم طبق روش وتلافر و لئوپلد (۱۹۹۱) تعیین شد. یک میلی‌لیتر نیتروبلو تترازولیوم کلراید (۰/۰۰۰۵ مول) در ۰/۱ مول کربنات سدیم با pH ۱۰/۳ حل شد و ۰/۱ میلی لیتر عصاره پروتئینی به آن اضافه گردید. مخلوط حاصل در بن‌ماری در دمای ۴۰ درجه قرار داده شد. میزان جذب در ۵۵۰ نانومتر (A<sub>550</sub>) پس از مدت ۱۰ و ۲۰ دقیقه خوانده شد. افزایش در میزان جذب به‌عنوان شاخصی از تولید محصولات آمادوری در نظر گرفته شد.

### اندازه‌گیری محصولات میلارد

میزان محصولات میلارد به روش فلورسانس پروتئین تعیین گردید. عصاره پروتئینی به مقدار ۰/۴ گرم در طول موج ۲۷۰ تا ۴۰۰ و ۳۲۰ تا ۵۰۰ نانومتر توسط اسپکتروفلوریمتر (مدل واریان، امریکا) اسکن شد. به‌منظور حذف خطای ناشی از حضور سایر پروتئین‌ها (غیر از محصولات گلیکوزیلی شده میلارد)، میزان محصولات میلارد با شاخص FAST بیان گردید. این شاخص با فرمول زیر تعیین می‌شود (Leclere and Biroluez- (Aragon, 2001):

$$100 \times (\text{فلورسانس در } 285/340 \text{ نانومتر} / \text{فلورسانس}$$

$$\text{محصولات میلارد}) = \text{FAST}$$

### تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌ها جهت ارزیابی صفات بعد از پیش‌تیمار بذر با پلی‌آمین‌ها و یک ماه انبارداری به‌صورت فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی تجزیه مرکب و مقایسه میانگین‌ها با روش LSD در سطح احتمال ۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

### نتایج و بحث

اثرات متقابل رطوبت بذر در زمان برداشت×تیمار بذر بر شاخص بنیه گیاهچه، محصولات آمادوری و میلارد در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار گردید. بعلاوه اثرات متقابل سال×رطوبت بذر در زمان برداشت بر درصد گیاهچه‌های عادی و طول ریشه‌چه به‌ترتیب در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد معنی‌دار شد. همچنین اثرات متقابل سال×تیمار بذر بر درصد گیاهچه‌های عادی و طول ریشه‌چه به‌ترتیب در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد معنی‌دار

که بازسازی DNA، RNA، پروتئین غشاها و آنزیمها در طول دوره جذب آب مرحله (lag phase-II) و پرایمینگ بذر صورت می‌گیرد (Welbaum and Bradford, 1991).

شد که این افزایش ممکن است که حاصل از تسریع در جوانه‌زنی و ظاهرشدن زود هنگام گیاهچه باشد (Liu et al., 1996). علاوه دلیل قابل توجه دیگر برای این موضوع ترمیم آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد روی غشاها و سایر ترکیبات در مرحله جذب آب است. شواهد نشان می‌دهد

جدول ۱- تجزیه واریانس میانگین مربعات صفات مورد مطالعه بعد از پیش تیمار بذر

Table 1. Analysis of variance mean squares of studied characteristics after seed pre-treatment

| منابع تغییرات<br>S.O.V                | درجه آزادی<br>df | وزن خشک گیاهچه<br>Seedling dry weight | شاخص بنیه<br>Vigour index | طول ریشه‌چه<br>Radicle length | طول گیاهچه<br>Seedling length | محصولات عادی<br>Normal seedling | محصولات آمادوری<br>Maillard product | محصولات آمادوری<br>Amadori product |
|---------------------------------------|------------------|---------------------------------------|---------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| سال (Y)                               | 1                | 0.00001 <sup>ns</sup>                 | 0.463 <sup>**</sup>       | 3.011*                        | 0.086 <sup>ns</sup>           | 2066.7 <sup>**</sup>            | 0.00033 <sup>ns</sup>               | 0.00000044 <sup>ns</sup>           |
| رطوبت بذر (SM)                        | 2                | 0.0004 <sup>ns</sup>                  | 0.222 <sup>**</sup>       | 0.203 <sup>ns</sup>           | 0.69 <sup>ns</sup>            | 419.02 <sup>**</sup>            | 8.622 <sup>**</sup>                 | 0.0022 <sup>**</sup>               |
| پیش تیمار بذر (ST)                    | 4                | 0.00055 <sup>ns</sup>                 | 0.243 <sup>**</sup>       | 22.07 <sup>**</sup>           | 26.37 <sup>**</sup>           | 952.55 <sup>**</sup>            | 0.232 <sup>**</sup>                 | 0.00026 <sup>**</sup>              |
| تیمار رطوبت × پیش تیمار (ST*SM)       | 8                | 0.0012 <sup>ns</sup>                  | 0.081 <sup>**</sup>       | 0.937 <sup>ns</sup>           | 0.765 <sup>ns</sup>           | 37.84 <sup>ns</sup>             | 0.0081 <sup>**</sup>                | 0.000016 <sup>**</sup>             |
| رطوبت بذر × سال (Y*SM)                | 2                | 0.00001 <sup>ns</sup>                 | 0.060 <sup>ns</sup>       | 2.46*                         | 0.764 <sup>ns</sup>           | 302.92 <sup>**</sup>            | 0.00043 <sup>ns</sup>               | 0.00000052 <sup>ns</sup>           |
| سال × پیش تیمار (Y*ST)                | 4                | 0.00001 <sup>ns</sup>                 | 0.031 <sup>ns</sup>       | 2.43 <sup>**</sup>            | 0.923 <sup>ns</sup>           | 76.13*                          | 0.00033 <sup>ns</sup>               | 0.00000041 <sup>ns</sup>           |
| سال × رطوبت بذر × پیش تیمار (Y*SM*ST) | 8                | 0.00001 <sup>ns</sup>                 | 0.008 <sup>ns</sup>       | 2.61 <sup>ns</sup>            | 0.911 <sup>ns</sup>           | 43.83 <sup>ns</sup>             | 0.00032 <sup>ns</sup>               | 0.00000051 <sup>ns</sup>           |
| خطا (Error)                           | 90               | 0.00031                               | 0.022                     | 0.636                         | 0.924                         | 27.38                           | 0.00025                             | 0.00000086                         |
| ضریب تغییرات (درصد) (C.V.%)           |                  | 9.87                                  | 9.86                      | 6.10                          | 3.68                          | 6.21                            | 1.2                                 | 3.2                                |

ns، \* و \*\* به ترتیب: غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

ns: not significant \* and \*\*: significant at the 5% and 1% probability levels, respectively.

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه بعد از پیش تیمار بذر جو تحت تأثیر تیمارهای بذری

Table 2. Means comparison of studied characteristics after barley seed pre-treatment as affected seed treatments

| تیمار بذر<br>Seed treatment | طول گیاهچه (cm)<br>Seedling length (cm) |
|-----------------------------|---|
| پوترسین<br>Putersine        | 26.45 ab                                |
| اسپریمین<br>Spermine        | 26.76 a                                 |
| اسپریمیدین<br>Spermidine    | 26.71 a                                 |
| آب<br>Water                 | 26.12 b                                 |
| شاهد<br>Control             | 24.23 c                                 |

\*در هر ستون میانگین‌ها با حروف مشابه، بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی داری در سطح احتمال خطای آماری ۵ درصد ندارند.

\*Means with same letter in each column are not significantly different at the 5% Probability level according LSD Test

سال آزمایش کلیه تیمارهای پلی‌آمین و آب دارای تأثیر مثبت معنی‌داری بر درصد تولید گیاهچه‌های عادی بودند. در سال دوم آزمایش بیش‌ترین تأثیر مثبت به ترتیب مربوط به تیمارهای اسپریمین، اسپریمیدین، پوترسین و آب بود. در سال اول آزمایش تأثیر مثبت پوترسین در مقایسه با شاهد، بیش‌تر از سال دوم آزمایش بود، در حالی که در سال دوم آزمایش اثرات مثبت اسپریمین و اسپریمیدین بر درصد تولید گیاهچه‌های عادی بیش‌تر از سال اول آزمایش بود (جدول ۳). بیش‌تر فعالیت پلی‌آمین‌ها ممکن است که مرتبط با غشاء باشد، به طوری که موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی می‌شوند و احتمال می‌رود که

درصد گیاهچه‌های عادی: این صفت تحت تأثیر اثرات اصلی سال، رطوبت بذر در زمان برداشت و تیمار بذر در سطح احتمال ۱ درصد، اثرات متقابل رطوبت بذر در زمان برداشت × سال در سطح احتمال ۱ درصد و اثرات متقابل تیمار بذر × سال در سطح احتمال ۵ درصد قرار گرفت (جدول ۱). به طوری که در بررسی اثرات متقابل تیمار بذر × سال حداکثر درصد گیاهچه‌های عادی در سال دوم آزمایش و بذرها تیمار شده با تیمار اسپریمین با میانگین ۹۶/۴ درصد مشاهده گردید و حداقل درصد گیاهچه‌های عادی مربوط به بذرها شاهد (بدون تیمار) با میانگین ۷۲/۸۳ درصد و سال اول آزمایش بود. در هر دو

بذرهای برداشت شده با رطوبت ۱۸ درصد و تیمار شده با اسپرمین بود، به طوری که افزایش ۱۹/۵۸ درصدی در شاخص بنیه وزنی گیاهچه را دارا بودند. در دو سطح رطوبتی ۱۶ درصد و ۱۸ درصد کلیه تیمارهای پلی آمین دارای تأثیر مثبت معنی داری بر بهبودی شاخص بنیه وزنی گیاهچه در مقایسه با شاهد (بذرهای بدون تیمار) بودند، در حالی که در سطح رطوبتی ۱۴ درصد تنها تیمار پوترسین با بذرهای شاهد (بدون تیمار) از نظر تأثیر بر شاخص بنیه وزنی گیاهچه تفاوت آماری معنی داری را نشان داد (جدول ۴). نتایج حاصل از این تحقیق مطابق با یافته‌های سایر محققین است که گزارش نموده‌اند، رسیدگی فیزیولوژیک مرحله‌ای از نمو بذر است که بذر به حداکثر وزن خشک خود رسیده است (پایان مرحله پرشدن بذر) و بذرهای بالاترین قوه زیست و بنیه را دارا هستند و بعد از آن بذرهای شروع به فرسوده شدن می‌نمایند، به طوری که این نظریه به طور گسترده‌ای پذیرفته شده است (Delouche, 1980; Powell, 1984).

فعالیت پلی آمین‌ها سبب کاهش فرسودگی در بذرهای از طریق حفاظت غشا یا ترمیم آن شود (Basra et al., 1994). که در نهایت منجر به بهبود در بنیه بذر و افزایش درصد تولید گیاهچه‌های عادی می‌گردد، که چنین نتایجی در این تحقیق نیز بدست آمده و قابل مشاهده می‌باشد. در سال دوم آزمایش بذرهای شاهد (بدون تیمار) در مقایسه با سال اول آزمایش، گیاهچه‌های عادی بیش‌تری تولید نمودند، که این به تفاوت در تأثیر شرایط محیطی بر مراحل نمو و رسیدگی فیزیولوژیک بذر در دو سال مورد آزمایش بر می‌گردد.

**شاخص بنیه وزنی گیاهچه:** این صفت تحت تأثیر تیمارهای بذری، رطوبت بذر در زمان برداشت و اثرات متقابل رطوبت بذر در زمان برداشت × تیمار بذر در سطح احتمال ۱ درصد قرار گرفت، در هر سه سطح رطوبتی مورد مطالعه در زمان برداشت بذر، کلیه تیمارهای بذری پلی- آمین باعث افزایش معنی داری در شاخص بنیه وزنی گیاهچه در مقایسه با شاهد (بذرهای بدون تیمار) گردیدند، به طوری که بیش‌ترین شاخص بنیه بذر مربوط به

جدول ۳ - مقایسه میانگین اثر سال بر صفات مورد مطالعه پس از پیش تیمار بذر جو

| سال Year   | تیمار بذر Seed treatment | گیاهچه های عادی (%) Normal seedling | طول ریشه چه Radicle length (cm) |
|------------|--------------------------|-------------------------------------|---------------------------------|
| اول First  | شاهد Control             | 72.83 n                             | 12.00 e                         |
|            | آب water                 | 77.66 fm                            | 13.37 bc                        |
|            | اسپرمین Spm              | 91.66 b                             | 13.69 ab                        |
|            | پوترسین Put              | 87.7 bc                             | 13.46 bc                        |
|            | اسپرمیدین Spd            | 83.1 ed                             | 13.57 b                         |
| دوم Second | شاهد Control             | 74.66 mn                            | 10.87 d                         |
|            | آب water                 | 81.6 df                             | 12.90 c                         |
|            | اسپرمین Spm              | 96.4 a                              | 14.30 a                         |
|            | پوترسین Put              | 87.1 ce                             | 13.26 bc                        |
|            | اسپرمیدین Spd            | 88.5 bc                             | 13.16 bc                        |

\*در هر ستون میانگین‌ها با حروف مشابه، بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

\*Means with same letter in each column are not significantly different at the 5% probability level according LSD test

این تحقیق مطابق با یافته‌های سایر محققین است که گزارش نمودند، رسیدگی فیزیولوژیک مرحله‌ای از نمو بذر است که بذر به حداکثر وزن خشک خود رسیده (پایان مرحله پرشدن بذر) و بذرهای بالاترین قوه زیست و بنیه را دارا هستند و بعد از آن بذرهای شروع به فرسوده شدن می‌نمایند، به طوری که این نظریه به طور گسترده‌ای پذیرفته شده است (Powell, 1984; Delouche, 1980).

در دو سطح رطوبتی ۱۶ درصد و ۱۸ درصد کلیه تیمارهای پلی آمین دارای تأثیر مثبت معنی داری بر بهبودی شاخص بنیه وزنی گیاهچه در مقایسه با شاهد (بذرهای بدون تیمار) بودند، در حالی که در سطح رطوبتی ۱۴ درصد تنها تیمار پوترسین با بذرهای شاهد (بدون تیمار) از نظر تأثیر بر شاخص بنیه وزنی گیاهچه تفاوت آماری معنی داری را نشان داد (جدول ۴). نتایج حاصل از

بر کاهش محصولات آمادوری در مقایسه با تیمارهای اسپرمین و پوترسین کم‌تر بود (جدول ۴). تیمار آب نیز در این سطح رطوبتی دارای تأثیر معنی‌داری در مقایسه با شاهد بر کاهش محصولات آمادوری بود. همچنین در سطح رطوبتی ۱۴ درصد، بذره‌های شاهد (بدون تیمار) دارای بیش‌ترین محصولات میلارد بودند و حداقل این صفت در این سطح رطوبتی متعلق به بذره‌های تیمار شده با اسپرمین با میانگین ۱/۶ بود. بعلاوه تیمار آب دارای تأثیر مثبت معنی‌داری بر کاهش محصولات میلارد در مقایسه با شاهد بود.

سطح رطوبت ۱۶ درصد: در بذره‌های برداشت‌شده با سطح رطوبتی ۱۶ درصد، حداکثر محصولات آمادوری با میانگین ۰/۳۳ در هر در بذره‌های شاهد (بدون تیمار) مشاهده گردید. حداقل این صفت در تیمار اسپرمین و با میانگین ۰/۲۵ بدست آمد.

کلیه تیمارهای پلی‌آمین با بذره‌های شاهد (بدون تیمار) از نظر آماری تفاوت معنی‌داری را نشان دادند، تیمار اسپرمین با تیمارهای پوترسین و اسپرمیدین از نظر تأثیر بر محصولات آمادوری تفاوت آماری معنی‌داری را نشان داد، در حالی که تفاوت پوترسین و اسپرمیدین از نظر آماری با هم معنی‌دار نبود. بعلاوه تأثیر آب بر کاهش محصولات آمادوری در مقایسه با بذره‌های شاهد (بدون تیمار) از نظر آماری معنی‌داری بود. همچنین در سطح رطوبتی ۱۶ درصد بذره‌های شاهد (بدون تیمار) دارای بیش‌ترین محصولات میلارد بودند و حداقل این صفت در این سطح رطوبتی متعلق به بذره‌های تیمار شده با اسپرمین با میانگین ۱/۱۵ بود. بعلاوه تیمار آب دارای تأثیر معنی‌داری بر کاهش محصولات میلارد در مقایسه با بذره‌های شاهد (بدون تیمار) بود، بعلاوه تیمارهای پلی‌آمین با هم تفاوت آماری معنی‌داری را نداشتند و دارای تأثیر مثبت نسبتاً یکسانی از نظر اثر بر کاهش محصولات میلارد بودند (جدول ۴).

سطح رطوبت ۱۸ درصد: بذره‌های برداشت‌شده با سطح رطوبتی ۱۸ درصد حداکثر محصولات آمادوری با میانگین ۰/۲۴ در بذره‌های شاهد (بدون تیمار) مشاهده گردید. کلیه تیمارهای پلی‌آمین باعث کاهش معنی‌داری در میزان محصولات آمادوری گردیدند. تیمار اسپرمین دارای بیش‌ترین تأثیر مثبت بر کاهش میزان محصولات آمادوری بود و حداقل محصولات آمادوری متعلق به این تیمار با میانگین

بعلاوه پلی‌آمین‌ها به علت طبیعت پلی‌کاتیونیکی که دارند، می‌توانند اتصال محکمی با اجزای آنیونی سلولی از قبیل اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها و فسفولیپیدها برقرار کنند (An et al., 2004). از جمله نقش PAs می‌توان به ثبات عمل کروموزوم‌ها (Kasinathan and Wingler, 2004)، تأخیر در پراکسیداسیون لیپیدی و حفاظت از یکنواختی غشا (Ha et al., 1998)، سیالیت غشاء (Takahashi et al., 2012) و تنظیم پروتئینی (Moschou et al., 2010 and Kakehi, 2008) اشاره کرد. پاسخ به شرایط تنش (Alcázar et al., 2011) اشاره کرد. بهبود در بنیه گیاهچه بعد از تیمار کردن بذرها ممکن است که به وسیله افزایش در تقسیم سلولی در مریستم انتهایی ایجاد شود که نتیجه آن افزایش در رشد گیاهچه است (Farooq et al., 2008). در همین راستا باسرا و همکاران (Basra et al., 1994) گزارش کردند که تیمار بذره‌های پیاز با PAs موجب بهبود در بنیه بذر و رشد گیاهچه‌ها بعد از یک دوره انبار کردن معین گردید.

#### تغییرات محصولات آمادوری و میلارد در بذر بعد از پیش تیمار

اثرات متقابل تیمار بذر × رطوبت بذر بر محصولات میلارد و آمادوری در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱). در بررسی اثرات متقابل بیش‌ترین محصولات آمادوری متعلق به بذره‌های شاهد (بدون تیمار) و برداشت‌شده با رطوبت ۱۴ درصد بود، کم‌ترین این صفت نیز در بذره‌های تیمار شده با پلی‌آمین اسپرمین و برداشت‌شده با رطوبت ۱۸ درصد مشاهده گردید. در بررسی اثرات متقابل بر محصولات میلارد نیز بیش‌ترین این صفت مربوط به بذره‌های شاهد (بدون تیمار) و برداشت‌شده با رطوبت ۱۴ درصد بود، کم‌ترین این صفت نیز در بذره‌های تیمار شده با پلی‌آمین اسپرمین و برداشت‌شده با رطوبت ۱۸ درصد مشاهده گردید (جدول ۴).

سطح رطوبت ۱۴ درصد: بذره‌های برداشت‌شده با سطح رطوبتی ۱۴ درصد، بیش‌ترین محصولات آمادوری متعلق به بذره‌های شاهد (بدون تیمار) و با میانگین ۰/۴۳ بود، حداقل محصولات آمادوری متعلق به بذره‌های تیمار شده با پوترسین با میانگین ۰/۳۲ بود، همچنین در این سطح رطوبتی بین تیمارهای اسپرمین و پوترسین از نظر آماری تفاوت معنی‌دار نبود، اما تفاوت آن‌ها با اسپرمیدین از نظر آماری معنی‌دار بود، به طوری که تأثیرات مثبت اسپرمیدین



سطح رطوبتی ۱۸ درصد متعلق به بذره‌های شاهد ( بدون تیمار) بود و حداقل آن در بذره‌های تیمار شده با اسپرمین و با میانگین ۰/۶ مشاهده گردید، لازم به ذکر است که تفاوت تیمارهای پلی‌آمین بر محصولات میلارد از نظر آماری با یکدیگر معنی‌دار نبود (جدول ۴).

۰/۱۷ بود. تیمارهای پلی‌آمین تأثیر یکسانی بر کاهش محصولات آمادوری داشتند و تفاوت آن‌ها با هم از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول ۴). همچنین کلیه تیمارهای پلی‌آمین و آب باعث کاهش معنی‌داری در محصولات میلارد در مقایسه با بذره‌های شاهد (بدون تیمار) گردیدند. حداکثر محصولات میلارد در

جدول ۴ - مقایسه میانگین اثر رطوبت بذر جو در زمان برداشت بر صفات مورد مطالعه پس از پیش تیمار بذر

Table 4. Means comparison of seed moisture effect in harvesting time on studied characteristics after seed pre-treatment

| رطوبت بذر (درصد)<br>Seed moisture | تیمار بذر<br>Seed treatment | محصولات میلارد<br>Maillard product<br>(شاخص FAST) | محصولات آمادوری<br>Amadori products<br>(جذب در ۵۵۰ نانومتر) | شاخص بنیه<br>Vigour index |
|-----------------------------------|-----------------------------|---|---|---------------------------|
| 14                                | شاهد Control                | 1.83 a  | 0.043 a   | 1.30 f                    |
|                                   | آب water                    | 1.8 b   | 0.04 b  | 1.34 edf                  |
|                                   | اسپرمین Spm                 | 1.6 c   | 0.033 c   | 1.63 b                    |
|                                   | پوترسین Put                 | 1.64 c  | 0.032 c   | 1.42 cdef                 |
|                                   | اسپرمیدین Spd               | 1.7 ab  | 0.035 b   | 1.43 cdef                 |
| 16                                | شاهد Control                | 1.4 a   | 0.033 a   | 1.32 df                   |
|                                   | آب water                    | 1.3 b   | 0.031 b   | 1.45 cde                  |
|                                   | اسپرمین Spm                 | 1.15 c  | 0.025 c   | 1.69 a                    |
|                                   | پوترسین Put                 | 1.2 c   | 0.027 b   | 1.60 b                    |
|                                   | اسپرمیدین Spd               | 1.2 c   | 0.027 b   | 1.49 bce                  |
| 18                                | شاهد Control                | 0.9 a   | 0.024 a   | 1.43 cdef                 |
|                                   | آب water                    | 0.8 b   | 0.022 a   | 1.56 bc                   |
|                                   | اسپرمین Spm                 | 0.6 c   | 0.017 b   | 1.71a                     |
|                                   | پوترسین Put                 | 0.7 c   | 0.018 b   | 1.65 a                    |
|                                   | اسپرمیدین Spd               | 0.7 c   | 0.018 b   | 1.60 b                    |

\*در هر ستون میانگین‌ها با حروف مشابه، بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

\*Means with same letter in each column are not significantly different at the 5% Probability level according LSD test.

خطی در دوره انبارداری بذر ماش افزایش یافت (Murthy and Sun, 2000).

مکانیزم پراکسیداسیون لیپیدی در بذرها بستگی به محتوای رطوبت آن‌ها، دمای انبار و غلظت اکسیژن دارد. از این رو محصولات حاصل از هیدرولیز قندها و پراکسیداسیون لیپیدی، ممکن است که آغازکننده تجزیه غیرآنزیمی پروتئین و DNA از طریق واکنش‌های آمادوری و میلارد باشد. این امکان نیز وجود دارد که تحت شرایط ویژه‌ای فرسوده‌شدن بذر همراه با پراکسیداسیون لیپیدی و هیدرولیز قندها نباشد (Mc Donald, 1999). واکنش‌های میلارد، واکنش‌های پیچیده‌ای هستند که بین محصولات آمادوری بعد از حمله غیر آنزیمی به پروتئین‌ها به وسیله احیای قندها یا آلدئیدها (واکنش‌های آمادوری) رخ می‌دهد (Murthy and Sun, 2000).

گیاهچه حاصل از بذرهایی که دارای محتوای بالاتری از محصولات آمادوری و میلارد بودند در واقع دارای بنیه پائین‌تری بوده و در نهایت درصد گیاهچه‌های عادی کم-تری را تولید نمودند و به‌طور کلی قوه زیست در آن‌ها با افزایش محصولات آمادوری و میلارد کاهش یافت. نتایج سایر محققین نیز مؤید این موضوع است، به‌طوری‌که طی تحقیقی روی بذر ماش نتایج بیانگر این بود که مقدار گلوکز در محورهای (جنینی) بذر با افزایش مدت انبارداری افزایش یافت. تصور بر این بود که این امر از طریق هیدرولیز تدریجی دی‌ساکاریدها و الیگوساکاریدها صورت می‌پذیرد. احیای قندهایی از قبیل فروکتوز، گالاکتوز و گلوکز نیروی اصلی پیش‌برنده واکنش‌های آمادوری و میلارد است، به‌طوری‌که شدت فلورسانس پروتئین به‌طور

فرسوده شدن بذرها هستند. لذا از آنالیز فلئورسانس پروتئین در جهت مطالعه تغییرات پروتئین در طی دوره ذخیره بذر استفاده می‌گردد (Castellion *et al.*, 2010). واکنش مایلارد ممکن است که در فرسودگی بذر از طریق تغییرات شیمیایی پروتئین‌های فعال (در حال کار) شرکت نمایند، از اینرو قابلیت متابولیک کاهش پیدا می‌کند و قابلیت سیستم متابولیک در جهت محدود کردن آسیب حاصل از رادیکال آزاد و ترمیم در طی دوره جوانه‌زنی (بذر) کاهش می‌یابد (Murthy *et al.*, 2002; Castellion *et al.*, 2010).

بذرهای خشک قادر به ترمیم و مرمت نیستند، بنابراین پروتئین و DNA که به وسیله واکنش‌های آمادوری و میلارد آسیب دیده‌اند، با گذر زمان تجمع می‌یابند و سرانجام موجب مرگ بذر می‌شوند (Mc Donald, 1999). نتایج این تحقیق بر روی بذرهاى جو نیز مؤید این یافته است، به طوری که به علت بهبود در وضعیت کیفی بذرهاى تیمار شده، حداقل واکنش آمادوری و میلارد در بذرهاى تیمار شده با PAS مشاهده گردید. درحالی که بذرهاى شاهد (بدون تیمار) شدت فلئورسانس پروتئین در آن‌ها افزایش یافته و از میزان حداکثری واکنش‌های- آمادوری و میلارد برخوردار بودند که این پدیده با کاهش بنیه بذرها توأم بود.

### نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان از تیمارهای PAS و آب جهت بهبود بنیه بذر بعد از یک دوره انبارداری و تقریباً یک ماه قبل از کاشت استفاده نمود، به طوری که تیمارهای PAS و به‌ویژه اسپرمین در این تحقیق باعث بهبود در بنیه بذر و جلوگیری از اثرات مخرب فرسودگی بر کیفیت بذر بعد از یک دوره انبارداری گردید.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان، مراتب تشکر و قدردانی خود را از مسئولین مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال کرج جهت همکاری ابراز می‌دارند.

برخی رخدادهایی که در بذرهاى خشک در مراحل اولیه فرسوده شدن رخ می‌دهند، در نهایت منجر به فرسودگی کیفیت بذر می‌شوند، بدون شک واکنش‌های هیدرولیز که در بذرهاى خشک رخ می‌دهند نه تنها کربوهیدرات‌ها بلکه سایر پلیمرهای سلولی نیز در آن درگیر هستند. نتیجه واکنش‌های هیدرولیز در بذر کاهش رطوبت آن است، در چنین وضعیتی پروتئین فسفاتاز غیرفعال شده که در نتیجه مکانسیم کانال آب معیوب و بسته می‌شود، نفوذپذیری غشاء سلولی به آب افزایش می‌یابد، بنابراین کانال‌های آب در حالت باز باقی می‌مانند و بدین طریق بذر فرسوده می‌گردد (Veselovsky and Veselova, 2012; Veselovsky and Veselova, 2006). بعلاوه محصولات واکنش‌های آمادوری و مایلارد ساختار و عمل پروتئین‌ها و DNA را تغییر می‌دهند، بدین ترتیب قادر به متلاشی نمودن غشاء و بالابردن قابلیت نفوذ غشاء به آب و الکترولیت‌ها هستند (Veselovsky and Veselova, 2012). به طوری که فرآیندهای مولکولی که در بذرها وجود می‌آیند و همین‌طور زمان آن‌ها در گونه‌های مختلف متفاوت هستند (Castellion *et al.*, 2010). محتوای آب (بذر) یک فاکتور مهم می‌باشد که بر سرعت واکنش‌های فرسودگی بذر و فرسوده شدن آن در طی دوره انبارداری مؤثر است (Matiacevich *et al.*, 2006). در بذرهاى خشک واکنش‌های آنزیمی نقش کمی را در فرسودگی بذر ایفا می‌نمایند، زیرا دارای محدودیت تحرک و پویایی هستند. به طوری که رخدادهای غیرآنزیمی ویژه از قبیل واکنش مایلارد می‌تواند در محتوای بسیار پائین آب رخ دهد (Priestley, 1986; Sun and Leopold, 1995; Wettlaufer and Leopold, 1991). واکنش مایلارد به گروهی از واکنش‌های پیچیده بر می‌گردد که پیامد آن این است که پروتئین‌ها به صورت متراکم درآمده و قابلیت حل شدنشان را از دست می‌دهند (Castellion *et al.*, 2010; Murthy and Sun, 2000). پیشنهاد شده است که محصولات واکنش مایلارد و اجزاء فلئورسانت که تشکیل شده‌اند، به طور عمده با پروتئین‌ها و این ترکیباتی که بیش تر غیر محلول و ته- نشین شده‌اند، مرتبط هستند، به طوری که رفتارهای فلئورسانت حاصل از محصولات مایلارد مرتبط با پیری و

## منابع

- Afzal, I., Basra, S.M., Shahid, M., Farooq, M. and Saleem, M. 2008. Priming enhances germination of spring maize (*Zea mays* L.) under cool conditions. *Seed Science and Technology*, 36: 497-503. **(Journal)**
- An, L.Z., Liu, G.X., Zhang, M.X., Chen, T., Liu, Y.H., Feng, H.Y., Xu, S.J., Qiang, W.Y. and Wang, X.L. 2004. Effect of enhanced UV-B radiation on polyamine content and membrane permeability in cucumber leaves, *Russian Journal of Plant Physiology*, 51: 658-662. **(Journal)**
- Alcázar, R., García-Martínez, J.L., Cuevas, J.C., Tiburico, A.F. and Altabella, T. 2005. Overexpression of ADC2 in *Arabidopsis* induces dwarfism and late flowering through GA deficiency. *Plant Journal*, 43(3): 425-436. **(Journal)**
- Baron, K. and Stasolla, C. 2008. The role of polyamines during in vivo and in vitro development. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 44(5): 384-395. **(Journal)**
- Basra, A.S., Singh, B. and Malik, C.P. 1994. Priming-induced changes in polyamine levels in relation to vigor of aged onion seeds. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 35(1): 19-23. **(Journal)**
- Bernal-Lugo, I. and Leopold, A.C. 1992. Changes in soluble carbohydrates during seed storage. *Plant Physiology*, 98(3): 1207-1210. **(Journal)**
- Bewley, J.D., Bradford, K.J., Hilhorst, H.W.M. and Nonogaki, H. 2013. Longevity, Storage, and Deterioration In: *Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy* (3<sup>th</sup> Ed.). Springer. pp: 341-376. **(Book)**
- Cao, D.D., Hu, J., Gao, C.H., Guan, Y.J., Zhang, S. and Xiao, J.F. 2008. Chilling tolerance of maize (*Zea mays* L.) can be improved by seed soaking in Putrescine. *Seed Science and Technology*, 36: 191-197. **(Journal)**
- Delouche, J.C. 1980. Environment effects on seed development and seed quality. *Horticulture Science*, 15(6): 775-780. **(Journal)**
- Farooq, M., Shahzad, M.A., Basra, H. and Rehman Hussain, M. 2008. Seed priming with polyamines improves the germination and early seedling growth in fine rice. *Journal of New Seeds*, 9(2): 145-155. **(Journal)**
- Farooq, M., Aziz, T. and Rehman, H.U. 2011. Evaluation surface drying and re-drying for wheat seed priming with polyamines: effects on emergence, early seedling growth and starch metabolism. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33: 1707-1713. **(Journal)**
- Food and Agriculture Organization. 2016. Statistics: FAOSTAT agriculture. Retrieved December 15, 2017. from <http://fao.org/crop/statistics>. **(Website)**
- Ha, H.C., Sirisoma, N.S., Kuppasamy, P., Zweier, J.L., Woster, P.M. and Casero, R.A. 1998. The natural polyamine spermine functions directly as a free radical scavenger. *Biochemistry* 5(19): 11140-11145. **(Journal)**
- Haydarpoor, D., Tavazoa, M., Sadat Rasol, S.A. and Ahmadifar, M. 2012. Barley Seed Multiplication and Supplying Program. Ministry of Jihad-e-Agriculture, (In Persian) **(Handbook)**
- International Seed Testing Association (ISTA). 2011. Proceeding of International Rules for Seed Testing. *Seed Science and Technology*, 27, Supplement. **(Handbook)**
- Kasinathan, V. and Wingler, A. 2004. Effect of reduced arginine decarboxylase activity on salt tolerance and on polyamine formation during salt stress in *Arabidopsis thaliana*. *Physiologia Plantarum*, 121(1): 101-107. **(Journal)**
- Leclere, J. and Biroluez-Aragon, I. 2001. The fluorescence of advanced Maillard products is a good indicator of lysine damage during the Maillard Reaction. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 49(10): 4682-4687. **(Journal)**
- Lehner, A., Mamadou, N., Poels, P., Come, D., Bailly, C. and Corbineau, F. 2008. Changes in soluble carbohydrates, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in the embryo during ageing in wheat grains. *Journal of Cereal Science*, 47(3): 555-565. **(Journal)**
- Liu, Y.Q., Bino, R.J., Vanderburg, W.J., Groot, S.P.C. and Hilhorst, H.W.M. 1996. Effects of osmotic priming on dormancy and storability of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) seeds. *Seed Science and Research*, 6(2): 49-55. **(Journal)**
- Matiacevich, S.B., Castellión, M.L., Maldonado, S.B. and Buera, M.P. 2006. Thermal transitions of quinoa embryos and seeds as affected by water content. In M. P. Buera, J. Welte-Chanes, H. Corti,

- and P. Lillford (Eds.), Water properties of food, pharmaceutical and biological materials, Buenos Aires CRC Press, PP: 565–570. **(Book)**
- Mc Donald, M.B. 1999. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. *Seed Science and Technology*, 27(1): 177-237. **(Journal)**
- Moschou, P.N., Wu, J., Cona, A., Tavladoraki, P., Angelini, R. and Roubelakis-Angelakis, K.A. 2012. The polyamines and their catabolic products are significant players in the turnover of nitrogenous molecules in plants. *Journal of Experimental Botany*, 63(14): 5003-5015. **(Journal)**
- Moussou, N., Corzo-Martinez, M., LuzSanz, M., Zaidi, F., Montilla, A. and Villamiel, M. 2017. Assessment of maillard reaction evolution, prebiotic carbohydrates, antioxidant activity and  $\alpha$ -amylase inhibition in pulse flours. *Journal of Food Science and Technology*, 54(4): 890–900 **(Journal)**
- Murthy, U.M.N. and Sun, W.Q. 2000. Protein modification by Amadori and Maillard reactions during seed storage. *Journal of Experimental Botany*, 51(348):1221-1228. **(Journal)**
- Murthy, U.M.N., Liang, Y., Kumar, P.P. and Sun, W.Q. 2002. Non-enzymatic proteinmodification by the Maillard reaction reduces the activities of scavenging enzymes in *Vigna radiata*. *Physiologia Plantarum*, 115: 213–220. **(Journal)**
- Murthy, U.M.N., Kumar, P.P. and Sun, W.Q. 2003. Mechanisms of seed ageing under different storage conditions for *Vigna radiata* L. Wilczek: lipid peroxidation, sugar hydrolysis, Maillard reactions, and their relationship to glass state transition. *Journal of Experimental Botany*, 54(384): 1057-1067. **(Journal)**
- Nagel, M., Kodde, J., Pistrick, S., Mascher, M., Börner, A. and Groot, S.P.C. 2016. Barley seed aging, genetics behind the dry elevated pressure of oxygen aging and moist controlled deterioration. *Frontiers in Plant Science*, 7(388): 1-11. **(Journal)**
- Powell, A.A., Matthews, S. and Oliveira, M.D.A. 1984. Seed quality in grain legumes. *Advances in Applied Microbial Biology*, 10: 217-285. **(Journal)**
- Sadeghi, H. 2009. Effect of seed moisture content at harvesting on canola seed vigour and quality in dezfol. Final report project, Ministry of Jahad-e-Agriculture, Seed and plant Certification and Registration Research Institute, Seed Certification and control Research Assistance. (In Persian)**(Research Report)**
- Sadeghi, H., Shaeidaei, S., Gholami, H. and Yari, L. 2014. Effect of packaging materials, storage duration and conditions on seed germination traits in laboratory and field emergence of soybean (*Glycine max* L.) seedling. *Iranian Journal of Seed Science and Research*, 1(1): 67-82. (In Persian)**(Journal)**
- Sedghi, M., Seyed Sharifi, R., Pirzad, A. and Amanpour-Balaneji, B. 2012. Phytohormonal regulation of antioxidant systems in petals of drought stressed pot Marigold (*Calendula officinalis* L.). *Journal of Agricultural Science and Technology*, 14(4): 869-878. **(Journal)**
- Sun, W.Q. and Leopold, A.C. 1995. The Maillard reaction and oxidative stress during ageing of soybean seeds. *Physiologia Plantarum*, 94(1): 94-104. **(Journal)**
- Sun, W.Q., Davidson, P. and Chan, H.S.O. 1998. Protein stability in the amorphous carbohydrate matrix: relevance to anhydrobiosis. *Biochemica et Biophysica Acta*, 1425(1): 245-254. **(Journal)**
- Takahashi, T. and Kakehi, J. 2010. Polyamines: ubiquitous polycations with unique roles in growth and stress responses. *Annals of Botany*, 105: 1-6.
- Veselova, T.V. and Veselovsky, V.A. 2006. Possible involvement of aquaporins in water uptake by pea seeds differing in quality. *Russian Journal of Plant Physiology*, 53(1): 96-101. **(Journal)**
- Veselovsky, V.A. and Veselova, T.V. 2012. Lipid peroxidation, carbohydrate hydrolysis, and amadori maillard reaction at early stages of dry seed aging. *Russian Journal of Plant Physiology*, 59(6): 811-817. **(Journal)**
- Wettlaufer, S.H. and Leopold, A.C. 1991. Relevance of amadori and Maillard products to seed deterioration. *Plant Physiology*, 97(1): 165-169. **(Journal)**
- Xu, S., Hu, J., Li, Y., Ma, W., Zheng, Y. and Zhu, S. 2011. Chilling tolerance in *Nicotiana tabacum* induced by seed priming with Putrescine. *Plant Growth Regulators*, 63: 279-290. **(Journal)**
- Zhang, W., Jiang, B., Li, W., Song, H., Yu, Y. and Chen, J. 2009. Polyamines enhance chilling tolerance of cucumber (*Cucumis sativus* L.) through modulating antioxidative system. *Science Horticulturae*, 122(2): 200-208. **(Journal)**



## Effect of seed treatments on Amadori and Maillard products change and seed vigour in barley (*Hordeum vulgare* L.) After 8 month storage

Leila Yari<sup>1\*</sup>, Mohammad Sedghi<sup>2</sup>, Aidin Hamidi<sup>3</sup>, Raouf Seyed Sharifi<sup>4</sup>

Received: August 2, 2017

Accepted: January 11, 2018

### Abstract

This study was conducted to investigate the role of polyamines (PAs) as priming agents on seed quality and vigour change with different moisture content (Mc)(14,16,18%) under 8 month storage conditions in barley (*Hordeum vulgare* L.) c.v Usef. Experimental units were arranged factorially in a completely randomized design with four replications for two years. The seeds were harvested at three initial moisture contents including 18, 16, 14% using wet weight basis. The seed samples then were sealed in polythene bags and stored in conditioned storages for 8 months. After that for seed priming, seeds were soaked in aerated solution of Spermine (Spm), Putrescine (Put), and Spermidine (Spd) and distilled water (W), also untreated seeds used as control. The result in two years indicated that seed treatments significantly increased the seed viability and normal seedling percentage. Interaction between seed moisture content  $\times$  seed treatments were significant ( $P < 0.01$ ) for Amadori and Maillard products. Maximum Amadori and Maillard product was detected for control (untreated seeds) and 14% MC. Whereas, minimum Amadori and Maillard product was detected for Spm seed treatment and 18% MC. Meanwhile, Amadori and Maillard products were reduced in all seed treatments. By increasing Amadori and Maillard products of seed, seedling vigour and seed viability decreased. It suggests that this technique could apply especially for improving vigor of barley seeds in at the end of storage period or at least one month before of this period. Generally, the effectiveness of PAs on improving seedling vigor was more pronounced in Spermine treatment.

**Keywords:** Amadori and Maillard products; Content at harvesting; Moisture; Polyamine; Seed vigour

### How to cite this article

Yari, L., Sedghi, M., Hamidi, A. and Seyed Sharifi, R. 2019. Effect of seed treatments on Amadori and Maillard products change and seed vigour in barley (*Hordeum vulgare* L.) After 8 month storage. Iranian Journal of Seed Science and Research, 6(2):189-201. (In Persian) (**Journal**)  
DOI: [10.22124/jms.2019.3599](https://doi.org/10.22124/jms.2019.3599)

### 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 Seed Science and Technology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
  2. Professor, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
  3. Associate Professor, Seed and Plant Certification and Registration Institute (SPCRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
  4. Associate Professor, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
- \*Corresponding author: [lielayari@gmail.com](mailto:lielayari@gmail.com)