دانشکده تولید گیاهی

پایان‌نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته
زراعت

بررسی مکانیزم‌های زوال در بذر پنبه. II. آنالیز فعالیت سیستم آنتی اکسیدانت

پژوهش و نگارش
امید سنچولی

استاد راهنما
دکتر فرشید قادری‌فر

استاد مشاور
دکتر حمیدرضا صادقی‌پور

زمستان ۱۳۹۱

بسم الله الرحمن الرحیم

تعهدنامه پژوهشی

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های 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، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به موارد ذیل متعهد می‌شوند:

۱) قبل از چاپ پایان‌نامه (رساله) خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه اطلاع داده و کسب اجازه نمایند.

۲) در انتشار نتایج پایان‌نامه (رساله) 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 (رساله) باید با اطلاع و کسب اجازه از استاد راهنما صورت گیرد.

اینجانب **امید سنچولی** دانشجوی رشته **زراعت** مقطع **کارشناسی‌ارشد** تعهدات فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده و به آن ملتزم می‌شوم.

تقدیم به اسطوره‌های

صبر، محبت، امید و تلاش

پدر فرزانه و بزرگوار

مادر مهربان و عزیزتر از جان

دایی باگذشت و با ایمان

و برادران زحمت‌کش، دوست داشتنی و خانواده‌های محترم ایشان

فصل اول: کلیات

۱-۱. کلیاتی درباره‌ی بذر، انبارداری و پرایمینگ ۲

فصل دوم: سابقه تحقیق

۲-۱. بذر ۵
۲-۲. زوال بذر ۵
۲-۳. علائم زوال بذر ۵
۲-۴. علل زوال بذر ۶
۲-۵. تنش اکسیداتیو ۷
۲-۶. انواع رادیکال‌های آزاد و اثرات مخرب آن ۸
۲-۶-۱. رادیکال سوپر اکسید ($O_2^{\cdot-}$) ۹
۲-۶-۲. پراکسید هیدروژن (H_2O_2) ۱۰
۲-۶-۳. رادیکال هیدروکسیل ($^{\cdot}OH$) ۱۰
۲-۷. مکانیسم دفاعی در برابر تنش اکسیداتیو ۱۳
۲-۸. سیستم آنتی اکسیدانت ۱۴
۲-۸-۱. کاتالاز ۱۵
۲-۸-۲. پراکسیداز ۱۵
۲-۸-۳. آسکوربات پراکسیداز ۱۶
۲-۸-۴. گلوتاتیون ردوکتاز ۱۷
۲-۸-۵. سوپر اکسید دسموتاز ۱۷
۲-۸-۶. اسید آسکوربیک ۱۸
۲-۸-۷. توکوفرول و ترکیبات فنولی ۲۰
۲-۹. اثرات زوال بر فعالیت سیستم آنتی اکسیدانت در بذر ۲۱
۲-۱۰. پرایمینگ ۲۲

فصل سوم: مواد و روش‌ها

۳-۱. آزمون جوانه‌زنی ۲۷
۳-۲. آزمون رشد گیاهچه (طول و وزن خشک گیاهچه) ۲۸

۳-۳. آزمون قدرت گیاهچه ۲۸
۳-۴. آزمون هدایت الکتریکی ۲۸
۳-۵. استخراج و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز ۲۹
۳-۵-۱. مواد و محلول‌ها ۲۹
۳-۵-۲. استخراج آنزیم کاتالاز ۲۹
۳-۵-۳. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز ۲۹
۳-۶. استخراج و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز ۳۰
۳-۶-۱. مواد و محلول‌ها ۳۰
۳-۶-۲. استخراج آنزیم پراکسیداز ۳۱
۳-۶-۳. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز ۳۱
۳-۷. استخراج و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ۳۲
۳-۷-۱. مواد و محلول‌ها ۳۲
۳-۷-۲. استخراج آنزیم آسکوربات پراکسیداز ۳۲
۳-۷-۳. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ۳۲
۳-۸. استخراج و اندازه‌گیری آسکوربیک اسید ۳۳
۳-۸-۱. مواد و محلول‌ها ۳۳
۳-۸-۲. استخراج اسید آسکوربیک ۳۴
۳-۸-۳. اندازه‌گیری اسید آسکوربیک ۳۴
۳-۸-۴. تهیه نمودار استاندارد اسید آسکوربیک ۳۴
۳-۹. اندازه‌گیری پراکسید هیدروژن (H_2O_2) ۳۵
۳-۹-۱. مواد و محلول‌ها ۳۵
۳-۹-۲. تهیه نمودار استاندارد پراکسید هیدروژن (H_2O_2) ۳۶
۳-۹-۳. استخراج پراکسید هیدروژن ۳۷
۳-۹-۴. اندازه‌گیری پراکسید هیدروژن ۳۷
۳-۱۰. پراکسیداسیون لیپید ۳۸
۳-۱۰-۱. مواد و محلول‌ها ۳۸
۳-۱۰-۲. اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپید ۳۸
۳-۱۱. لیپید هیدروپراکسیدها ۳۹

۳-۱۱-۱. مواد و محلول‌ها ۳۹
۳-۱۱-۲. استخراج و اندازه‌گیری لیپید هیدروپراکسیدها ۳۹
۳-۱۱-۳. رسم نمودار استاندارد لیپید هیدروپراکسید ۴۰
۳-۱۲. روش تجزیه و تحلیل داده‌ها ۴۱

فصل چهارم: نتایج و بحث

۴-۱. آنالیز داده‌های غیرآنزیمی ۴۳
۴-۱-۱. درصد جوانه‌زنی ۴۳
۴-۱-۲. سرعت جوانه‌زنی ۴۴
۴-۱-۳. یکنواختی جوانه‌زنی ۴۵
۴-۱-۴. طول و وزن خشک گیاهچه ۴۶
۴-۱-۵. قدرت گیاهچه ۴۷
۴-۱-۶. هدایت الکتریکی ۴۸
۴-۲. تجزیه داده‌های بیوشیمیایی در بذر ۴۹
۴-۲-۱. آنزیم کاتالاز ۵۰
۴-۲-۲. آنزیم پراکسیداز ۵۰
۴-۲-۳. آنزیم آسکوربات پراکسیداز ۵۱
۴-۲-۴. اسید آسکوربیک ۵۱
۴-۲-۵. پراکسید هیدروژن ۵۲
۴-۲-۶. لیپید هیدروپراکسید ۵۳
۴-۳. تجزیه داده‌های بیوشیمیایی در گیاهچه ۵۴
۴-۳-۱. آنزیم کاتالاز ۵۵
۴-۳-۲. آنزیم پراکسیداز ۵۵
۴-۳-۳. آنزیم آسکوربات پراکسیداز ۵۶
۴-۳-۴. اسید آسکوربیک ۵۷
۴-۳-۵. پراکسید هیدروژن ۵۸
۴-۳-۶. لیپید هیدروپراکسید ۵۹
۴-۴. بحث ۶۰

فصل پنجم: نتیجه‌گیری کلی و پیشنهادات

۵-۱. نتیجه‌گیری کلی ۶۶
۵-۲. پیشنهادها ۶۶

فصل ششم: فهرست منابع

فهرست منابع ۶۸

شکل ۲-۱. نحوه‌ی عمل پالایش رادیکال‌های آزاد به وسیله‌ی سیستم آنتی اکسیدانت..... ۱۴
شکل ۲-۲. واکنش دیسموتاسیون رادیکال سوپر اکسید و چرخه گلوتاتیون-آسکوربات..... ۱۶
شکل۲-۳. موقعیت سلولی سوپراکسید دسموتاز در بخش‌های مختلف سلول..... ۱۸
شکل ۲-۴. نحوه عمل سیستم‌های آنزیمی پالاینده ROS و ترکیبات آنتی اکسیدانت سلولی در مواجه با تنش اکسیداتیو..... ۲۰
شکل ۲-۵. اتفاقات رخ داده در طی آبگیری و الگوی سه مرحله‌ای جذب آب به وسیله بذرهای در حال جوانه‌زنی..... ۲۳
شکل۳-۱. تغییرات جذب نور طی زمان در مخلوط واکنش آنزیم کاتالاز در تیمار شاهد بذر پنبه ۳۰
شکل۳-۲. تغییرات جذب نور طی زمان در مخلوط واکنش آنزیم پراکسیداز در تیمار شاهد بذر پنبه ۳۱
شکل۳-۳. تغییرات جذب نور طی زمان در مخلوط واکنش آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تیمار شاهد بذر پنبه ۳۳
شکل۳-۴. نمودار استاندارد اسید آسکوربیک..... ۳۵
شکل۳-۵. نمودار استاندارد پراکسید هیدروژن..... ۳۷
شکل۳-۶. نمودار استاندارد پراکسیداسیون لیپید..... ۴۱
شکل ۴-۱. بررسی اثر تیمار پرایمینگ بر درصد جوانه‌زنی بذور پنبه در طی زوال..... ۴۴
شکل ۴-۲. بررسی اثر تیمار پرایمینگ بر سرعت جوانه‌زنی بذور پنبه در طی زوال..... ۴۵
شکل ۴-۳. بررسی اثر تیمار پرایمینگ بر یکنواختی جوانه‌زنی بذور پنبه در طی زوال..... ۴۶
شکل ۴-۴. بررسی اثر تیمار پرایمینگ بر طول گیاهچه و وزن خشک بذور پنبه در طی زوال..... ۴۷
شکل ۴-۵. بررسی اثر تیمار پرایمینگ بر قدرت گیاهچه بذور پنبه در طی زوال..... ۴۸
شکل ۴-۶. بررسی اثر تیمار پرایمینگ بر هدایت الکتریکی بذور پنبه در طی زوال..... ۴۹
شکل ۴-۷. بررسی اثر تیمار پرایمینگ بر فعالیت آنزیم کاتالاز در بذور پنبه در طی زوال..... ۵۰
شکل ۴-۸. بررسی اثر تیمار پرایمینگ بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در بذور پنبه در طی زوال..... ۵۱
شکل ۴-۹. بررسی اثر تیمار پرایمینگ بر فعالیت اسید آسکوربیک در بذور پنبه در طی زوال..... ۵۲
شکل ۴-۱۰. بررسی اثر تیمار پرایمینگ بر فعالیت پراکسید هیدروژن در بذور پنبه در طی زوال..... ۵۳
شکل ۴-۱۱. بررسی اثر تیمار پرایمینگ بر فعالیت هیدروپراکسید در بذور پنبه در طی زوال..... ۵۴
شکل ۴-۱۲. بررسی اثر تیمار پرایمینگ بر فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهچه بذور پنبه در طی زوال..... ۵۵

شکل ۴-۱۳. بررسی اثر تیمار پرایمینگ بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهچه بذور پنبه در طی زوال..... ۵۶
شکل ۴-۱۴. بررسی اثر تیمار پرایمینگ بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گیاهچه بذور پنبه در طی زوال..... ۵۷
شکل ۴-۱۵. بررسی اثر تیمار پرایمینگ بر فعالیت اسید آسکوربیک درگیاهچه بذور پنبه در طی زوال..... ۵۸
شکل ۴-۱۶. بررسی اثر تیمار پرایمینگ بر فعالیت پراکسید هیدروژن درگیاهچه بذور پنبه در طی زوال..... ۵۹
شکل ۴-۱۷. بررسی اثر تیمار پرایمینگ بر فعالیت هیدرو پراکسید درگیاهچه بذور پنبه در طی زوال..... ۶۰

جدول ۲-۱. مکانیسم و محل تولید انواع اکسیژن فعال در سلول‌های گیاهی..... ۹
جدول ۳-۱. طرز تهیه نمودار استاندارد اسید آسکوربیک..... ۳۵
جدول ۳-۲. طرز تهیه نمودار استاندارد پراکسید هیدروژن ۳۶
جدول ۳-۳. رسم نمودار استاندارد لیپید هیدروپراکسید ۴۱
جدول ۴-۱. درجه آزادی و میانگین مربعات مؤلفه‌های جوانه‌زنی بذرهای پنبه پرایمینگ شده با شاهد بدون پرایمینگ در سطوح مختلف زوال بذر ۴۳
جدول ۴-۲. درجه آزادی و میانگین مربعات مؤلفه‌های آنزیمی بذرهای پنبه پرایمینگ شده با شاهد شاهد بدون پرایمینگ در سطوح مختلف زوال بذر ۴۹
جدول ۴-۳. درجه آزادی و میانگین مربعات مولفه های آنزیمی گیاهچه‌های پنبه پرایمینگ شده با شاهد بدون پرایمینگ در سطوح مختلف زوال بذر ۵۴

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی تأثیر تیمار پرایمینگ بر فعالیت سیستم آنتی اکسیدانت طی زوال پنبه رقم ارمغان انجام شد. برای اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی دخیل در زوال، بذور پنبه به مدت ۰، ۲، ۴، ۶ و ۸ روز در دمای ۴۳ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۱۰۰ درصد قرار گرفتند. سپس نیمی از بذرها برای انجام تیمار پرایمینگ به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در داخل آب قرار گرفتند و پس از آبنوشی، خشک شدند. نتایج نشان داد که درصد و سرعت جوانه‌زنی و طول و وزن خشک گیاهچه بذرهای زوال یافته پنبه کاهش یافت، در حالی‌که تیمار پرایمینگ منجر به بهبود درصد و سرعت جوانه‌زنی و هم‌چنین افزایش طول و وزن خشک گیاهچه بذرهای زوال یافته پنبه گردید. با افزایش دوره زوال فعالیت آنزیم کاتالاز در بذر خشک کاهش یافت و تیمار پرایمینگ باعث افزایش فعالیت این آنزیم در بذرهای زوال یافته نگردید. فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهچه تحت تأثیر زوال قرار نگرفت، اما تیمار پرایمینگ باعث افزایش فعالیت این آنزیم در کلیه سطوح زوال گردید. فعالیت آنزیم پراکسیداز در بذر و گیاهچه تحت تأثیر زوال قرار نگرفت، اما هم در بذر و هم درگیاهچه، فعالیت این آنزیم در تیمار پرایمینگ کاهش یافت. هم‌چنین پرایمینگ باعث فعال شدن آنزیم آسکوربات پراکسیداز در کلیه سطوح زوال گردید. با افزایش دوره زوال مقدار اسید آسکوربیک در بذر خشک و گیاهچه افزایش یافت. در بذر خشک تیمار پرایمینگ باعث کاهش مقدار اسید آسکوربیک شد، درحالی‌که پرایمینگ در گیاهچه باعث افزایش اسید آسکوربیک در کلیه سطوح زوال گردید. با افزایش دوره زوال هم مقدار پراکسید هیدروژن و هم مقدار لیپید هیدروپراکسید در بذر خشک و گیاهچه افزایش یافت. افزایش این دو صفت با افزایش هدایت الکتریکی بذرها همراه بود. تیمار پرایمینگ به خوبی توانست مقدار پراکسید هیدروژن و لیپید هیدروپراکسید را در بذرهای زوال یافته کاهش دهد. به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد کاهش مؤلفه‌های جوانه‌زنی بذرهای پنبه در طی زوال با اختلال در فعالیت سیستم آنتی اکسیدانت و افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و لیپید هیدروپراکسید ارتباط دارد و تیمار پرایمینگ با بهبود سیستم آنتی اکسیدانت باعث کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و لیپید هیدروپراکسید شده و در نتیجه منجر به افزایش مؤلفه‌های جوانه‌زنی در بذر پنبه گردید.

واژه‌های کلیدی: پنبه؛ پیری؛ پرایمینگ بذر؛ رادیکال های آزاد اکسیژن؛ آنتی اکسیدانت.

فصل اول

کلیات

بذر مهم‌ترین نهاده در کشاورزی بوده و با در نظر گرفتن سایر شرایط، مهم‌ترین نهاده جهت افزایش عملکرد و بذرهای با کیفیت بالا می‌باشند. بنابراین جهت دست‌یابی آسان به حداکثر عملکرد دانه و بهره‌وری بیشتر از منابع، لزوم استفاده از بذور با قدرت بالا بیش از هر زمان دیگر احساس می‌گردد.

پنبه یکی از قدیمی‌ترین و مهم‌ترین گیاهان لیفی و روغنی از تیره پنیرک (Malvaceae) محسوب می‌گردد، به طوری که به آن طلای سفید می‌گویند (خدابنده، ۱۳۸۴). این گیاه دارای ۵۰ گونه مختلف است که در بین آن‌ها گونه با نام علمی (*Gossypium hirsutum* L.)، دارای بیشترین سطح زیر کشت در جهان می‌باشد (ژانگ و همکاران، ۲۰۰۰). دانه پنبه از جمله منابع مهم پروتئین نباتی است که با تولید انبوه خود علاوه بر تأمین روغن نباتی می‌تواند بخشی از کمبود روز افزون جهانی مواد پروتئینی را جبران نماید. سیستم رشدی گیاه زراعی پنبه از نوع نامحدود است. این گیاه یک ساله از جمله گیاهان مهم و با نقدینگی بالا محسوب می‌شود. پنبه مهم‌ترین گیاه لیفی دنیاست و بعد از سویا دومین گیاه مهم از لحاظ تولید روغن محسوب می‌شود (ارزانی، ۱۳۸۰).

جوانه‌زنی یکی از مراحل مهم و حساس در چرخه زندگی گیاه (دویلرس و همکاران، ۱۹۹۴) و از فرآیندهای کلیدی در سبز شدن گیاهچه است (فورسلا و همکاران، ۲۰۰۰). فرآیند جوانه‌زنی توسط عوامل محیطی و هورمونی کنترل می‌شود و در بین عوامل محیطی دمای خاک، رطوبت خاک، هوای خاک و نور نقش مهم‌تری دارند (بیولی و بلاک، ۱۹۸۵). جوانه زدن و ظهور گیاهچه نیازمند انرژی فراوان است که توسط اکسیداسیون مواد غذایی ذخیره شده در بذر تأمین می‌گردد. انرژی که در پیوندهای شیمیایی کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها وجود دارد توسط هضم و فسفریلاسیون تنفسی آزاد می‌شود و مولکول‌های نوکلئوتیدی پرانرژی از قبیل ATP در میتوکندری‌ها تولید می‌گردد. در مجموع بالا بودن میزان ذخایر بذر موجب تولید گیاهچه‌های قوی‌تر، افزایش سطح برگ و ارتفاع گیاه، افزایش کارایی فتوسنتز و در نهایت بالا رفتن عملکرد خواهد شد (سرمدنیا و کوچکی، ۱۳۸۲).

اگر کیفیت بذر به عنوان درجه یا معیاری از برتری تعریف شود، در نتیجه کیفیت بذر را می‌توان به عنوان معیار برتری در صفات یا ویژگی‌های معین به کار برد که میزان کارایی بذر را در هنگامی که کاشته یا انبار می‌شود، تعیین می‌نماید. کیفیت بذر به عنوان اندام تکثیر گیاهان و مهم‌ترین نهاده تولید

محصولات زراعی از اهمیت خاصی در رشد و عملکرد مطلوب گیاهان زراعی در مزرعه برخوردار است که تحت تأثیر عوامل مختلفی مثل خصوصیات ژنتیکی، قوه نامیه یا قابلیت جوانه‌زنی، بنیه، میزان رطوبت، کیفیت انبارداری، قابلیت ماندگاری و سلامت بذر می‌باشد، ولی مهم‌ترین آن‌ها میزان جوانه زدن و قدرت بذر می‌باشد (قاضوی، ۱۳۸۹).

یکی از عوامل مؤثر در کیفیت بذر شرایط نگهداری بذر در انبار می‌باشد. هر چه شرایط انبار از لحاظ رطوبت و دما نامساعد باشد کیفیت بذر سریع‌تر کاهش می‌یابد. محققان علت کاهش کیفیت بذر در طی انبارداری را افزایش رادیکال‌های آزاد و کاهش فعالیت سیستم آنتی اکسیدانت بیان کردند. به طور کلی در حالت طبیعی و بدون زوال میزان فعالیت آنزیم‌های پالاینده اکسیژن فعال بالا می‌باشد و در نتیجه باعث کاهش تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن و پالایش این رادیکال‌های آزاد در بذرها می‌گردد. اما در طی زوال این موازنه به هم خورده و تعداد رادیکال‌های آزاد اکسیژن افزایش و فعالیت آنزیم‌های پالاینده اکسیژن فعال کاهش می‌یابد (هسو و همکاران ۲۰۰۳؛ ونگ و همکاران ۲۰۰۳). افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن منجر به افزایش پراکسیداسیون لیپید شده و به دنبال آن کارایی جوانه‌زنی بذرها کاهش می‌یابد (بیلی و همکاران، ۲۰۰۰).

پرایمینگ بذر یکی از روش‌های پیشرفته استفاده از تکنولوژی آبگیری بذر است. در پرایمینگ، به بذر اجازه جذب آب به صورت کنترل شده پیش از کشت داده می‌شود که فعالیت‌های نخستین جوانه‌زنی آغاز شود، اما از خروج ریشه‌چه جلوگیری شود. سپس بذر خشک شده و تا زمان کاشت قابلیت نگهداری را دارا می‌باشد (بورگن و همکاران، ۲۰۰۰). با این روش می‌توان قدرت جوانه‌زنی و رویش بذر را در شرایط برخورد با تنش افزایش داد. هم‌چنین برخی از مطالعات حاکی از آن است که پرایمینگ باعث بهبود کیفیت بذر می‌گردد. پرایمینگ بذر باعث افزایش میزان اسیدهای نوکلوئیک، پروتئین‌ها و افزایش تحرک مواد ذخیره شده در بذر می‌گردد، در نتیجه بذر سریع‌تر جوانه زده و گیاهچه در سطح خاک ظاهر می‌گردد. جوانه‌زنی سریع‌تر باعث افزایش قدرت و استقرار گیاه شده و گیاه بهتر می‌تواند از منابع استفاده کرده و عملکرد نهایی گیاه نیز افزایش می‌یابد (برادفورد، ۱۹۹۵). محققان علت بهبود کیفیت بذر در اثر پرایمینگ را افزایش فعالیت سیستم آنتی اکسیدانت و پالایش رادیکال‌های آزاد در این تکنیک می‌دانند که در نهایت منجر به بهبود کیفیت بذر می‌گردد (گوئل و همکاران، ۲۰۰۳).

با توجه به اهمیت آنتی اکسیدانت‌ها در پالایش رادیکال‌های آزاد، هدف از این مطالعه بررسی اثرات پرایمینگ بر فعالیت سیستم آنتی اکسیدانت در بذرهای زوال یافته پنبه بود.

فصل دوم

سابقه تحقیق

۲-۱. بذر

از نظر بیولوژی بذر را می‌توان تخمک رسیده و بارور تعریف نمود. اما تعریف بذر از نظر کشاورزی تا حدودی جامع‌تر است. در بیشتر گونه‌ها که شامل خانواده گرامینه و آستراسه نیز می‌شود بذر، میوه‌ای با تخمک منفرد است که خشک و شکوفا می‌باشد. در میان هزاران گونه زراعی و وحشی تنوع بذرها از نظر فیزیکی (اندازه ، شکل و رنگ)، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی بسیار زیاد است (سرمدینا و کوچکی ،۱۳۸۲). جوانه‌زنی عبارت است از فعال شدن متابولیکی بذر و بیرون آمدن ریشه‌چه و ساقه‌چه که در نهایت منجر به تولید گیاهچه می‌شود و حساس‌ترین مرحله زندگی و استقرار یک گیاه است که با جذب آب شروع می‌شود و با خروج ریشچه به اندازه ۲ میلی‌متر پایان می‌یابد (برادفورد، ۱۹۸۶).

۲-۲. زوال بذر

بذرها همانند هر اندام دیگر پیر شده و از بین می‌روند. به فرآیند کاهش کیفیت بذر با گذشت زمان پیری یا زوال بذر اطلاق می‌گردد که این فرآیند، توانایی بذر را برای زنده ماندن کاهش می‌دهد (اکرم قادری، ۱۳۸۷). زوال بذر یک ویژگی ناخواسته در کشاورزی است که باعث کاهش عملکرد دانه و ضرر اقتصادی می‌شود. سرعت زوال بذر به ساختار ژنتیکی، محیط تولید بذر و شرایط انبارداری بستگی دارد (کالپانا و مادهاوا رائو، ۱۹۹۶). دما و رطوبت نسبی محیط انبار از مهم‌ترین عوامل محیطی تأثیرگذار بر زوال بذر در طی انبارداری می‌باشند و کاهش این دو عامل در طی انبارداری، منجر به افزایش طول دوره انبارداری بذرها می‌گردد (بسرا و همکاران، ۲۰۰۳).

۲-۳. علائم زوال بذر

الگوی کاهش قابلیت حیات بذر در طی انبارداری آن‌ها به صورت یک منحنی سیگموئیدی کاهشی است که علت کاهش قوه حیات بذر آسیب‌هایی است که در طی زمان به بذر انبار شده وارد می‌شود. با زوال بذر، قدرت بذر اولین جزء از کیفیت بذر است که کاهش می‌یابد و به دنبال آن ظرفیت جوانه‌زنی و قوه نامیه نیز کاهش نشان می‌دهند (مک دونالد، ۱۹۹۹؛ بسرا و همکاران، ۲۰۰۳). شرایط انباری متفاوت می‌تواند باعث ایجاد اختلاف‌های معنی‌داری در جوانه زنی و سبزشدن گیاهان شود (بگنامی و کورتلازو، ۱۹۹۶؛ روبرتس و بونسو، ۱۹۸۸؛ الیس و همکاران، ۱۹۸۸؛ پاول، ۱۹۹۸؛ بسرا، ۲۰۰۲؛ ورما و همکاران، ۲۰۰۳؛ مارشال و لویس، ۲۰۰۴). کریستنسن (۱۹۷۲) بیان کرد که در طی انبارداری، کاهش قابلیت حیات بذرها به عوامل متعددی بستگی دارد که می‌توان آن‌ها را به تغییرات فیزیولوژیکی و تغییرات بیوشیمیایی تقسیم کرد. تغییرات فیزیولوژیکی باعث کاهش سرعت جوانه زنی و کاهش رشد گیاهچه می‌گردد و تغییرات بیوشیمیایی باعث کاهش فعالیت‌های متابولیکی در حین جوانه زنی، تغییر در فعالیت‌های آنزیمی و کاهش بیوسنتز اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها می‌گردد (باسو و همکاران، ۲۰۰۴). بسرا و همکاران (۲۰۰۳) دریافتند که پیری نه تنها درصد جوانه زنی و بنیه بذر پنبه را کاهش می‌دهد بلکه با کاهش طول ریشه‌چه و کولئوپتیل و کاهش وزن تر و خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه، کاهش رشد گیاهچه را نیز نشان می‌دهد.

۲-٤. علل زوال بذر

از مهم‌ترین عوامل محیطی تأثیرگذار بر زوال بذر در طی انبارداری دما و رطوبت نسبی محیط انبار می‌باشند (شارما و همکاران، ۲۰۰۷). نظر به این که دسترسی به ذخیره کافی بذر گیاهان زراعی با کیفیت مرغوب برای تولیدکنندگان بذر ضروری است، بنابراین درک اساسی از مکانیزم‌های زوال بذر در هر گیاهی مهم می‌باشد (اکرم قادری، ۱۳۸۷). در مطالعه زوال بذرها درک عوامل بنیادینی که باعث القای پیری می‌شوند، ضروری است. چندین مطالعه جامع پراکسیداسیون لیپید، غیر فعال شدن آنزیم‌ها، اختلال در غشاها، اختلال میتوکندریایی، اضمحلال پروتئین‌ها و ایجاد خلل در انسجام ژنتیکی و افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال را علل اصلی زوال دانسته‌اند (ویلسون و مک‌دونالد، ۱۹۸۶).

پراکسیداسیون لیپید با تولید رادیکال‌های آزاد از طریق آنزیمی یا غیرآنزیمی شروع می‌شود. در روش آنزیمی، رادیکال آزاد به وسیله آنزیم‌های لیپوکسیژناز تولید می‌شود که در بسیاری از بذرها وجود دارد (تراواتا و همکاران، ۱۹۹۵). مکانیزم غیرآنزیمی اغلب به وسیله مولکول اکسیژن مجاور اسیدهای چرب غیر اشباع نظیر اسید اولئیک و اسید لینولئیک که از رایج‌ترین اسیدهای چرب غشای بذر هستند، آغاز می‌شود. نتیجه این عمل آزاد شدن یک رادیکال آزاد است که غالباً هیدروژن (H°) آزاد شده از یک گروه متیلنی مجاور پیوند دو گانه اسیدچرب می‌باشد. در سایر موارد، ممکن است رادیکال آزاد هیدروژن با سایر رادیکال‌های آزاد گروه‌های کربوکسیل (ROOH) ترکیب شوند و در نتیجه آن رادیکال آزاد پراکسی (ROO°) تولید می شود. به محض تولید این رادیکال‌های آزاد، خسارت شدیدی به غشاها وارد شده و این خسارت به ویژه توسط رادیکال‌های آزادی ایجاد می‌شود که انتقال الکترون آن‌ها بیشتر است. این رادیکال‌ها به تولید رادیکال‌های آزاد دیگر ادامه می‌دهند تا زمانی که با سایر رادیکال‌ها تلفیق شوند و این پایان واکنش است. در این حالت این رادیکال‌های آزاد به غشاها خسارت وارد می‌کنند و باعث تغییراتی در کیفیت روغن می‌شوند. در نتیجه اسیدهای چرب با زنجیره طولانی به اجزای کوچک‌تر شکسته می‌شوند و برخی از آن‌ها به صورت هیدروکربن‌های فرار آزاد می‌شوند (ویسلون و مک دونالد، ۱۹۸۶). پیامد نهایی این سلسله واکنش‌ها، اختلال ساختار غشاء، نشت سلولی و اختلال در متابولیسم طبیعی سلول می‌باشد. پراکسیداسیون لیپید اثرات مخربی بر عملکرد میتوکندری از طریق اضمحلال غشا خواهد داشت و موجب کاهش میزان ATP تشکیل شده درطول جوانه‌زنی می‌شود (کوربینو و همکاران، ۲۰۰۲). میتوکندری‌ها ATP لازم برای رشد سریع گیاهچه را در طول جوانه‌زنی فراهم می‌کنند (مک دونالد، ۱۹۹۹).

تغییر در ساختار پروتئین بذرها نیز یکی دیگر از اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد است. رادیکال‌های آزاد پراکسیدهای لیپیدی به واسطه تغییر ویژگی‌های فیزیکی و کاتالیتکی به سیتوکروم C خسارت وارد می‌کنند، که نشان دهنده این است که رادیکال‌های آزاد به وسیله پیوندهای کووالانسی به پروتئین‌ها متصل می‌شوند (تاپل، ۱۹۶۲).

۲-۵. تنش اکسیداتیو

تنش‌های محیطی از عوامل اصلی کاهش دهنده رشد و نمو و عملکرد گیاهان زراعی به شمار می‌آیند و همواره امنیت غذایی انسان‌ها را تهدید می‌کنند. عوامل محیطی که سبب تنش اکسیداتیو می‌شوند شامل آلودگی هوا (افزایش مقدار ازن یا دی‌اکسید گوگرد)، علف‌کش‌های اکسیدانت (مثل پاراکوات دی‌کلرید)، فلزات سنگین، خشکی، گرما، سرما، جراحت، اشعهUV، عفونت‌های پاتوژن و زوال یا پیری می‌باشند (لاوید و همکاران، ۲۰۰۱؛ سپانن و فاجرستد، ۲۰۰۰) که با افزایش تولید انواع اکسیژن فعال به بیومولکول‌های حیاتی سلول نظیر لیپیدها، DNA، پروتئین‌ها و برخی نقاط کلیدی آسیب وارد کرده و در نهایت متابولیسم سلول را مختل می‌نمایند. تنش اکسیداتیو در پاسخ به تنش در گیاهان نیز ایجاد می‌شود که در نتیجه این فرآیند، انواع گونه اکسیژن فعال (ROS) تولید می‌گردد (بورسانی و همکاران، ۲۰۰۱). تولید انواع فعال اکسیژن یک رخداد اولیه تحت شرایط مختلف تنش است (نوکتر و فویر، ۱۹۹۸). اهمیت تشکیل ROS به شدت تنش و شرایط فیزیکوشیمیایی سلول، برای مثال وضعیت آنتی‌اکسیدانت‌ها، حالت احیایی و pH وابسته است. اصولاً اکسیژن فعال تولید شده تحت تنش، عامل اصلی پراکسیداسیون لیپیدها، غیرفعال کردن آنزیم‌ها و آسیب‌های اکسیداتیو به DNA است (بلوخینا، ۲۰۰۰؛ سرینی واسولو و همکاران، ۲۰۰۰؛ بریوسگم و همکاران، ۲۰۰۱؛ میتلر، ۲۰۰۲؛ نیل و همکاران، ۲۰۰۲؛ دیگو و همکاران، ۲۰۰۳؛ میتوفر و همکاران، ۲۰۰۴).

۲-٦. انواع رادیکال‌های آزاد و اثرات مخرب آن

تمامی اتم‌هایی که مولکول‌ها را تشکیل می‌دهند، در بردارنده اوربیتال‌هایی هستند که صفر، یک یا دو الکترون اشغال می‌کنند. هر الکترون جفت نشده در یک اوربیتال نسبت به هر الکترون جفت شده در یک اوربیتال انرژی بیشتری حمل می‌کند. یک مولکول که دارای الکترون جفت نشده باشد، رادیکال آزاد نامیده می‌شود (بیلی و همکاران، ۲۰۰۸). رادیکال‌های آزاد در حالت غیرآنزیمی به غشاها خسارت وارد می‌کنند و باعث تغییراتی در کیفیت روغن می‌شوند. در نتیجه اسیدهای چرب با زنجیره طولانی به اجزای کوچک‌تر شکسته می‌شوند و برخی از آن‌ها به صورت هیدروکربن‌های فرار آزاد می‌شوند (ویسلون و مک دونالد، ۱۹۸۶؛ وگا و همکاران، ۲۰۰۳). پیامد نهایی این سلسله واکنش‌ها، اختلال ساختار غشا، نشت سلولی و اختلال در متابولیسم طبیعی سلول می‌باشد. اشکال مختلفی از