

Research Article

Investigation of germination, reservoirs content, and enzyme activity in *Lallemantia iberica* and *Lallemantia royleana* seeds under natural and artificial aging conditionsArezoo Paravar ^{1,*}, Saeideh Maleki Farahani ¹, Alireza Rezazadeh ²**Extended abstract**

Introduction: Production of high-quality seeds is a major concern in the agriculture industry. The lifespan of a seed, which can extend over several decades, is essential for safeguarding the plant's genetic resources. Storage conditions, including seed moisture level, relative humidity, gases (such as oxygen, nitrogen, and carbon dioxide), and temperature, are the primary factors that determine seed lifespan. Among these aging treatment, oxygen has the most detrimental effect on seed germination, storage metabolic activities, and enzyme activity of dried seeds. *Lallemantia iberica* and *Lallemantia royleana* seeds contain high levels of fatty acids, especially linolenic acid (56-67%), which have significant beneficial effects on health. However, a large number of *L. iberica* and *L. royleana* seeds deteriorate due to inadequate storage conditions by most farmers. The aim of this study is to investigate the effects of different storage conditions, especially natural and controlled aging, aging with oxygen, and nitrogen on germination, chemical activities, metabolic reserves, and enzymatic activities of dry *L. iberica* and *L. royleana* seeds.

Materials and Methods: A factorial experiment based on a completely randomized design with four replications was carried out in the seed science laboratory at the Faculty of Agriculture, Shahid University in 2021. The experimental treatments included storage environments (control, natural aging, controlled aging, and aging with oxygen and nitrogen pressure) and plant species (*Lallemantia iberica* and *Lallemantia royleana*).

Results: The results indicated that aging with oxygen had the most detrimental impact on the germination rate, seed germination, reservoirs content, and the activity of alpha and beta amylase enzymes, compared with controlled and natural aging in both species. Conversely, the highest levels of electrical conductivity, hydrogen peroxide, lipid peroxidation, and saturated and unsaturated fatty acids were observed in dry seeds stored under oxygen aging conditions. In comparison to artificial aging (controlled aging and oxygen aging), seeds stored under natural aging conditions exhibited the highest germination rate, storage compound content, and α amylase enzyme activity. Throughout the storage process, it was observed that the deterioration rate was higher in the dry seeds of *L. iberica* compared with *L. royleana*.

Conclusions: Aging with oxygen can be regarded as a rapid artificial aging method for assessing the longevity of dry seeds. Conversely, the use of low temperature and humidity conditions in natural aging can be considered a practical method for preserving the quality and longevity of seeds. Due to their high content of storage compounds (sucrose, starch, and total sugar content), *L. royleana* seeds can be stored for extended periods.

Keywords: *Amylase enzyme activity, Lipid peroxidation, Oxygen aging, Sucrose content***Highlights:**

1. Seed aging led to an increase in biochemical indices such as lipid peroxidation, hydrogen peroxide, and saturated and unsaturated fatty acids.
2. The rate of deterioration in dry seeds of *L. iberica* was higher than those of *L. royleana*.
3. The content of storage compounds and the activity of amylase enzymes were higher in *L. royleana* seeds compared with *L. iberica*.

¹ Department of Crop Production and Plant Breeding, College of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran.

² Department of Plant Protection, College of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran.

DOI: [10.61186/yujrs.11.1.87](https://doi.org/10.61186/yujrs.11.1.87)

CrossMark

ISSN: 2383-1480 (On-Line); 2383-1251 (Print)

*Corresponding author, E-mail: paravar69@gmail.com



Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Received: 13.3.2024; Revised: 10.7.2024;
Accepted: 3.8.2024; Online Published: 21.9.2024

مقاله پژوهشی

بررسی جوانه‌زنی، محتوای ترکیبات ذخیره‌ای و فعالیت آنزیمی در بذره‌ای بالنگو شهری (*Lallemantia iberica*) و شیرازی (*Lallemantia royleana*) در شرایط پیری طبیعی و مصنوعی

آرزو پراور^{۱*}، سعیده ملکی فراهانی^۱، علیرضا رضازاده^۲

چکیده مبسوط

مقدمه: تولید بذر با کیفیت بالا، یکی از نگرانی‌های اصلی صنعت کشاورزی است. طول عمر بذر که چندین دهه را در بر می‌گیرد برای حفاظت از منابع ژنتیک گیاه نیز مهم است. شرایط نگهداری، یعنی میزان رطوبت بذر، رطوبت نسبی ذخیره‌سازی، گازها (اکسیژن، نیتروژن، کربن دی‌اکسید) و دما عوامل اساسی هستند که طول عمر بذر را تعیین می‌کنند. در میان تیمارهای پیری، تیمار اکسیژن بیشترین تاثیر منفی را بر جوانه‌زنی بذر، فعالیت‌های متابولیت‌های ذخیره‌ای و فعالیت آنزیمی بذره‌ای خشک دارد. بذره‌ای بالنگو شهری و شیرازی دارای ترکیبات اسید چرب بالا، به ویژه اسید لینولنیک (۵۶ تا ۶۷ درصد) است که دارای اثرات مفید مهمی برای سلامتی است. با این حال تعداد زیادی از بذره‌ای بالنگو شهری و شیرازی به دلیل شرایط نامناسب ذخیره سازی توسط اکثر کشاورزان دچار زوال می‌شوند. هدف از این مطالعه بررسی چگونگی تاثیر شرایط مختلف نگهداری، به ویژه پیری طبیعی و مهار شده، پیری با اکسیژن و نیتروژن بر جوانه‌زنی، فعالیت‌های شیمیایی، محتوای ذخائر متابولیسمی و آنزیمی بذر خشک بالنگو شهری و شیرازی است.

مواد و روش‌ها: آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در آزمایشگاه علوم بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد در سال ۱۴۰۰ اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل محیط ذخیره‌سازی (شاهد، پیری طبیعی، پیری مهار شده، پیری با فشار اکسیژن و نیتروژن (مهار کننده تیمار پیری با اکسیژن)) و گونه گیاهی (بالنگو شهری (*Lallemantia iberica*) و شیرازی (*Lallemantia royleana*)) بود.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که در هر دو گونه، پیری با اکسیژن بیش‌ترین تاثیر منفی را بر میزان جوانه‌زنی، بنیه بذر، محتوای ترکیبات ذخیره‌ای بذر و فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز در مقایسه با پیری مهار شده و پیری طبیعی داشت. در مقابل بیش‌ترین میزان هدایت الکتریکی، پراکسید هیدروژن، پراکسیداسیون لیپیدها، اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع در بذره‌ای خشک ذخیره شده در شرایط پیری با اکسیژن مشاهده شد. بذره‌ای ذخیره شده در شرایط پیری طبیعی در مقایسه با پیری مصنوعی (پیری مهار شده و پیری با اکسیژن) بیش‌ترین میزان جوانه‌زنی، محتوای ترکیبات ذخیره‌ای و فعالیت آنزیم آمیلاز را داشتند. در طول فرآیند ذخیره‌سازی مشاهده شد که میزان پیری در بذره‌ای خشک بالنگو شهری در مقایسه با بالنگو شیرازی بالاتر بود.

نتیجه‌گیری: پیری با اکسیژن را می‌توان یک روش سریع پیری مصنوعی برای بررسی طول عمر بذره‌ای خشک در نظر گرفت. از سوی دیگر شرایط دمایی و رطوبتی پایین در پیری طبیعی را می‌توان به عنوان روشی عملی انتخاب کرد که باعث حفظ کیفیت و طول عمر بذر می‌شود. بذره‌ای بالنگو شیرازی را به دلیل بالا بودن محتوای ترکیبات ذخیره‌ای (ساکارز، نشاسته و قند محلول کل) می‌توان برای دوره‌ای طولانی نگهداری کرد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم آمیلاز، پراکسیداسیون لیپید، پیری با اکسیژن، محتوای ساکارز

جنبه‌های نوآوری:

۱- پیری بذر منجر به افزایش شاخص‌های بیوشیمیایی از قبیل پراکسیداسیون لیپید، پراکسید هیدروژن، اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع شد.

۲- میزان زوال در بذره‌ای خشک بالنگو شهری بیشتر از بالنگو شیرازی بود.

۳- در مقایسه با بالنگو شهری، محتوای ترکیبات ذخیره‌ای و فعالیت آنزیم‌های آمیلاز در بذر بالنگو شیرازی بیشتر بود.

DOI: 10.61186/yuj.11.1.87

^۱ گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.^۲ گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

CrossMark

رایانامه نویسنده مسئول: paravar69@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۲۳؛ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۴/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۵/۱۳؛ تاریخ انتشار برخط: ۱۴۰۳/۶/۳۱

شاپا: ۲۳۸۳-۱۴۸۰ (برخط): ۲۳۸۳-۱۲۵۱ (چاپی)

مقدمه

تولید بذر با کیفیت بالا، یکی از نگرانی‌های اصلی صنعت کشاورزی است. بذرها با کیفیت بالا حامل مواد ژنتیکی هستند که اساس نوآوری، توسعه کشاورزی است و اهرمی کلیدی برای بهبود و تثبیت عملکرد است (چن^۱ و همکاران، ۲۰۲۱). کیفیت بذر^۲ ارزش کلی کاشت یک توده بذر را مشخص می‌کند که شامل خلوص ژنتیکی، خلوص فیزیکی، جوانه‌زنی، بنیه بذر و سلامت بذر است (دمیر^۳ و همکاران، ۲۰۲۲). بنابراین ماندگاری بذر^۴ یک ویژگی کیفیت بذر است اما در مقابل یک نگرانی قابل توجه برای صنعت بذر نیز می‌باشد. طول عمر بذر که چندین دهه را در بر می‌گیرد برای حفاظت از منابع ژنتیک گیاه نیز مهم است (بویجس^۵ و همکاران، ۲۰۲۰).

شرایط نگهداری، یعنی میزان رطوبت بذر، رطوبت نسبی ذخیره‌سازی، گازها (اکسیژن، نیتروژن، دی اکسید کربن و غیره) و دما عوامل اساسی هستند که طول عمر بذر را تعیین می‌کنند (لیو^۶ و همکاران، ۲۰۲۳). با این حال بررسی علایم و سازوکار پیری بذرها در شرایط ذخیره‌سازی طبیعی به دلیل سرعت کند واکنش‌های پیری در بذرها خشک محدود است (وایت هاوس و نورتون^۷، ۲۰۲۲). برای تسریع پیری، روش مختلفی از قبیل پیری تسریع شده یا پیری مهار شده استفاده می‌شود (فنولوسا^۸ و همکاران، ۲۰۲۰). روش‌های تجربی برای تعیین طول عمر بذر، برای بذر گیاهان از جمله بالنگو شهری^۹، بالنگو شیرازی^{۱۰} (پراور^{۱۱} و همکاران، ۲۰۱۸)، کاج ژاپنی^{۱۲} (جرنا^{۱۳} و همکاران، ۲۰۲۲) و کلزا^{۱۴} (ملک^{۱۵} و همکاران، ۲۰۲۲) گزارش شده است.

کاهش محتوا آب و تجمع قندهای غیر احیا کننده به ویژه الیگوساکاریدهای خانواده رافینوز و پروتئین‌های فراوان در انتهای جنین زایی در سیتوپلاسم‌های سلولی یک ماتریکس شیشه‌ای را تشکیل می‌دهند که در آن تحرک مولکولی و سرعت واکنش‌های شیمیایی کاهش می‌یابد (نگل^{۱۶} و همکاران، ۲۰۱۹). تولید گونه‌های فعال اکسیژن^{۱۷} و واکنش‌های غیر آنزیمی آمادوری و میلارد و پراکسیداسیون لیپیدها از علل آسیب مولکولی سیتوپلاسم سلولی در طول ذخیره‌سازی خشک هستند. در مقابل سیالیت سیتوپلاسم در شرایط ذخیره‌سازی مرطوب افزایش یافته و طول عمر بذر را کاهش می‌دهد (ابون^{۱۸} و همکاران، ۲۰۲۰). شاخص اولیه پیری بذر، تجمع گونه‌های فعال اکسیژن است که می‌تواند به غشای سلولی، اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و لیپیدها آسیب برساند و منجر به افزایش نشت املاح و متابولیت‌ها شود (بویجس و همکاران، ۲۰۱۸).

با این حال تاثیر اکسیژن ممکن است در شرایط نگهداری خشک و مرطوب متفاوت باشد. در بعضی مطالعات گزارش شده است که اکسیژن در شرایط ذخیره‌سازی خشک بیش‌ترین تاثیر منفی را بر جوانه‌زنی بذر در مقایسه با ذخیره‌سازی مرطوب داشت (بویجس و همکاران، ۲۰۲۰). به منظور کاهش غلظت گونه‌های فعال اکسیژن در بذرها خشک، سامانه‌های سم‌زدایی مانند گلوکاتایون و توکوفرول فعال می‌شوند (پاراساد^{۱۹} و همکاران، ۲۰۲۳). اکسیژن برای تنفس هوازی در بذرها مرطوب ضروری است در حالی که ماندگاری بذرها خشک در محیط‌های گازی بدون اکسیژن بیشتر است. فشار بالای اکسیژن یک روش پیری مصنوعی است که برای بررسی پیری بذرها ذخیره شده در شرایط خشک و دمای معمولی است (جرنا و همکاران، ۲۰۲۰). قرار دادن بذرها خشک در معرض فشار بالای اکسیژن، اکسیداسیون را افزایش می‌دهد. علاوه بر این، افزایش و کاهش فشار اکسیژن در طول

¹ Chen² Seed quality³ Demir⁴ Seed longevity⁵ Buijs⁶ Liu⁷ Whitehouse and Norton⁸ Fenollosa⁹ *Lallemantia iberica* L.¹⁰ *Lallemantia royleana* L.¹¹ Paravar¹² *Maize mays* L.¹³ Gerna¹⁴ *Brassica napus* L.¹⁵ Malek¹⁶ Nagel¹⁷ Reactive oxygen species¹⁸ Ebone¹⁹ Prasad

ذخیره‌سازی با اکسیژن می‌تواند به ساختار فیزیکی دانه ها آسیب برساند (جرنا و همکاران، ۲۰۲۲).

بالنگو شهری و شیرازی گیاهانی یکساله از تیره نعنائیان هستند. هر دو گونه گیاهی در بهار رشد می‌کنند و پس از زرد شدن برگ‌ها، بذرها از فندقه‌های مادری جدا می‌شوند. به دلیل محتوای بالای موسیلاژ و روغن زیاد از بذرهای آن‌ها به عنوان غذا، یک محصول صنعتی برای سوخت زیستی و برای اهداف دارویی استفاده می‌شود. این بذرها دارای مقدار زیادی روغن تقریباً ۴۵ تا ۵۰ درصد هستند. گزارش شده است که ترکیبات اسید چرب بالا، به ویژه اسید لینولنیک (۵۶-۶۷ درصد) است که دارای اثرات مفید مهمی برای سلامتی است (پراور و همکاران، ۲۰۲۱). با این حال تعداد زیادی از بذرهای بالنگو شهری و شیرازی به دلیل شرایط نامناسب ذخیره‌سازی توسط اکثر کشاورزان دچار زوال می‌شوند (پراور و همکاران، ۲۰۲۴). هدف از این مطالعه بررسی چگونگی تاثیر شرایط مختلف نگهداری، به ویژه پیری طبیعی، پیری مهار شده و پیری با اکسیژن و نیترژن بر جوانه‌زنی فعالیت‌های شیمیایی، محتوای ذخائر متابولیسمی و آنزیمی بذر خشک بالنگو شهری و شیرازی بود.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در آزمایشگاه علوم بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد در سال ۱۴۰۰ اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل محیط ذخیره‌سازی (شاهد، پیری طبیعی، پیری مهار شده، پیری با فشار اکسیژن و نیترژن) و گونه گیاهی (بالنگو شهری و شیرازی) بود.

بذرهای بالنگو شهری و شیرازی، به ترتیب با وزن هزار دانه ۳/۹ و ۱/۸ گرم و با محتوای رطوبت ۵/۷ و ۶/۸۲ درصد از مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی شاهد تهیه گردید و تا زمان استفاده در آزمایش در دمای ۲۸- درجه سلسیوس نگهداری شدند.

تعیین محتوای رطوبت بذر

با توجه به اینکه محتوای رطوبت بذر گونه گیاهی بالنگو زیر ۱۰ درصد گزارش شده است، رطوبت بذرها

روی ۱۰ درصد تنظیم شد. برای این کار یک زیر نمونه ۲۰۰ بذری از نمونه اصلی جدا شد و در بین کاغذهای حوله‌ای مرطوب قرار داده شد تا به وزن برابر ۱۰ درصد رطوبت برسند. محاسبه وزن نمونه‌های بذری برای رسیدن به رطوبت مورد نظر چه با افزایش و چه با کاهش رطوبت مطابق با رابطه ۱ اجرا شد (ایستا^۱، ۲۰۱۳).

$$W2=W1(A-B)/100-A \quad \text{رابطه ۱:}$$

که در این رابطه A، B، W1، W2 به ترتیب درصد رطوبت مورد نظر، درصد رطوبت اولیه بذر، جرم اولیه توده بذر (گرم)، جرم آب مقطر (گرم) است (همپتون و تکرونی^۲، ۱۹۹۵).

نمونه‌های بذری پس از رساندن به رطوبت مورد نظر در داخل پاکت‌های آلومینیومی قرار داده شدند و پس از بستن کامل پاکت‌ها برای مدت ۲۴ ساعت در یخچالی با دمای ۱۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند تا رطوبت بذرها یکنواخت شود (ایستا، ۲۰۱۳).

تیمارهای ذخیره‌سازی

پیری طبیعی: برای پیری طبیعی، بذرها در رطوبت نسبی ۴۰ درصد و دمای ۲۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت متعادل شدند و در شرایط انبار در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۸۰ روز قرار گرفتند (نگل و همکاران، ۲۰۱۹).

پیری مهار شده: برای پیری مهار شده، بذرها در داخل کیسه‌های پلاستیکی قرار داده شدند و پس از به تعادل رسیدن رطوبت بذرها در ظروف ذخیره‌سازی (رطوبت نسبی ۴۰ درصد و دمای ۱۰ درجه سلسیوس) به مدت ۲۴ ساعت، در داخل فویل‌های آلومینیومی قرار داده شدند و به مدت ۳۰ روز در داخل انکوباتور (دمای ۴۰ درجه سلسیوس) نگهداری شدند. پس از آزمایش پیری مهار شده، بذرها در کیسه‌های کاغذی قرار داده شد و در رطوبت نسبی ۴۰ درصد و دمای ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند (پاراساد و همکاران، ۲۰۲۳).

¹ ISTA

² Hampton and TecKrony

شماره ۱ قرار داده شد و به هر پتری حدود ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد و سپس بذرها در دمای ۱۰ درجه سلسیوس، ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی و ۷۵ درصد رطوبت نسبی هوا برای جوانه‌زنی در ژرمیناتور قرار داده شدند (پراور و همکاران، ۲۰۲۳). در نمونه‌ها ۱۴ روز پس از شروع آزمایش صفات جوانه‌زنی، متوسط زمان جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر (انصاری و شریف‌زاده، ۲۰۱۳) اندازه‌گیری شد. معیار برای جوانه‌زنی خروج ریشه‌چه به اندازه دو میلی‌متر در نظر گرفته شد (ایستا، ۲۰۱۳).

درصد جوانه‌زنی^۵: درصد جوانه‌زنی از رابطه ۲ محاسبه گردید.

$$GP = n/N \times 100 \quad \text{رابطه ۲:}$$

که در آن GP: درصد جوانه‌زنی، n تعداد نهایی بذرها، N: تعداد بذرها، N: تعداد بذرها کشت شده است. **متوسط زمان جوانه‌زنی^۶:** برای محاسبه متوسط زمان جوانه‌زنی از رابطه ۳ استفاده گردید.

$$MGT = \sum(t_i \times n_i) / \sum n_i \quad \text{رابطه ۳:}$$

که در آن MGT: میانگین متوسط زمان جوانه‌زنی، t_i : زمان بر حسب ساعت از شروع آزمایش جوانه‌زنی، n_i : تعداد بذرها، n_i : جوانه‌زده در روز، n_i : کل بذرها، جوانه‌زده در پایان آزمایش.

شاخص بنیه بذر^۷: شاخص بنیه بذر از رابطه ۴ محاسبه شد.

رابطه ۴: طول گیاهچه × درصد جوانه‌زنی = شاخص بنیه بذر

پیری در شرایط فشار بالای اکسیژن^۱ و نیتروژن^۲: برای انجام پیری با اکسیژن، حدود ۵ گرم بذر پس از تعادل در رطوبت نسبی ۴۰ درصد و دمای ۱۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت در لوله‌های پلیاسترن قرار داده شده است. سپس لوله‌های پلی-استرنی حاوی بذرها و ۲۰۰ گرم سیلیکاژل در رطوبت نسبی ۴۰ درصد (۱۸ روز) و دمای ۲۰ درجه سلسیوس در یک کابینت گرم با رطوبت مهار شده متعادل شدند. به دنبال این، بذرها در رطوبت متعادل شده به همراه ۲۰۰ گرم سیلیکاژل به مخزن فولادی ۱/۵ لیتری منتقل شد. مخزن فولادی به تدریج با هوای فشرده یا گاز نیتروژن خالص، با سرعت تقریبی ۶ بار در دقیقه، تا زمانی که فشار مخزن به حدود ۲۰ مگاپاسکال رسید، پر شدند. هنگامی که مخزن فولادی با گاز نیتروژن تا ۲۰ مگاپاسکال پر شد منجر به افزایش فشار جزئی نیتروژن شد که به عنوان یک تیمار شاهد برای اثرات بالقوه فشار بالای اکسیژن در نظر گرفته شد. برای جلوگیری از تغییرات دما در حین پر شدن، مخازن در دمای محیط در آب غوطه‌ور شدند. پس از تکمیل فرآیند پر کردن، مخزن به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند. در پایان هر بازه زمانی، مخزن از انکوباتور خارج شده و در دمای اتاق قرار گرفتند. فشار داخل مخزن به تدریج با کاهش متوسط فشار نسبی تا ۰/۵ بار در دقیقه با استفاده از نرخ جریان مهار شده توسط کامپیوتر کاهش یافت. پس از پیری طبیعی، آزمایش‌های پیری مهار شده، پیری با اکسیژن و نیتروژن (جدول ۱)، بذرها هر دو گونه در کیسه‌های آلومینیومی قرار داده شده و در دمای ۱۰- درجه سلسیوس به مدت هفت روز نگهداری شدند تا زمانی که برای آزمایش جوانه‌زنی و تجزیه و تحلیل متابولیت آماده شوند. بذرها شاهد در معرض هیچ‌گونه تیمار ذخیره‌سازی قرار نگرفتند (پاراساد و همکاران، ۲۰۲۳).

آزمون جوانه‌زنی^۳: برای اندازه‌گیری جوانه‌زنی در هر تیمار، سه تکرار ۵۰ تایی از بذر روی کاغذ واتمن

^۴ Ansari and Sharifzadeh

^۵ Germination percentage

^۶ Mean germination time

^۷ Vigor index

^۱ Elevated partial pressure of oxygen storage (EPPO)

^۲ Elevated partial pressure of nitrogen storage (EPPN)

^۳ Germination test

جدول ۱. محتوای رطوبت بذر (درصد) در بذرهای ذخیره شده بالنگو در محیط‌های متفاوت ذخیره‌سازی

Table 1. Seed moisture content (%) in *Lallemantia* seeds stored under different storage conditions

گونه گیاهی Plant species	محیط ذخیره سازی Storage condition				
	شاهد Control	پیری طبیعی Natural aging	پیری مهار شده Controlled deterioration	پیری با اکسیژن Oxygen aging	پیری با نیتروژن Nitrogen aging
بالنگو شهری <i>Lallemantia iberica</i>	5.70	5.71	5.76	5.81	5.71
بالنگو شیرازی <i>Lallemantia royleana</i>	6.8	6.85	6.87	6.97	6.82

شاخص‌های بیوشیمیایی

هدایت الکتریکی^۱: برای اندازه‌گیری هدایت الکتریکی بذر، ۵۰ بذر در سه تکرار وزن شده و در ظرف‌های حاوی ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شدند. سپس بعد از ۲۴ ساعت نگهداری در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس، هدایت الکتریکی اندازه‌گیری شد (ایستا، ۲۰۱۳).

پراکسیداسیون لیپید^۲: اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپید براساس روش هیث و پاکر^۳ (۱۹۶۸) انجام شد. در این روش، ۰/۲۵ گرم بذر در هاون چینی حاوی پنج میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید^۴ ۰/۱ درصد همگن شد. عصاره همگن به لوله سانتریفیوژ منتقل شد و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ گردید. سپس یک میلی‌لیتر از محلول رویی سانتریفیوژ شده با میلی‌لیتر از تیوباربیوتیک اسید^۵ ۰/۵ درصد در تری کلرواستیک اسید ۲۰ درصد، مخلوط شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس در حمام بن ماری حرارت داده شد. سپس بلافاصله در یخ سرد شده و دوباره مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. شدت جذب این محلول در طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر قرائت شد.

پراکسید هیدروژن^۶: در این روش ۰/۲۵ گرم بذر نمونه با ۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک^۷ سائیده شد.

عصاره حاصل به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس ۲۵۰ میکرولیتر از محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ با ۲۵۰ میکرولیتر بافر فسفات^۸ ۱۰۰ میلی‌مولار و ۵۰۰ میکرولیتر پتاسیم یدید^۹ یک مولار مخلوط شد و جذب آن در طول موج ۳۹۰ نانومتر قرائت شد (لورتو و ولیکووا^{۱۰}، ۲۰۰۱).

محتوای اسید چرب اشباع و غیر اشباع^{۱۱}: برای تعیین محتوای اسیدچرب اشباع و غیر اشباع، حدود ۲ گرم بذر خشک پودر شد. سپس ۲ میلی‌لیتر هگزان اضافه و سانتریفیوژ شد (دمای ۴ درجه سلسیوس و سرعت ۱۱۰۰۰ دور در دقیقه). لایه رویی شفاف به ۰/۵ میلی‌لیتر هگزان و ۲ میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم افزوده شد و در حمام آب با دمای ۶۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. پس از آن تری فلوراید بور^{۱۲} ۲۰٪ به لوله‌ها اضافه گردید و نمونه‌ها در حمام آب گرم (۶۰ درجه سلسیوس) قرار داده شدند. پس از سرد شدن، ۲ میلی‌لیتر کلرایدسدیم^{۱۳} و ۱ میلی‌لیتر هگزان^{۱۴} اضافه شد پس از هم زدن کامل لایه هگزان حاوی متیل استر اسیدهای چرب^{۱۵} جدا سازی شد. در نهایت نمونه تهیه شده با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی^{۱۶} همراه با

⁷ Trichloroacetic acid

⁸ Phosphate

⁹ Potassium iodine

¹⁰ Loreto and Velikova

¹¹ Unsaturated and saturated fatty acids

¹² Boron trifluoride

¹³ Sodium chloride

¹⁴ Hexane

¹⁵ Fatty acid methyl ester

¹⁶ Chromatography

¹ Electrical conductivity

² Lipid Peroxidation

³ Heath and Packer

⁴ Trichloroacetic acid

⁵ Thiobarbituric acid

⁶ Hydrogen peroxide

تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌ها توسط نرم افزار SAS 9.3.1 از نظر نرمال بودن، داده پرت، بررسی و سپس تجزیه واریانس شدند. مقایسه میانگین به روش دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

شاخص‌های جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس معنی‌دار بودن اثر محیط ذخیره سازی، گونه گیاهی و برهم‌کنش آنها بر درصد جوانه‌زنی، متوسط زمان جوانه‌زنی و بنیه بذر را نشان داد (جدول ۲). بیشترین جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر در بذره‌های خشک بالنگو شیرازی ذخیره شده در شرایط پیری با نیتروژن و شاهد بود. در حالی که بیشترین متوسط زمان جوانه‌زنی در بذره‌های خشک بالنگو شهری ذخیره شده در شرایط پیری با اکسیژن مشاهده شد (شکل ۱ الف، ب و ج). در این مطالعه کاهش بیشتر در درصد جوانه‌زنی، بنیه بذر و افزایش متوسط زمان جوانه‌زنی بذره‌های خشک ذخیره شده تحت پیری با اکسیژن (شکل ۱ الف، ب و ج) در مقایسه با دیگر تیمارهای پیری را می‌توان به میزان سریع‌تر بودن زوال در یک محیط با اکسیژن نسبت داد (بوجیس و همکاران، ۲۰۱۸). مطالعات نشان داده است که قرار گرفتن بذره‌های خشک در معرض اکسیژن بالا منجر به زوال سریع بذر می‌شود و تغییرات نامطلوب مانند آسیب‌های غشای میتوکندری، باعث تولید انرژی کمتر از حد مطلوب برای رشد سلول و فعالیت متابولیکی می‌شود (پاراساد و همکاران، ۲۰۲۲). برخی از مطالعات کاهش جوانه‌زنی بذره‌های خشک ذخیره شده برنج^{۱۳} (پاراساد و همکاران، ۲۰۲۳)، نخود^{۱۴} (جرنا و همکاران، ۲۰۲۲) و آرابیدوپسیس^{۱۵} (بوجیس و همکاران، ۲۰۲۰) را در شرایط پیری با اکسیژن تأیید کردند. در مقایسه با پیری مهار شده و پیری با اکسیژن، افزایش جوانه‌زنی، بنیه بذر و کاهش متوسط زمان جوانه‌زنی در بذره‌های خشک ذخیره شده در شرایط شاهد و پیری با نیتروژن (شکل ۱ الف، ب و ج) را می‌توان به کاهش کمتر

یک طیف سنج جرمی مورد تجزیه قرار گرفت (ساوج^۱ و همکاران، ۱۹۹۷).

محتوای ترکیبات ذخیره‌ای بذر: به منظور تعیین

محتوای ترکیبات ذخیره‌ای بذر^۲، حدود ۰/۳ گرم بذر با پنج میلی‌لیتر اتانول^۳ ۸۰ درصد همگن شد، سپس، در حمام آب گرم به مدت ۴۰ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. محلول به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. پنج میلی‌لیتر از اتانول ۸۰ درصد به مایع رویی حاصل شده اضافه گردید. مقدار کل ساکارز^۴ و قند^۵ به ترتیب در طول موج ۴۸۰ و ۴۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. پس از حذف اتانول با استفاده از تبخیر و انکوبه کردن در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه، ۴ میلی‌لیتر آب دیونیزه به نمونه‌ها اضافه شد. میزان جذب نشاسته با معرف آنترون^۶ در طول موج ۴۸۰ نانومتر محاسبه شد (کایوی^۷ و همکاران، ۲۰۱۴).

فعالیت آنزیم آلفا^۸ و بتا^۹ آمیلاز: چهار روز پس از

جوانه‌زنی، آندوسپرم و محور جنینی بذرها (حدود ۴۰۰۰ میلی گرم) جدا شد و در بافر فسفات پتاسیم^{۱۰} ۶۰ میلی مولار هموژنیزه و سپس به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴۰ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر نشاسته به هر نمونه اضافه شد و بعد از سه دقیقه به میزان یک میلی-لیتر شناساگر دی‌نیترو سالیسیلیک اسید^{۱۱} به هر لوله آزمایش اضافه شد. نمونه‌ها به مدت پنج دقیقه در دمای ۹۰ درجه سلسیوس قرار داده شد و پس از سرد شدن در دمای اتاق، میزان جذب در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (برنفلد^{۱۲}، ۱۹۹۵).

¹ Savage

² Storage components

³ Ethanol

⁴ Sucrose

⁵ Sugar

⁶ Anthrone

⁷ Kuai

⁸ α amylase

⁹ β amylase

¹⁰ Potassium phosphate

¹¹ 3,5-Dinitrosalicylic acid

¹² Bernfeld

¹³ *Oryza sativa* L.

¹⁴ *Pinus densiflora* L.

¹⁵ *Arabidopsis thaliana* L.

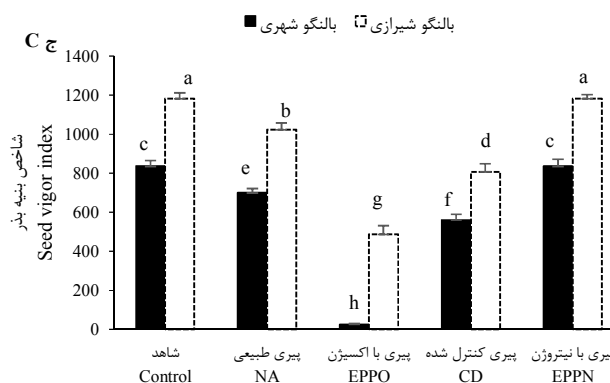
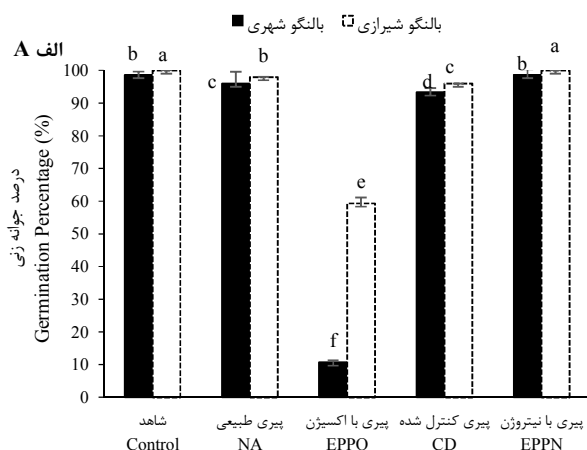
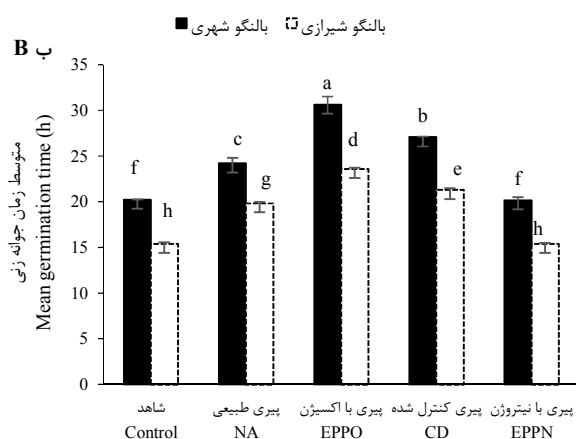
جدول ۲. تجزیه واریانس اثر محیط ذخیره سازی و گونه گیاهی بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر بالنگو

Table 2. The analysis of variance for the effect of storage condition and plant species on germination indices of *Lallemantia* seeds

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی	متوسط زمان جوانه‌زنی	شاخص بنیه بذر
		D. F.	Germination percentage	Mean germination time	Seed vigor index
Storage condition (S)	محیط ذخیره سازی	4	1267.5**	131.46**	1512262.54**
Plant species (P)	گونه گیاهی	1	4656.97**	74.15**	706914.2**
S×P	برهمکنش تیمارها	4	609.17**	14.54**	44568.24**
Error	خطا	20	6.5	0.41	2823.1
CV%	ضریب تغییرات (درصد)		3.02	2.87	6.52

** معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد را نشان می‌دهد.

** indicates significance at 1% probability level



شکل ۱. مقایسه میانگین برهم‌کنش محیط ذخیره‌سازی و گونه بالنگو بر درصد جوانه‌زنی (الف)، متوسط زمان جوانه‌زنی (ب) و شاخص بنیه بذر (ج). میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر مقایسه دارای اختلاف معنی‌داری براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن نمی‌باشد. میله‌ها نشان‌دهنده خطای معیار میانگین می‌باشد.

Figure 1. Mean comparison for interaction of storage treatments and *Lallemantia* species on percentage germination (A), mean germination time (B) and seed vigor index (C). Means followed by similar letters in each comparison are not significantly different at $p = 5\%$ probability level. The bars indicate the standard error of the means. NA: natural aging; CD: controlled deterioration; EPPO: elevated partial pressure of oxygen storage; EPPN: elevated partial pressure of nitrogen storage (as control EPPO)

سیتوپلاسم را محدود کند (نگل و همکاران، ۲۰۱۹). علاوه بر این افزایش جوانه‌زنی، بنیه بذر و کاهش متوسط زمان جوانه‌زنی در بذرهای خشک ذخیره شده تحت پیری طبیعی (شکل الف، ب و ج) در مقایسه با پیری با اکسیژن و پیری مهار شده به دلیل سرعت پایین فعالیت‌های متابولیکی در سلولهای بذر بوده است که

محتوای اجزای ذخیره‌سازی مانند قند، ساکارز و نشاسته نسبت داد (رنگانثان و گروت^۱ و همکاران، ۲۰۲۳). گزارش شده است که بالا بودن محتوای اجزای ذخیره بذر از قبیل ساکارز و قند می‌تواند حالت شیشه‌ای سیتوپلاسم را حفظ کرده و واکنش‌های بیوشیمیایی در

¹ Ranganathan and Groot

و ساختار شیشه‌ای غشای سلولی است که از نشت محلول‌های داخل سلولی با کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش پاداکسیدان‌هایی از قبیل توکوفرول و گلوتاتیون جلوگیری می‌کند (جرنا و همکاران، ۲۰۲۲). علاوه بر این افزایش پراکسیداسیون لیپید، پراکسید هیدروژن و هدایت الکتریکی در بذره‌های ذخیره شده در شرایط پیری مهار شده نسبت به پیری طبیعی (شکل ۲ الف، ب و ج) ممکن است به دلیل واکنش‌های اکسیداسیون خودبه‌خود بالاتر اسیدهای چرب غیر اشباع در غشاء باشد (ژانگ^۴ و همکاران، ۲۰۲۱). در این مطالعه، در مقایسه با بالنگو شیرازی، بیشترین مقدار هدایت الکتریکی، پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپید در بذره‌های خشک بالنگو شهری مشاهده شد (شکل ۲ الف، ب و ج) که این تفاوت ممکن است به دلیل وجود محتوای روغن بالاتر در بذره‌های بالنگو شهری باشد (پراور و همکاران، ۲۰۲۴).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها معنی‌دار بودن اثر محیط ذخیره‌سازی، گونه گیاهی و برهم‌کنش آنها بر اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع را نشان داد (جدول ۳). بذره‌های خشک بالنگو شهری کمترین محتوای اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع را در شرایط پیری با اکسیژن داشت. در حالی که بیشترین محتوای اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع در بذره‌های خشک بالنگو شیرازی ذخیره شده در شرایط پیری با نیتروژن و شاهد مشاهده شد (شکل ۳ الف و ب). در مقایسه با دیگر محیط‌های ذخیره‌سازی، بیشترین کاهش محتوای اسید چرب غیر اشباع و اشباع در بذره‌های خشک ذخیره شده در شرایط پیری با اکسیژن مشاهده شد (شکل ۳ الف و ب). این کاهش را می‌توان به تولید و تجمع بیشتر پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپید نسبت داد که باعث تخریب ساختارهای اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع شده می‌شوند (جاویدی^۵ و همکاران، ۲۰۲۲). گزارش شده است که علت اصلی کاهش اسیدهای چرب غیر اشباع، لیپواکسیژناز است که اسیدهای چرب غیر اشباع را به کتون‌ها، آلدئیدها، اسیدها و سایر ترکیبات

می‌تواند منعکس کننده تخریب کمتر سطح آدنوزین-تری فسفات^۱ میتوکندریایی در بذره‌های پیر شده باشد (زیا^۲ و همکاران، ۲۰۲۰). کاهش شاخص جوانه‌زنی در بذره‌های بالنگو شهری در مقایسه با بالنگو شیرازی (شکل ۱ الف، ب و ج) می‌تواند به دلیل سطوح بالای پراکسیداسیون لیپیدی باشد که می‌تواند باعث تغییر شکل ساختار غشاء و تغییرات در ساختاری‌های اجزای سلولی شود (پراور و همکاران، ۲۰۲۴).

شاخص‌های بیوشیمیایی

نتایج نشان داد که اثر محیط ذخیره‌سازی، گونه گیاهی و برهم‌کنش آنها بر هدایت الکتریکی، پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپید معنی‌دار بود (جدول ۳). بیشترین هدایت الکتریکی، پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپید در بذره‌های خشک بالنگو شهری ذخیره شده در شرایط پیری با اکسیژن بود. در حالی که کمترین هدایت الکتریکی در بذره‌های خشک بالنگو شیرازی در شرایط ذخیره شده در شرایط پیری با نیتروژن و شاهد بود (شکل ۲ الف، ب و ج). در مقایسه با تیمارهای ذخیره‌سازی مورد استفاده در این مطالعه، به نظر می‌رسد که غلظت بالاتر پراکسید هیدروژن، پراکسیداسیون لیپید و افزایش هدایت الکتریکی در بذره‌های خشک ذخیره شده در شرایط پیری با اکسیژن (شکل ۲ الف، ب و ج)، به دلیل افزایش گونه‌های فعال اکسیژن است که منجر به کاهش یکپارچگی غشاء و آسیب به دیگر اجزای سلولی بذر می‌شود (جرنا و همکاران، ۲۰۲۰). در نتیجه گونه‌های فعال اکسیژن در این شرایط با قندها واکنش داده و منجر به تخریب قندها گردیده است که لذا این واکنش می‌تواند در عملکرد طبیعی غشا اختلال ایجاد کند (بخت‌آور و افضل^۳، ۲۰۲۰). در مقابل کمترین هدایت الکتریکی، پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپید در بذره‌های شاهد و پیری با نیتروژن در مقایسه با پیری مهار شده و پیری با اکسیژن مشاهده شد (شکل ۲ الف، ب و ج) که احتمالاً به دلیل کمبود فعالیت‌های متابولیکی در سلول

¹ Adenosine triphosphate

² Xia

³ Bakhtavar and Afzal

⁴ Zhang

⁵ Javidi

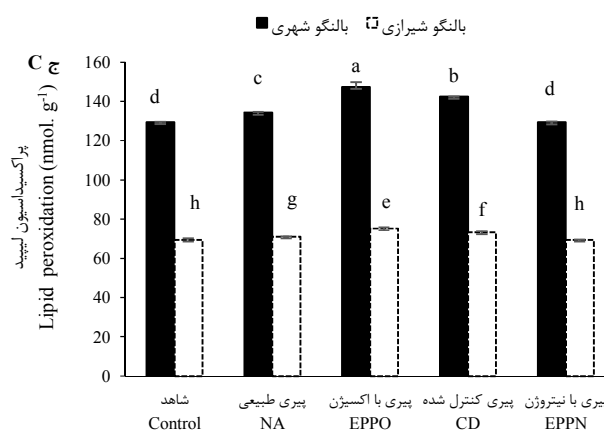
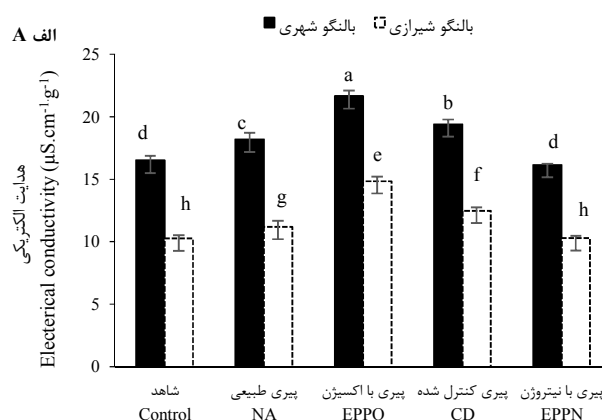
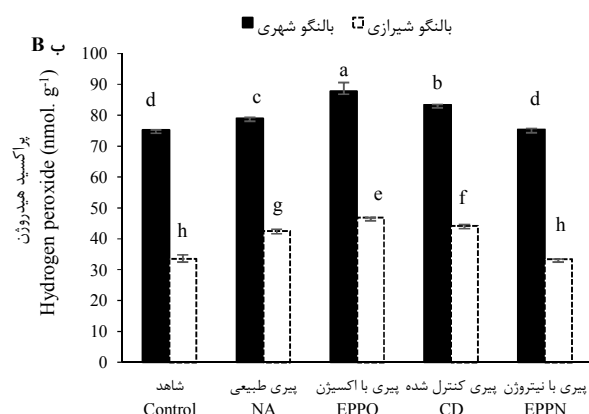
جدول ۳. تجزیه واریانس اثر محیط ذخیره سازی و گونه گیاهی بر شاخص‌های بیوشیمیایی بذر بالنگو

Table 3. The analysis of variance for the effect of storage condition and plant species on biochemical indices of *Lallemantia* seeds

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی	هدایت الکتریکی	پراکسید هیدروژن	پراکسیداسیون لیپید	اسید چرب غیر اشباع	اسید چرب اشباع
		D. F.	Electrical conductivity	Hydrogen peroxide	Peroxidation lipid	Unsaturated fatty acids	Saturated fatty acids
Storage condition	محیط ذخیره سازی (S)	4	219.08**	28816.98**	10222.04**	5258.93**	5054.41**
Plant species (P)	گونه گیاهی	1	15.24**	124.39**	81.83**	3567.76**	3494.15**
S×P	برهمکنش تیمارها	4	4.41**	54.71**	9.4*	6.41*	4.62*
Error	خطا	20	0.38	2.1	3.4	1.7	1.3
CV%	ضریب تغییرات (درصد)		3.87	1.42	2.83	1.72	1.71

* و ** به ترتیب معنی داری در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد را نشان می‌دهد.

*, and ** indicate significance at 5% and 1% probability levels, respectively



شکل ۲. مقایسه میانگین برهم‌کنش محیط ذخیره‌سازی و گونه بالنگو بر هدایت الکتریکی (الف)، پراکسید هیدروژن (ب) و پراکسیداسیون لیپید (ج) در بذره‌های بالنگو شهری و شیرازی. میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر مقایسه دارای اختلاف معنی‌داری براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن نمی‌باشد. میله‌ها نشان‌دهنده خطای معیار میانگین می‌باشد.

Figure 2. Mean comparison for interaction of storage treatments and *Lallemantia* species on total electrical conductivity (A), hydrogen peroxide (B) and lipid peroxidation (C). Means followed by similar letters in each comparison are not significantly different at $p = 5\%$ probability level, The bars indicate the standard error of the means. NA: natural aging; CD: controlled deterioration; EPPO: elevated partial pressure of oxygen storage; EPPN: elevated partial pressure of nitrogen storage (as control EPPO)

لیپیدی باشد که باعث تخریب ساختارهای لیپیدی غشای سلولی شده است (زمینستر^۲ و همکاران، ۲۰۲۰). کمتر بودن محتوای اسیدهای چرب غیراشباع و اشباع در بذره‌های خشک بالنگو شهری در مقایسه با بالنگو

مولکولی تبدیل می‌کند (سیلوا^۱ و همکاران، ۲۰۲۰). در این مطالعه، اسیدهای چرب غیراشباع و اشباع در بذره‌های شاهد، و پیری با نیتروژن بالاتر بود (شکل ۳ الف و ب) که این ممکن است به دلیل کاهش اکسیداسیون

² Zinsmeister

¹ Silva

موثری در جلوگیری از تغییرات فاز غشاء ایفا می‌کنند (بونیکا^۳ و همکاران، ۲۰۱۹). در مقایسه با پیری مهار شده و پیری با اکسیژن، بیشترین اجزای ذخیره سازی نیز در بذره‌ای ذخیره شده در شرایط پیری طبیعی مشاهده شد (شکل ۴ الف، ب و ج) که ممکن است به دلیل فساد کمتر در شرایط پیری طبیعی باشد (نیگما و همکاران، ۲۰۱۹). در مطالعه حاضر، افزایش محتوای ذخیره‌سازی در بذره‌ای بالنگو شیرازی در مقایسه با بالنگو شهری (شکل ۴ الف، ب و ج) به دلیل بیشتر بودن میزان کربوهیدرات در بذره‌ای بالنگو شیرازی است که میزان مستعد بودن زوال را در بذرها کاهش می‌دهد (سیدی^۴ و همکاران، ۲۰۱۸).

فعالیت آنزیمی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها معنی‌دار بودن اثر محیط ذخیره سازی، گونه گیاهی و برهم‌کنش آنها بر فعالیت آنزیم آلفا و بتا آمیلاز را نشان داد (جدول ۴). بالاترین فعالیت آنزیم آلفا و بتا آمیلاز در بذره‌ای خشک بالنگو شیرازی ذخیره شده در شرایط پیری با نیتروژن و شاهد مشاهده شد. بالنگو شهری کمترین فعالیت آنزیم آمیلاز را شرایط پیری با اکسیژن داشت (شکل ۵ الف و ب). کاهش معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز بذره‌ای ذخیره شده در شرایط پیری با اکسیژن (شکل ۵ الف و ب) مشاهده شد، که این می‌تواند به دلیل تولید و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن باشد که سبب از بین بردن یکپارچگی غشاء میتوکندری می‌شود (ابون و همکاران، ۲۰۱۹).

شیرازی (شکل ۳ الف و ب)، به دلیل محتوای روغن بالاتر در بذره‌ای بالنگو شهری است (پراور و همکاران، ۲۰۲۱). گزارش شده است بذره‌ای روغنی که دارای محتوای چربی بالاتری هستند در طول ذخیره‌سازی به سرعت دچار زوال می‌شوند (اونل^۱ و همکاران، ۲۰۱۷).

ترکیبات ذخیره‌ای بذر

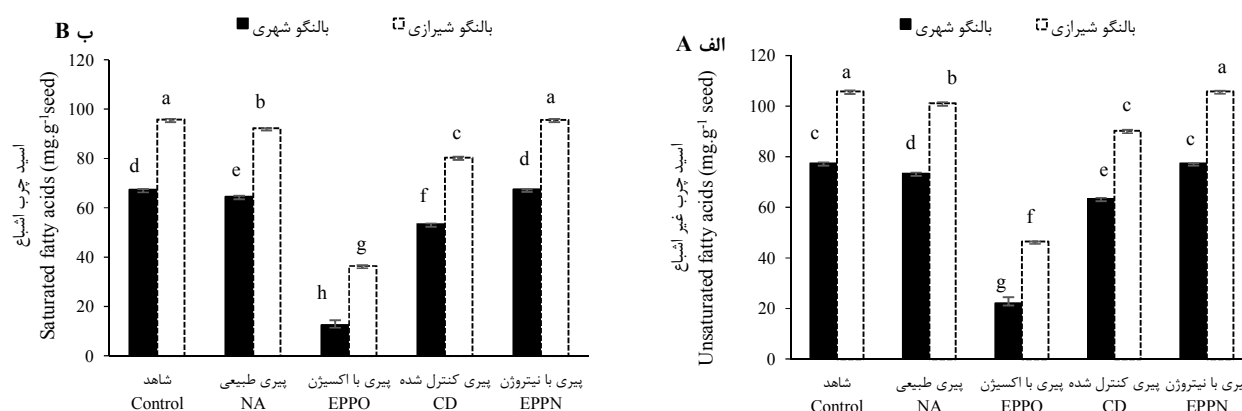
نتایج نشان داد که اثر محیط ذخیره‌سازی، گونه گیاهی و برهم‌کنش آنها بر محتوای نشاسته، ساکارز و قند معنی‌دار بود (جدول ۴). بالاترین محتوای نشاسته، ساکارز و قند محلول کل در بذره‌ای خشک بالنگو شیرازی ذخیره شده در شرایط پیری با نیتروژن و شاهد مشاهده شد. اما در مقابل، کمترین ترکیبات ذخیره‌ای در بذره‌ای خشک بالنگو شهری در شرایط ذخیره شده در شرایط پیری با اکسیژن بود (شکل ۴ الف، ب و ج). در مقایسه با پیری مهار شده و پیری طبیعی، کمترین میزان اجزای ذخیره سازی مانند ساکارز، نشاسته و قند محلول کل را بذره‌ای خشک ذخیره شده در شرایط پیری با اکسیژن داشت (شکل ۴ الف، ب و ج) که دلیل آن را می‌توان به افزایش مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن نسبت داد (پراور و همکاران، ۲۰۲۴). گزارش شده است که محصولات جانبی پراکسیداسیون لیپید، واکنش‌های آمادوری و میلارد و هیدرولیز کربوهیدرات را آغاز می‌کند (نیگما^۲ و همکاران، ۲۰۱۹). در نتیجه کاهش قند محلول کل، ساکارز و نشاسته می‌تواند به دلیل نفوذ اکسیژن به بذره‌ای خشک باشد که منجر به تغییر سیتوپلاسم از وضعیت شیشه‌ای به حالت مایع شده و فعالیت متابولیکی در سیتوپلاسم را در طول ذخیره سازی بذر افزایش داده است (رنگانثانو همکاران، ۲۰۲۳). در مقایسه با پیری با اکسیژن، بیشتر بودن اجزای ذخیره‌سازی در بذره‌ای شاهد و بذره‌ای خشک ذخیره شده در شرایط نیتروژن (شکل ۴ الف، ب و ج) را به احتمال زیاد می‌توان به حالت شیشه‌ای سیتوپلاسم و غیر فعال بودن واکنش‌های متابولیک در طول ذخیره‌سازی نسبت داد (بوجیس و همکاران، ۲۰۲۰). به طور کلی قندها مسئول تثبیت سیتوپلاسم هستند و نقش

³ Boniecka

⁴ Seyyed

¹ Oenel

² Nigam



شکل ۳. مقایسه میانگین برهم‌کنش محیط ذخیره‌سازی و گونه بالنگو بر محتوای اسیدهای چرب غیر اشباع (الف) و اسیدهای چرب اشباع (ب). میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر مقایسه دارای اختلاف معنی‌داری براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن نمی‌باشد. میله‌ها نشان‌دهنده خطای معیار میانگین می‌باشد.

Figure 3. Mean comparison for interaction of storage treatments and *Lallelantia* species on unsaturated (A) and saturated (B) fatty acids content. Means followed by similar letters in each comparison are not significantly different at $p = 5\%$ probability level, The bars indicate the standard error of the means. NA: natural aging; CD: controlled deterioration; EPPO: elevated partial pressure of oxygen storage; EPPN: elevated partial pressure of nitrogen storage (as control EPPO)

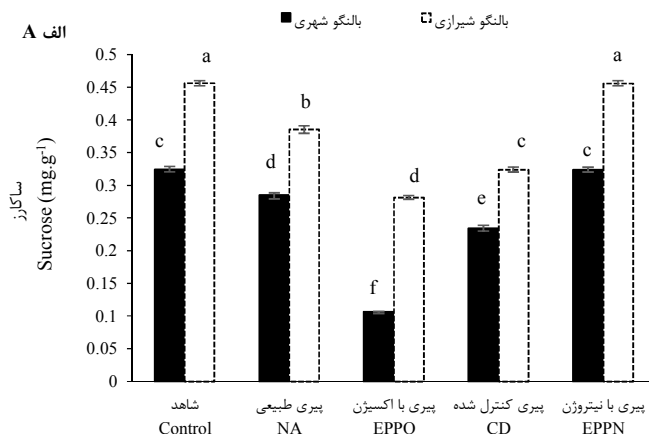
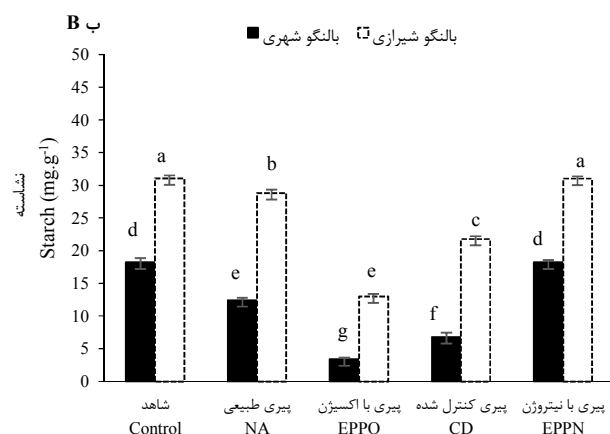
جدول ۴. تجزیه واریانس اثر محیط ذخیره سازی و گونه گیاهی بر ترکیبات ذخیره‌ای و فعالیت آنزیم بالنگو

Table 4. The analysis of variance for the effect of storage condition and plant species on storage components and enzyme activity of *Lallelantia*

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی	ساکارز	نشاسته	قند محلول کل	آنزیم آلفا آمیلاز	آنزیم بتا آمیلاز
		d.f.	Sucrose	Starch	Total soluble sugar	α -amylase enzyme	and β -amylase
Storage condition (S)	محیط ذخیره سازی	4	740.63**	1185.54**	2651.99**	0.002**	0.03**
Plant species (P)	گونه گیاهی	1	288.24**	273.49**	124.63**	0.001**	0.004**
S×P	برهم‌کنش تیمارها	4	160.6**	16.05**	82.92**	0.000003*	0.001**
Error	خطا	20	4.51	4.2	0.87	3.5	0.00004
CV%	ضریب تغییرات (درصد)		2.31	5.95	4.3	1.2	4.04

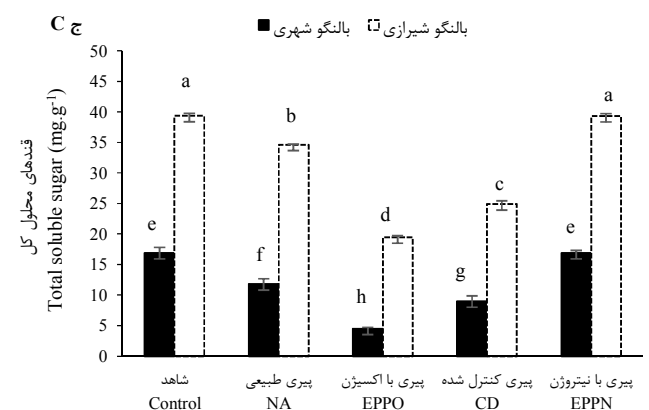
* و ** به ترتیب معنی داری در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد را نشان می‌دهد.

*, and ** indicate significance at 5% and 1% probability levels, respectively



شکل ۴. مقایسه میانگین برهم‌کنش محیط ذخیره‌سازی و گونه بالنگو بر محتوای ساکارز (الف)، نشاسته (ب) و قندهای محلول کل (ج). میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر مقایسه دارای اختلاف معنی‌داری براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن نمی‌باشد. میله‌ها نشان‌دهنده خطای معیار میانگین می‌باشد.

Figure 4. Mean comparison for interaction of storage treatments and *Lallemantia* species on total soluble sugar (A), sucrose (B) and starch (C) in seeds of *L.iberica* and *L.royleana* Means followed by similar letters in each comparison are not significantly different at $p = 5\%$ probability level, The bars indicate the standard error of the means. NA: natural aging; CD: controlled deterioration; EPPO: elevated partial pressure of oxygen storage; EPPN: elevated partial pressure of nitrogen storage (as control EPPO)



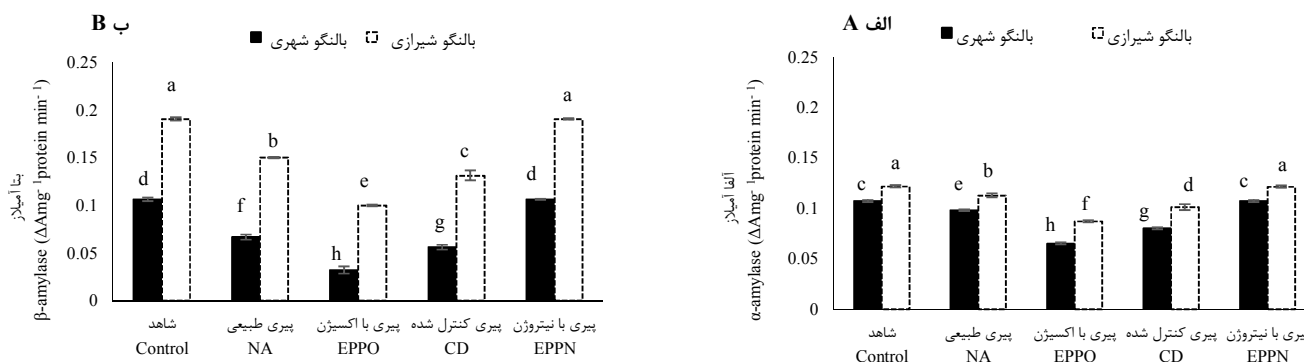
فعالیت متابولیکی در طول ذخیره‌سازی می‌شود (ژانگ^۳ و همکاران، ۲۰۱۸). در مقایسه با پیری مهار شده و پیری با اکسیژن، بالاتر بودن آنزیم آلفا و بتا آمیلاز در بذرهای ذخیره شده در شرایط طبیعی (شکل ۵ الف و ب) ممکن است به دلیل فعالیت بالای میتوکندری باشد که انرژی ضروری را برای جوانه‌زنی بذر فراهم می‌کند (بوجیس و همکاران، ۲۰۱۸) در مقایسه با بالنگو شهری، بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های آمیلاز در بذرهای خشک بالنگو شیرازی مشاهده شد (شکل ۵ الف و ب) که این می‌تواند به دلیل بالاتر بودن محتوای نشاسته در طول ذخیره سازی بذر باشد (ابون و همکاران، ۲۰۲۰).

گزارش شده است که تجمع گونه‌های فعال اکسیژن در میتوکندری بذرهای پیر شده جو دوسر^۱ باعث کاهش فعالیت سیتوکروم اکسیداز و مالات دهیدروناز میتوکندری شد (زیا و همکاران، ۲۰۲۰). از این رو کاهش تولید آدنوزین تری فسفات می‌تواند منجر به کاهش انرژی برای فعالیت آمیلازها در فرآیند جوانه‌زنی شود (وانگ^۲ و همکاران، ۲۰۲۱). در مقابل بیشترین میزان فعالیت آنزیم آلفا و بتا آمیلاز در بذرهای شاهد و بذرهای ذخیره شده در شرایط پیری با نیتروژن (شکل ۵ الف و ب) مشاهده شد که این ممکن است به دلیل وضعیت شیشه‌ای سیتوپلاسم باشد که سرعت تنفس را در طول فرایند ذخیره‌سازی بذر کاهش داده است (ژانگ و همکاران، ۲۰۲۱). گزارش کردند که تجمع نشاسته در بذرهای زوال یافته باعث کاهش سرعت تنفس بذر و

³ Jiang

¹ *Avena sativa* L.

² Wang



شکل ۵. مقایسه میانگین برهم‌کنش محیط ذخیره‌سازی و گونه بالنگو بر فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز (الف) و بتا آمیلاز (ب). میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر مقایسه دارای اختلاف معنی‌داری براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن نمی‌باشد. میله‌ها نشان‌دهنده خطای معیار میانگین می‌باشد.

Figure 5. Mean comparison for interaction of storage treatments and *Lallemantia* species on α amylase (A) and β -amylase (B) enzymes activities. Means followed by similar letters in each comparison are not significantly different at $p = 5\%$ probability level, The bars indicate the standard error of the means. NA: natural aging; CD: controlled deterioration; EPPO: elevated partial pressure of oxygen storage; EPPN: elevated partial pressure of nitrogen storage (as control EPPO)

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج، کاهش شدیدی در شاخص‌های جوانه‌زنی، ترکیبات ذخیره‌ای بذر و فعالیت آنزیم آلفا و بتا آمیلاز بذره‌ای خشک ذخیره شده در شرایط پیری با اکسیژن در مقایسه با پیری طبیعی و پیری مهار شده مشاهده شد. در مقابل افزایش شدیدی در محتوای پراکسید هیدروژن، پراکسیداسیون لیپید، هدایت الکتریکی بذره‌ای خشک ذخیره شده در شرایط پیری با اکسیژن وجود داشت. نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که پیری با اکسیژن را می‌توان یک روش

سریع پیری برای بررسی طول عمر بذره‌ای خشک در نظر گرفت. از سوی دیگر شرایط دمایی و رطوبتی پایین در پیری طبیعی را می‌توان به عنوان روشی عملی انتخاب کرد که باعث حفظ کیفیت و طول عمر بذر می‌شود. با توجه به زوال در بذره‌ای بالنگو شهری تحت تیمارهای مختلف ذخیره‌سازی، به نظر می‌رسد که بذر بالنگو شیرازی بیشترین ماندگاری را دارد. در نتیجه بذره‌ای بالنگو شیرازی را می‌توان برای دوره‌ای طولانی نگه‌داری کرد و در شرایط سخت برای افزایش عملکرد و تضمین امنیت غذایی رشد داد.

منابع

- Ansari, O. and Sharif Zadeh, F. 2013. Enzyme activity and germination characteristics improved with treatments that extend vigor of primed Mountain Rye seeds under ageing. Theoretical and Experimental Plant Physiology, 25(3): 1-6.
- Bakhtavar, M.A. and Afzal, I. 2020. Climate smart dry chain technology for safe storage of quinoa seeds. Scientific Reports, 10(1): 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69190-w>
- Bernfeld, P. 1955. Amylase and proteases. Methods in enzymology, 1: 149-154. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(55\)01021-5](https://doi.org/10.1016/0076-6879(55)01021-5)
- Boniecka, J., Kotowicz, K., Skrzypek, E., Dziurka, K., Rewers, M., Jedrzejczyk, I., Wilnowicz, E., Berdychowska, J. and Dąbrowska, G.B. 2019. Potential biochemical, genetic and molecular markers of deterioration advancement in seeds of oilseed rape (*Brassica napus* L.). Industrial Crops and Products, 130: 478-49. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.12.098>

- Buijs, G., Kodde, J., Groot, S.P. and Bentsink, L. 2018. Seed dormancy release accelerated by elevated partial pressure of oxygen is associated with DOG loci. *Journal of Experimental Botany*, 69(15): 3601-3608. <https://doi.org/10.1093/jxb/ery156>
- Buijs, G., Willems, L.A., Kodde, J., Groot, S.P. and Bentsink, L. 2020. Evaluating the EPPO method for seed longevity analyses in *Arabidopsis*. *Plant Science*, 301: 110644. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110644>
- Chen, X., Börner, A., Xin, X., Nagel, M., He, J., Li, J., Li, N., Lu, X. and Yin, G. 2021. Comparative proteomics at the critical node of vigor loss in wheat seeds differing in storability. *Frontiers in Plant Science*, 1883. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.707184>
- Demir, I., Kuzucu, C.O., Ermis, S., Memis, N. and Kadioglu, N. 2022. Estimation of seed longevity in onion seed lots by a vigor test of radicle emergence test in artificial ageing conditions. *Horticulturae*, 8(11): 1063. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8111063>
- Ebone, L.A., Caverzan, A. and Chavarria, G. 2019. Physiologic alterations in orthodox seeds due to deterioration processes. *Plant Physiology and Biochemistry*, 145: 34-42. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.10.028>
- Ebone, L.A., Caverzan, A., Silveira, D.C., Siqueira, L.d.O., Lângaro, N.C., Chiomento, J.L.T. and Chavarria, G. 2020. Biochemical profile of the soybean seed embryonic axis and its changes during accelerated aging. *Biology*, 9(8): 186. <https://doi.org/10.3390/biology9080186>
- Fenollosa, E., Jené, L. and Munné-Bosch, S. 2020. A rapid and sensitive method to assess seed longevity through accelerated aging in an invasive plant species. *Plant Methods*, 16(1): 1-11. <https://doi.org/10.1186/s13007-020-00607-3>
- Gerna, D., Ballesteros, D., Arc, E., Stöggel, W., Seal, C.E., Marami-Zonouz, N., Na, C.S., Kranner, I. and Roach, T. 2022. Does oxygen affect ageing mechanisms of *Pinus densiflora* seeds? A matter of cytoplasmic physical state. *Journal of Experimental Botany*, 73(8): 2631-2649. <https://doi.org/10.1093/jxb/erac024>
- Gerna, D., Ballesteros, D., Stöggel, W., Arc, E., Seal, C.E., Na, C.S., Kranner, I. and Roach, T. 2020. Cytoplasmic physical state governs the influence of oxygen on *Pinus densiflora* seed ageing. *BioRxiv*, 12: 421446. <https://doi.org/10.1101/2020.12.11.421446>
- Hampton, J.G. and TeKrony, D.M. 1995. Handbook of vigour test methods. The International Seed Testing Association. Zurich. 117p.
- Heath, R. and Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125(1): 189-198. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1)
- ISTA. 2013. International rules for seed testing: Weight determination. Int. Seed Testing Assoc., Bassersdorf, Switzerland,
- Javidi, M.R., Maali-Amiri, R., Poormazaheri, H., Niaraki, M.S. and Kariman, K. 2022. Cold stress-induced changes in metabolism of carbonyl compounds and membrane fatty acid composition in chickpea. *Plant Physiology and Biochemistry*, 192: 10-19. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2022.09.031>
- Jiang, F.L., Bo, L.P., Xu, J.J. and Wu, Z. 2018. Changes in respiration and structure of non-heading Chinese cabbage seeds during gradual artificial aging. *Scientia Horticulturae*, 238: 14-22. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.04.011>
- Kuai, J., Liu, Z., Wang, Y., Meng, Y., Chen, B., Zhao, W., Zhou, Z. and Oosterhuis, D.M. 2014. Waterlogging during flowering and boll forming stages affects sucrose metabolism in the leaves subtending the cotton boll and its relationship with boll weight. *Plant Science*, 223: 79-98. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.03.010>
- Liu, Y., Shen, X., Sha, M., Feng, Z. and Liu, Y. 2023. Natural bioactive flavonoids as promising agents in alleviating exercise-induced fatigue. *Food Bioscience*, 102360. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102360>

- Loreto, F. and Velikova, V. 2001. Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of cellular membranes. *Plant Physiology*, 127(4): 1781-1781. <https://doi.org/10.1104/pp.010497>
- Malek, M., Ghaderi-Far, F., Torabi, B. and Sadeghipour, H.R. 2022. Dynamics of seed dormancy and germination at high temperature stress is affected by priming and phytohormones in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Journal of Plant Physiology*, 269: 153614. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2021.153614>
- Nagel, M., Seal, C.E., Colville, L., Rodenstein, A., Un, S., Richter, J., Pritchard, H.W., Börner, A. and Kranter, I. 2019. Wheat seed ageing viewed through the cellular redox environment and changes in pH. *Free Radical Research*, 53(6): 641-654. <https://doi.org/10.1080/10715762.2019.1620226>
- Nigam, M., Mishra, A.P., Salehi, B., Kumar, M., Sahrifi-Rad, M., Coviello, E., Iriti, M. and Sharifi-Rad, J. 2019. Accelerated ageing induces physiological and biochemical changes in tomato seeds involving MAPK pathways. *Scientia Horticulturae*, 248: 20-28. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.12.056>
- Oenel, A., Fekete, A., Kriskche, M., Faul, S.C., Gresser, G., Havaux, M., Mueller, M.J. and Berger, S. 2017. Enzymatic and non-enzymatic mechanisms contribute to lipid oxidation during seed aging. *Plant and Cell Physiology*, 58(5): 925-933. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcx036>
- Paravar, A., Farahani, S.M. and Rezazadeh, A. 2023. Morphological, physiological and biochemical response of *Lallemantia* species to elevated temperature and light duration during seed development. *Heliyon*, 9(4): e15149. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e15149>
- Paravar, A., Maleki Farahani, S. and Rezazadeh, A. 2024. How storage circumstance alters the quality of seeds of *Lallemantia iberica* and *Lallemantia royleana* produced under maternal drought stress. *Environmental and Experimental Botany*, 217: 105537. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2023.105537>
- Paravar, A., Maleki Farahani, S. and Rezazadeh, A.R. 2018. Effect of drought stress during seed development on seed vigour, membrane peroxidation and antioxidant activity in different species of Balangu. *Journal of Crops Improvement*, 20(1): 145-159. [In Persian].
- Paravar, A., Maleki Farahani, S., and Rezazadeh, A.R. 2021. Fatty acid composition and eco-agronomical traits of *Lallemantia* species modulated upon exposed to arbuscular mycorrhizal fungi and nano-iron chelate fertilizers under water deficit conditions. This Preprint is Under Review at BMC Plant Biology. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-143811/v1>
- Paravar, A., Maleki Farahani, S., Rezazadeh, A. and Keshavarz Afshar, R. 2023. How nano-iron chelate and arbuscular mycorrhizal fungi mitigate water stress in *Lallemantia* species: A growth and physio-biochemical properties. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 187(5): 621-638. <https://doi.org/10.1002/jpln.202300115>
- Prasad, C.M., Kodde, J., Angenent, G.C., de Vos, R.C., Diez-Simon, C., Mumm, R., Hay, F.R., Siricharoen, S., Yadava, D.K. and Groot, S.P. 2022. Experimental rice seed aging under elevated oxygen pressure: Methodology and mechanism. *Frontiers in Plant Science*, 13: 1050411. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1050411>
- Ranganathan, U. and Groot, S.P. 2023. Seed Longevity and Deterioration. *Seed Science and Technology: Biology, Production, Quality*, Springer Nature Singapore Singapore: 91-108. https://doi.org/10.1007/978-981-19-5888-5_5
- Savage, G., McNeil, D. and Dutta, P. 1997. Lipid composition and oxidative stability of oils in hazelnuts (*Corylus avellana* L.) grown in New Zealand. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 74(6): 755-759. <https://doi.org/10.1007/s11746-997-0214-x>
- Seyyedi, S.M., Afshari, R.T. and Daneshmandi, M. 2018. The relationships between fatty acids and heterotrophic seedling growth in winter canola cultivars during accelerated seed aging process. *South African Journal of Botany*, 119: 353-361. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.09.034>

- Silva, G., Sales, J., Nascimento, K., Rodrigues, A., Camelo, G. and Borges, E. 2020. Biochemical and physiological changes in *Dipteryx alata* Vog. Seeds during germination and accelerated aging. South African Journal of Botany, 131: 84-92. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.02.007>
- Wang, S., Liu, W., He, Y., Adegoke, T.V., Ying, J., Tong, X., Li, Z., Tang, L., Wang, H. and Zhang, J. 2021. BZIP72 promotes submerged rice seed germination and coleoptile elongation by activating ADH1. Plant Physiology and Biochemistry, 169: 112-118. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.11.005>
- Whitehouse, K.J. and Norton, S.L. 2022. Environmental effect on temporal patterns in lentil seed quality development. Seed Science Research, 32(1): 1-12. <https://doi.org/10.1017/S0960258521000313>
- Xia, F., Cheng, H., Chen, L., Zhu, H., Mao, P. and Wang, M. 2020. Influence of exogenous ascorbic acid and glutathione priming on mitochondrial structural and functional systems to alleviate aging damage in Oat seeds. BMC Plant Biology, 20(1): 1-11. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-2321-x>
- Zhang, K., Zhang, Y., Sun, J., Meng, J. and Tao, J. 2021. Deterioration of orthodox seeds during ageing: Influencing factors, physiological alterations and the role of reactive oxygen species. Plant Physiology and Biochemistry, 158: 475-485. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.11.031>
- Zinsmeister, J., Leprince, O. and Buitink, J. 2020. Molecular and environmental factors regulating seed longevity. Biochemical Journal, 477(2): 305-323. <https://doi.org/10.1042/BCJ20190165>