

صلى الله عليه وسلم



دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گیلان

دانشکده تولید گیاهی

پایان نامه برای جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته
زراعت

بررسی مکانیزم زوال در بذر آفتابگردان: مسیر گلوکونئوزنز

پژوهش و نگارش

بهاره طهماسبی

استاد راهنما

دکتر فرشید قادری فر

اساتید مشاور

دکتر حمیدرضا صادقی پور

دکتر سراله گالشی

تابستان ۱۳۹۲

تعهدنامه پژوهشی

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه‌های تحصیلی دانشجویان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان مبین بخشی از فعالیت‌های علمی- پژوهشی بوده و همچنین با استفاده از اعتبارات دانشگاه انجام می‌شود؛ بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه دانش‌آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

- ۱- قبل از چاپ پایان نامه خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه اطلاع داده و کسب اجازه نمایند.
- ۲- قبل از چاپ پایان نامه در قالب مقاله، همایش، اختراع و اکتشاف و سایر موارد، ذکر نام دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان الزامی است.
- ۳- انتشار نتایج پایان نامه باید با اطلاع و کسب اجازه از استاد راهنما صورت گیرد.

اینجانب بهاره طهماسبی دانشجوی رشته زراعت مقطع کارشناسی ارشد تعهدات فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده و به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی و امضاء

تقدیم به پدر صبور و مادر مهربانم

که آموزگاران الفبای زندگی و مشوق اصلی من در تحصیل دانش بودند و مهربانانه مسیر موفقیت را در زندگی هموار نمودند.

تقدیم به برادر و خواهران عزیزم، مهربانانی که از صمیم قلب دوستان دارم.
و تقدیم به تمامی آنان که قداست علم را باور دارند.

مشکر و قدردانی

سپاس و ستایش خدای را که هر چه از او در نهایت بهمت خویش طلب کردم، در نهایت سخاوت خود به من ارزانی داشت. اکنون که در سایه الطاف خداوند متعال در پایان این مرحله از تحقیق قرار دارم، بر خود لازم می‌دانم که از زحمات استاد فرزانه جناب آقای دکتر فرشید قادری فربه خاطر راهبانی‌های ارزنده‌ای که در طول تحصیل و مراحل انجام پایان نامه ارائه نمودند و افتخارهای تازه‌ای از علم، دانش، تلاش و معرفت را به رویم گشودند کمال مشکر و قدردانی را داشته باشم.

از اساتید مشاور گرامی جناب آقایان دکتر حمیدرضا صادقی پور و دکتر سمراله کالشی به خاطر ارائه راهبانی‌ها و نظرات ارزشمند کمال مشکر و قدردانی را دارم.

از مسئولین محترم آزمایشگاه تحقیقات زراعی، آزمایشگاه فیزیولوژی و آزمایشگاه مرکز بی‌تریت جناب آقایان مهندس سیرانی و صلاحی و سرکار خانم مهندس رسنگار، خانواده، دوستان و هم‌کلاسی‌های عزیزم و همه کسانی که به نحوی در انجام این پژوهش همکاری نمودند مشکر و قدردانی می‌گردد. امید آنکه همه این بزرگواران در سایه الطاف الهی موفق و موید باشند.

بهاره طماسبی

شهریور ۱۳۹۲

چکیده

به منظور بررسی تأثیر زوال بر تغییرات بیوشیمیایی رقم ایروفلور آفتابگردان آزمایشی در آزمایشگاه تحقیقات زراعی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار و ۵ تیمار انجام گرفت. برای اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی دخیل در زوال بذور آفتابگردان، رقم مورد بررسی به مدت ۰، ۲، ۴، ۶ و ۸ روز در دمای ۴۳ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۱۰۰ درصد قرار گرفت و پارامترهای درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، هدایت الکتریکی، قند کل، قند احیایی، قند غیراحیایی، نشاسته، پروتئین، درصد روغن، اسید چرب، فعالیت آنزیم ایزوسیترات لیاز و لیپید هیدروپراکسیدها در بذره‌های زوال‌یافته اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که در بذور آفتابگردان تحت تأثیر زوال درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، و پروتئین کاهش یافت. درصد روغن و نشاسته تحت تأثیر زوال قرار نگرفتند و میزان هدایت الکتریکی، قند کل، قند احیایی، قند غیراحیایی، اسید چرب، فعالیت آنزیم ایزوسیترات لیاز و لیپید هیدروپراکسیدها افزایش یافت. تخریب غشاءهای سلولی با افزایش زوال بذر موجب افزایش نفوذپذیری غشاء و افزایش نشت الکترولیت‌ها از بذر می‌شود که افزایش میزان هدایت الکتریکی و اسیدهای چرب موید آن می‌باشند. از جمله تغییراتی که در غشاء رخ می‌دهد و باعث افزایش نشت الکترولیت‌ها از بذر می‌شود می‌توان به پراکسیداسیون چربی‌های غشاء سلولی اشاره کرد. در این تحقیق نیز نتایج به‌دست آمده نشانه این است که با افزایش مدت زمان زوال، میزان لیپید هیدروپراکسید که نشان‌دهنده پراکسیداسیون چربی‌هاست افزایش یافته و در تیمار ۸ روز زوال به حداکثر مقدار خود رسید. تجزیه لیپیدها و افزایش اسیدهای چرب، طی مسیر گلوکونئوزنز منجر به تولید قند می‌شوند. با افزایش دوره زوال فعالیت آنزیم ایزوسیترات لیاز افزایش یافت، که دلیلی برای فعالیت بیشتر مسیر گلوکونئوزنز در بذور زوال‌یافته است. قندهای احیایی تولید شده در مسیر گلوکونئوزنز نیروی پیش‌برنده دسته‌ای از واکنش‌های غیرآنزیمی با عنوان واکنش‌های آمادوری-مایلارد هستند. بر اساس این واکنش‌ها قندهای احیا شده به‌صورت غیر آنزیمی به پروتئین‌ها اضافه می‌شوند. کاهش پروتئین‌ها طی زوال گویای این مطلب است که پروتئین‌هایی که تحت تأثیر واکنش‌های آمادوری-مایلارد قرار گرفته‌اند از لحاظ عملکرد دچار اختلال بوده و در نتیجه در کارایی سلول یا بذر تأثیر می‌گذارند. افزایش اسیدهای چرب که حاصل شکسته شدن تری‌گلیسریدهاست گواه این مطلب می‌باشد که همراه با زوال بذر، ذخایر بذر از بین می‌روند که نتیجه آن کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی و کاهش رشد گیاهچه می‌باشد. همچنین قندهای تولید شده در مسیر گلوکونئوزنز بر اساس واکنش‌های غیرآنزیمی به پروتئین‌های بذر اضافه می‌شوند و منجر به اختلالاتی در پروتئین‌ها می‌شوند. در نتیجه افزایش گیاهچه‌های غیرطبیعی رخ می‌دهد که منجر به کاهش عملکرد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آفتابگردان، پراکسیداسیون لیپید، زوال، مسیر گلوکونئوزنز

فهرست مطالب

صفحه

عنوان

فصل اول: مقدمه

۱-۱- مقدمه ۲

فصل دوم: مروری بر منابع

۱-۲- اهمیت بذر و انبارداری ۶

۲-۲- زوال بذر ۶

۱-۲-۲- پراکسیداسیون لیپید ۷

۲-۲-۲- غیر فعال شدن آنزیم‌های دخیل در جوانه‌زنی ۸

۳-۲-۲- افزایش رادیکال‌های آزاد و کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌ها ۹

۳-۲-۳- مسیر گلوکونئوزنز در متابولیسم بذرهای روغنی در طی زوال بذر ۱۱

فصل سوم: مواد و روش‌ها

۱-۳- طراحی آزمایش ۱۶

۱-۱-۳- آزمون جوانه‌زنی ۱۶

۲-۱-۳- آزمون هدایت الکتریکی ۱۶

۳-۱-۳- استخراج و اندازه‌گیری روغن‌های ذخیره‌ای ۱۷

۱-۳-۱-۳- استخراج و اندازه‌گیری ۱۷

۴-۱-۳- استخراج و اندازه‌گیری پروتئین محلول ۱۷

۱-۴-۱-۳- استخراج پروتئین محلول ۱۸

۲-۴-۱-۳- تهیه نمودار استاندارد پروتئین محلول ۱۸

۳-۴-۱-۳- اندازه‌گیری پروتئین محلول ۲۰

۵-۱-۳- استخراج و اندازه‌گیری قندهای محلول ۲۰

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
۱-۵-۱-۳- استخراج قندهای محلول	۲۰
۱-۱-۵-۱-۳- اندازه‌گیری قند کل	۲۱
۲-۱-۵-۱-۳- تهیه نمودار استاندارد قند کل	۲۱
۱-۲-۵-۱-۳- اندازه‌گیری قندهای احیایی	۲۳
۲-۲-۵-۱-۳- تهیه نمودار استاندارد قندهای احیایی	۲۳
۱-۳-۵-۱-۳- اندازه‌گیری قندهای غیراحیایی	۲۵
۲-۳-۵-۱-۳- تهیه نمودار استاندارد قندهای غیراحیایی	۲۵
۶-۱-۳- استخراج و اندازه‌گیری نشاسته	۲۷
۱-۶-۲-۳- استخراج نشاسته	۲۷
۲-۶-۱-۳- اندازه‌گیری نشاسته	۲۷
۷-۱-۳- کروماتوگرافی لایه نازک روغن های ذخیره‌ای	۲۸
۸-۱-۳- استخراج و اندازه‌گیری لیپید هیدروپراکسیدها	۲۸
۱-۸-۱-۳- استخراج لیپید هیدروپراکسیدها	۲۹
۲-۸-۱-۳- رسم نمودار استاندارد لیپید هیدروپراکسید	۳۰
۹-۱-۳- استخراج و اندازه‌گیری اسید چرب	۳۲
۱-۹-۱-۳- تهیه نمودار استاندارد اسید چرب	۳۲
۲-۹-۱-۳- اندازه‌گیری اسید چرب	۳۴
۱۰-۱-۳- استخراج و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم ایزوسیترات لیاز	۳۴
۱-۱۰-۱-۳- استخراج آنزیم ایزوسیترات لیاز	۳۵
۲-۱۰-۱-۳- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم ایزوسیترات لیاز	۳۵
۲-۳- تجزیه و تحلیل آماری	۳۵

فهرست مطالب

صفحه

عنوان

فصل چهارم: نتایج و بحث

۳۸	۱-۴- درصد جوانه‌زنی
۳۸	۲-۴- سرعت جوانه‌زنی
۳۹	۳-۴- هدایت الکتریکی
۴۰	۴-۴- قند کل
۴۱	۵-۴- قندهای احیایی
۴۲	۶-۴- قندهای غیر احیایی
۴۳	۷-۴- نشاسته
۴۴	۸-۴- پروتئین
۴۵	۹-۴- درصد روغن
۴۶	۱۰-۴- مقدار اسیدهای چرب
۴۷	۱۱-۴- بررسی کیفی لیپیدهای خشی با استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک
۴۸	۱۲-۴- آنزیم ایزوسیترات لیاز
۴۹	۱۳-۴- لیپید هیدروپراکسید
۵۰	بحث
۵۵	نتیجه‌گیری کلی و پیشنهادات
۵۸	منابع

فهرست اشکال

صفحه

عنوان

- شکل ۱-۲-۱- مسیر تبدیل اسیدهای چرب با زنجیره بلند به ساکارز در گیاهان ۱۴
- شکل ۱-۳-۱- نمودار استاندارد پروتئین محلول ۱۹
- شکل ۲-۳-۲- نمودار استاندارد قند کل ۲۲
- شکل ۳-۳-۳- نمودار استاندارد قندهای احیایی ۲۴
- شکل ۴-۳-۴- نمودار استاندارد قندهای غیر احیایی ۲۶
- شکل ۵-۳-۵- نمودار استاندارد لیپید هیدروپراکسید ۳۱
- شکل ۶-۳-۶- نمودار استاندارد اسید چرب ۳۳
- شکل ۱-۴-۱- درصد جوانه‌زنی در دوره‌های مختلف زوال ۳۸
- شکل ۲-۴-۲- سرعت جوانه‌زنی در دوره‌های مختلف زوال ۳۹
- شکل ۳-۴-۳- هدایت الکتریکی در دوره‌های مختلف زوال ۴۰
- شکل ۴-۴-۴- میزان قند کل در دوره‌های مختلف زوال ۴۱
- شکل ۵-۴-۵- میزان قند احیایی در دوره‌های مختلف زوال ۴۲
- شکل ۶-۴-۶- میزان قند غیراحیایی در دوره‌های مختلف زوال ۴۳
- شکل ۷-۴-۷- میزان نشاسته در دوره‌های مختلف زوال ۴۴
- شکل ۸-۴-۸- میزان پروتئین در دوره‌های مختلف زوال ۴۵
- شکل ۹-۴-۹- میزان درصد روغن در دوره‌های مختلف زوال ۴۶
- شکل ۱۰-۴-۱۰- میزان اسید چرب در دوره‌های مختلف زوال ۴۷
- شکل ۱۱-۴-۱۱- بررسی کیفی لیپیدهای خنثی با استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک در سطوح مختلف زوال بذر ۴۸
- شکل ۱۲-۴-۱۲- میزان فعالیت آنزیم ایزوسیترات لیاز در دوره‌های مختلف زوال ۴۹
- شکل ۱۳-۴-۱۳- میزان لیپید هیدروپراکسید در دوره‌های مختلف زوال ۵۰

فهرست جداول

عنوان	صفحه
جدول ۳-۱- طرز تهیه نمودار استاندارد پروتئین محلول.....	۱۹
جدول ۳-۲- طرز تهیه نمودار استاندارد قند کل.....	۲۲
جدول ۳-۳- طرز تهیه نمودار استاندارد قندهای احیایی.....	۲۴
جدول ۳-۴- طرز تهیه نمودار استاندارد قندهای غیراحیایی.....	۲۶
جدول ۳-۵- رسم نمودار استاندارد لیپید هیدروپیراکسید.....	۳۱
جدول ۳-۶- طرز تهیه نمودار استاندارد اسید چرب.....	۳۳

فصل اول

مقدمه

۱-۱- مقدمه

آفتابگردان با نام علمی (*Helianthus annuus L.*) گیاهی یک‌ساله، از تیره مرکبه (*Compositae*) و بومی شمال آمریکا است (آماکورا و همکاران، ۲۰۱۳؛ کانلا و سودینی، ۱۹۷۷). این گیاه یکی از چهار گیاه روغنی مهم بعد از سویا، پنبه و کلزا می‌باشد (چوی و همکاران، ۲۰۱۳؛ تئودولو و ایستمون، ۲۰۱۲؛ پیرا و آگوریزابل، ۲۰۰۷). سطح زیرکشت آفتابگردان در جهان در سال ۲۰۱۰، ۲۴ میلیون هکتار و میزان تولید بذر آن ۳۲/۵۷ میلیون تن بوده است (انجمن ملی آفتابگردان، ۲۰۱۱). استان‌های اردبیل، آذربایجان شرقی، آذربایجان غربی و فارس مهم‌ترین تولیدکنندگان آفتابگردان آبی و استان‌های مازندران و گلستان مهم‌ترین تولیدکنندگان آفتابگردان دیم می‌باشند (خواجه‌پور، ۱۳۸۳).

آفتابگردان از نظر تجاری بیش‌تر به عنوان یک گیاه روغنی کشت می‌شود (واکنین و همکاران، ۲۰۰۸). بذر آفتابگردان حاوی پروتئین‌ها و روغن‌های ضروری است (خالقی‌زاده، ۲۰۱۱). روغن آفتابگردان جزو سالم‌ترین روغن‌های گیاهی و منبع بسیار خوبی برای اسیدهای چرب مورد نیاز بدن انسان از جمله لینولئیک اسید است. اسیدهای چرب عمده در روغن آفتابگردان شامل: لینولئیک اسید (۶۵٪)، اولئیک اسید (۲۵٪)، پالمیتیک اسید (۵٪) و استئاریک اسید (۵٪) می‌باشد (پیرا و همکاران، ۲۰۰۳؛ اکونومیدس، ۱۹۹۸).

بذر مظهر تجلی دستاوردهای پژوهش‌های به‌نژادگران، عامل تکثیر و بروز ویژگی‌های زراعی یک گیاه و مهم‌ترین نهاد تولید محصولات زراعی و دستیابی به پتانسیل واقعی عملکرد است (مک‌دونالد و کاپلند، ۱۹۹۶). کشاورزان دائما در جستجوی بذرهایی با کیفیت بالا برای تضمین استقرار یکنواخت مزرعه و افزایش محصول هستند (ونتورا و همکاران، ۲۰۱۲).

بذر اساس تولید در کشاورزی محسوب می‌شود و به عنوان اولین نهاد مصرفی در انتقال صفات ژنتیکی گیاه نقش غیر قابل انکاری دارد، بدون استفاده از بذر خوب حتی با صرف انرژی فراوان نیز نمیتوان به حداکثر تولید و عملکرد دست یافت. بذر تنها نهاده‌ای است که بدون هزینه‌های اضافی می‌تواند در افزایش عملکرد نقش مهمی داشته باشد (اکرم‌قادی، ۱۳۸۷).

هدف از انبارداری و ذخیره بذر، حفظ کیفیت بذر (قابلیت حیات آن) در کل دوره انبارداری می‌باشد. اگرچه شرایط انبارداری مطلوب نمی‌تواند قابلیت حیات بذر را بهبود دهد، اما انبارداری