پژوهش‌های بذر ایران/ سال هشتم/ شماره اول/ ۱۴۰۰/ صفحات: ۸۹-۷۳

مقاله پژوهشی

ارزیابی خصوصیات جوانه‌زنی و فعالیت آلفا و بتا آمیلاز بذر پنیرباد (*Withania coagulans*) در پاسخ به خراش‌دهی و نیترات پتاسیم

مجید قنبری [۱]، سید علی محمد مدرس ثانوی [۲،*]، علی مختصی بیدگلی [۲]

چکیده مبسوط

مقدمه: گیاهان دارویی از ارزش و اهمیت خاصی در درمان و پیشگیری از بیماری‌ها، برخوردار هستند. گیاه پنیرباد دارای خواص تقویت‌کنندگی، ترمیم کبدی، ضدالتهاب بوده و در درمان برونشیت، آسم، زخم‌ها، اختلالات عصبی از جمله پارکینسون و آلزایمر سودمند است. ارزیابی کیفیت بذر به‌عنوان اندام تکثیر گیاهان و مهم‌ترین نهاده برای تولید محصولات زراعی و دارویی از جایگاه ویژه‌ای در تولید و کنترل و گواهی بذر برخوردار است. مطالعه خصوصیات جوانه‌زنی و زیست‌شناسی بذر گیاهان دارویی و روش‌های شکستن خواب در آن‌ها از مطالعات پایه و اولیه اهلی کردن گیاهان دارویی می‌باشد. در این بین، ساییدن بذر با ساینده‌ها، پوسته بذر را تغییر داده و سبب نفوذپذیری بذرها نسبت به آب و گازها می‌شوند. محققین اظهار داشتند که خواب بذرهایی که در پوسته آن‌ها مواد متابولیکی بازدارنده وجود دارد را می‌توان به‌واسطه حذف پوسته بذر از طریق خراش‌دهی مکانیکی و اسموپرایمینگ کاهش داد. برای این منظور، تأثیر خراش‌دهی و غلظت‌های مختلف نیترات پتاسیم در زمان‌های مختلف بر ویژگی‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیمی بذر پنیرباد مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: آزمایش، به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۵ در آزمایشگاه گروه زراعت دانشگاه تربیت مدرس انجام گرفت. تیمارهای آزمایش شامل، خراش‌دهی بذر (عدم خراش‌دهی و خراش‌دهی بذر با سنباده نرم)، اسموپرایمینگ از منبع نیترات پتاسیم (صفر، یک، یک و نیم و دو میلی‌گرم بر لیتر) و مدت زمان اسموپرایمینگ (هشت، ۱۶، ۲۴ و ۳۲ ساعت) بود. آزمایش روی بذر پنیرباد، توده خاش انجام شد. پتری‌ها در ژرمیناتور در دمای ۲۵ درجه سلیسیوس و در روشنایی کامل به مدت ۱۴ روز قرار داده شدند. در این آزمایش صفات درصد و سرعت جوانه‌زنی، متوسط جوانه‌زنی روزانه، میانگین زمان جوانه‌زنی، بنیه بذر و فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج آزمایش نشان داد که در شرایط خراش‌دهی، بیشترین درصد جوانه‌زنی نهایی (۶۹/۴۷ درصد) با پرایمینگ بذر در غلظت یک و نیم میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم به مدت ۱۹ ساعت به‌دست آمد. در شرایط خراش‌دهی، به ازای هر یک میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم در زمان‌های ۱۶ و ۳۲ ساعت، ۰/۶۲ و ۱/۱۷ تعداد بر روز سرعت جوانه‌زنی افزایش یافت. بیشترین میانگین جوانه‌زنی روزانه (۰/۱۵ تعداد) در غلظت یک و نیم میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم و زمان ۲۴ ساعت مشاهده شد و با کاهش مدت زمان پیش‌تیمار به ۸ ساعت متوسط زمان جوانه‌زنی (۷/۳۹ روز) کاهش یافت. همچنین، بیشترین متوسط زمان جوانه‌زنی (۹/۳۵ روز) در زمان ۳۲ ساعت پیش‌تیمار نیترات پتاسیم و بیشترین متوسط زمان جوانه‌زنی در شرایط عدم خراش‌دهی (۹/۱۳ روز) بوده و با اعمال خراش‌دهی متوسط زمان جوانه‌زنی (۸/۰۴ روز) کاهش یافت. فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی آلفا و بتا آمیلاز تحت‌تأثیر غلظت‌های مختلف نیترات پتاسیم و خراش‌دهی قرار داشته و در غلظت‌های بالای نیترات پتاسیم از فعالیت این آنزیم‌ها کاسته شد.

نتیجه‌گیری: به‌طور کلی، کاربرد اسموپرایمینگ نیترات پتاسیم، از طریق ارتقاء فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی و بهبود ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر پنیرباد، موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیزکننده در آندوسپرم بذرها شده که این امر سبب کاهش میانگین زمان جوانه‌زنی، افزایش سرعت و درصد جوانه‌زنی می‌گردد. در مجموع، خراش‌دهی بذر به همراه استفاده از غلظت‌های پایین نیترات پتاسیم در زمان‌های ۱۶ الی ۲۴ ساعت برای شکست خواب بذر گیاه پنیرباد توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: آلفا و بتا آمیلاز، خراش‌دهی، اسموپرایمینگ، سرعت جوانه‌زنی، ویتانیا

جنبه‌های نوآوری:

۱- سرعت و درصد جوانه‌زنی بذر پنیرباد تحت تأثیر اسموپرایمینگ و خراش‌دهی پایش گردید.

۲- نقش آنزیم‌های جوانه‌زنی آلفا و بتا آمیلاز در تسریع شکست خواب بذر پنیرباد مطالعه گردید.

۳- میانگین زمان و متوسط جوانه‌زنی روزانه طی فرآیند شکست خواب بذر پنیرباد برآورد گردید.

[۱] دکترای فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

[۲] استاد و استادیار گروه زراعت، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

[*] رایانامه نویسنده مسئول: modaresa@modares.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۲۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۵/۰۴)

http://dorl.net/dor/20.1001.1.23831251.1400.8.1.7.1

DOI: 10.52547/yujs.8.1.73

مقدمه

گیاهان دارویی در ایران جزء ذخایر ژنتیکی ارزشمندی محسوب می‌شوند. امروزه بسیاری از تحقیقات علوم گیاهی به جنبه‌های مختلف کاربردی این گیاهان معطوف شده است. توده‌های بومی گیاهان دارویی، به‌ویژه جمعیت‌های وحشی، از نظر ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی ناهمگن هستند؛ بنابراین، با بررسی خصوصیات بیوشیمیایی، مورفولوژیک و فیزیولوژیک بذر توده‌های بومی و با درنظر گرفتن شرایط آب و هوایی می‌توان آن‌ها را به سامانه‌های زراعی وارد نمود (پرامانیک و سریواستاوا[1]، ۲۰۱۵). پنیرباد[2] گیاهی است علفی که در مناطقی از جمله پاکستان، افغانستان، هند و ایران رشد می‌کند. در ایران پراکنش این گونه در قسمت جنوبی استان سیستان و بلوچستان بوده و جزء پوشش گیاهی غالب شهرستان‌های سراوان، ایرانشهر، سرباز، سیب و سوران، زابل و حوالی زاهدان به‌شمار می‌رود. گیاه پنیرباد نقش مهمی در طب سنتی ایران دارد و دارای خواص تقویت‌کنندگی، ترمیم کبد، ضدالتهاب و غیره بوده و در درمان برونشیت، آسم، زخم‌ها و اختلالات عصبی از جمله پارکینسون و آلزایمر سودمند است (گوپتا[3]، ۲۰۱۲).

پنیرباد، متعلق به سلسله گیاهان، شاخه پیدازادان، زیرشاخه نهاندانگان، رده دولپه‌ای‌ها، راسته جداگلبرگان و تیره سیب‌زمینی است که بالغ بر ۸۴ جنس و حدود ۳۰۰۰ گونه دارد و در سراسر دنیا پراکنده شده‌اند (میرجلیلی[4] و همکاران، ۲۰۰۹). مهم‌ترین روش تکثیر گیاه پنیرباد بذر است. برداشت ریشه گیاه برای اهداف دارویی و استفاده از برگ‌ها به عنوان علوفه، مانع از رسیدن گیاه به مرحله بلوغ و تولید بذر شده و نسل آن را در معرض خطر قرار داده است (جین[5] و همکاران، ۲۰۰۱). گونه‌های وحشی جنس ویتانیا دارای درختچه‌های چندساله با ارتفاع ۱۳۰-۱۲۰ سانتی‌متر و درصد جوانه‌زنی پایین بوده در حالی که گونه‌های کشت‌شده یا اهلی، گیاهانی یک‌ساله، با ارتفاع کوتاه و با سرعت جوانه‌زنی بالاتری بوده (کومار[6] و همکاران، ۲۰۰۷)، اغلب در شرق هندوستان، نپال و افغانستان کشت شده (پرامانیک و سریواستاوا، ۲۰۱۵)، سطح زیر کشت آن حدود ۶۰ هزار هکتار و میزان تولید ریشه آن حدود ۱۵۰۰ تن در کشور هندوستان گزارش شده است (تاکور[7] و همکاران، ۲۰۱۴).

علاوه‌بر خصوصیات دانه و شرایط جوانه‌زنی آن، کیفیت جوانه‌زنی دانه‌رست‌های جوان از عوامل مهم تعیین جمعیت یک گونه و در نهایت پراکنش آن گونه است؛ زیرا در مورد گیاهان مرتعی و چند ساله، از جمله گیاه پنیرباد، احتمال صدمه و نابودی در اولین ماه‌های استقرار در طبیعت، به‌دلیل خطر چرا، آفت و یا سایر شرایط اقلیمی وجود دارد (روت[8] و همکاران، ۲۰۱۱). محققین در بررسی پتانسیل کشت گیاه بوزیدان[9] به‌عنوان یک گیاه دارویی در سریلانکا گزارش کردند که تولید بذر این گیاه به‌طور متوسط ۶۵۸۲ بذر در بوته بوده که این تعداد بذر برای رسیدن به تعداد مطلوب تولید گیاه، مناسب است اما درصد جوانه‌زنی این گیاه به‌طور معمول به‌دلیل وجود خواب در بذر آن پایین است (شانموگاراتنام[10] و همکاران، ۲۰۱۳). همچنین پژوهش‌گران در بررسی عمل هم‌افزایی نور و دما بر جوانه‌زنی بذرهای برخی از گونه‌های خانواده سیب‌زمینی به‌ویژه بوزیدان ۷ دریافتند که بذرهای این گیاه نیازمند به نور بوده و هیچ‌گونه رابطه‌ای بین درصد جوانه‌زنی و دمای متناوب در این گیاه وجود ندارد (برکت[11] و همکاران، ۲۰۱۳). در این بین، در بررسی طول عمر بذرهای گونه‌های گیاهی دارای خواب از نواحی ساوانای در حال تخریب مناطق نیمه‌خشک تانزانیا گزارش داده شد که گیاه بوزیدان ۷ دارای خواب فیزیولوژیکی جنین بذر بوده و پوسته بذر آن نسبت به آب نفوذپذیر است. خواب فیزیولوژیکی جنین بذر جزء خواب‌های ذاتی بذر بوده و به‌دلیل عوامل داخلی ازجمله جنین نارس، وجود مهارکننده‌های درون بذر و یا پوشش سخت بذر است

[1] Pramanick and Srivastava
[2] *Withania coagulans*
[3] Gupta
[4] Mirjalili
[5] Jain
[6] Kumar
[7] Thakur
[8] Rout
[9] *Withania somnifera*
[10] Shanmugaratnam
[11] Barakat

(لیارو[1]، ۲۰۰۸). محققین در پژوهش‌های خود به منظور منظور شکست خواب بذر گیاهان دارویی و بهبود درصد جوانه‌زنی آن از کاربرد تیمار شیمیایی پیش از جوانه‌زنی و تنظیم شرایط محیط جوانه‌زنی گیاه بهره برده‌اند (نیاز و سیدیکویی[2]، ۲۰۱۴). پیش‌تیمار بذر با آب در دمای اتاق (هارتمن[3] و همکاران، ۲۰۰۷)، غلظت‌های مختلف KNO_3 و GA_3 (موهان[4] و همکاران، ۲۰۱۲)، پیش سرمادهی مرطوب (کامبیزی[5] و همکاران، ۲۰۰۶) و خراش‌دهی (نیاز و سیدیکویی، ۲۰۱۴) ازجمله روش‌های شکست خواب بذر در گیاهان دارویی محسوب می‌شوند. نیاز نوری گیاه پنیرباد برای جوانه‌نی در آزمایش‌های مختلف به‌صورت تناوب نور و تاریکی (کامبیزی و همکاران، ۲۰۰۶)، تاریکی کامل (ناتیا[6] و همکاران، ۲۰۱۳) و نور کامل (جوشی و پادیا[7]، ۲۰۱۰) گزارش شد. این در حالی است که در دستورالعمل انجمن گیاهان دارویی آمریکا، نیاز نوری گیاه پنیرباد، نور کامل خورشید گزارش شده است (انجمن گیاهان دارویی آمریکا[8]، ۲۰۰۹). این تحقیق با هدف بررسی تأثیر خراش‌دهی و پیش تیمار نیترات پتاسیم بر خصوصیات جوانه‌زنی و فعالیت‌های آنزیمی بذر پنیرباد در شرایط آزمایشگاهی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه گروه زراعت دانشگاه تربیت مدرس انجام گرفت. تیمارهای آزمایش شامل، خراش‌دهی بذر دارای دو سطح (عدم خراش‌دهی و خراش‌دهی بذر با سنباده نرم)، اسموپرایمینگ، دارای چهار غلظت (صفر، یک، یک و نیم و دو میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم) و مدت زمان پیش تیمار (هشت، ۱۶، ۲۴ و ۳۲ ساعت) بود. آزمایش روی بذر پنیرباد، توده جمع‌آوری شده از شهرستان خاش دارای طول عمر ۱۲ ماه انجام شد. از سمباده نرم نمره ۲۵۰۰ (ساخت آلمان) برای شکست خواب ناشی از پوسته بذر و خراش‌دهی به‌مدت ۲ تا ۴ ثانیه استفاده شد. همچنین، از اسموپرایمینگ با استفاده از نیترات پتاسیم جهت حذف نیاز نوری بذر پنیرباد جهت جوانه‌زنی استفاده شد. بذرها در دمای اتاق (۲۵ درجه سلسیوس) درون پتری پیش‌تیمار شدند. به هر پتری، پنج میلی‌لیتر محلول‌های نیترات پتاسیم و برای غلظت صفر، آب مقطر اضافه شد. به‌منظور کشت، به تعداد ۲۵ عدد بذر درون هر پتری سترون دارای کاغذ صافی واتمن نمره ۴۲ قرار گرفتند. به هر پتری، پنج میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد (قنبری[9] (قنبری[9] و همکاران، ۲۰۱۶). پس از اعمال تیمارها، ظروف توسط پارافیلم پوشیده شد (قنبری و کرمنیا[10]، ۲۰۱۶) و پتری‌ها در ژرمیناتور در دمای ۲۵ درجه سلیسیوس (کامبیزی و همکاران، ۲۰۰۶) و در روشنایی کامل (انجمن گیاهان دارویی آمریکا[6]، ۲۰۰۹) به مدت ۱۴ روز قرار داده شدند. به‌دلیل ثابت شدن روند جوانه‌زنی بذرها در مدت زمان بیش از دو هفته، پس از اجرای آزمایش معیار ۱۴ روز برای آزمایش تعیین گردید. شمارش جوانه‌زنی از روز چهارم آغاز و تا روز چهاردهم ادامه یافت. معیار جوانه‌زنی خروج ریشه‌چه به اندازه دو میلی‌متر بود (سلطانی[11] و همکاران، ۲۰۰۱). درصد جوانه‌زنی از نسبت تعداد بذرهای جوانه‌زده پس از ۱۴ روز به تعداد کل بذرها به‌دست آمد (هانتر[12] و همکاران، ۱۹۸۴). به منظور محاسبه سرعت و میانگین زمان جوانه‌زنی به‌ترتیب از روابط ۱ و ۲ استفاده گردید (باربور[13]، ۱۹۶۸).

$$GR = \sum_{i=1}^{n} \frac{Si}{Di}$$ رابطه (۱)

که در آن، GR سرعت جوانه‌زنی، Si تعداد بذرهای جوانه‌زده در هر شمارش، Di تعداد روز تا شمارش n ام و n دفعات شمارش است.

$$MGT = \frac{\sum Dn}{\sum n}$$ رابطه (۲)

[1] Lyaruu
[2] Niyaz and Siddiqui
[3] Hartmann
[4] Mohan
[5] Kambizi
[6] Nathiya
[7] Joshi and Padhya
[8] The Herb Society of America
[9] Ghanbari
[10] Ghanbari and Karamnia
[11] Soltani
[12] Hunter
[13] Barbour

جدول ۱. تجزیه واریانس تأثیرخراش‌دهی و نیترات پتاسیم بر خصوصیات و فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی پنیرباد

Table 1. Analysis of variance of the effect of scarification and potassium nitrate on the characteristics and activity of germination enzymes of Indian Cheese Maker

منابع تغییرات		درجه آزادی	میانگین مربعات (Mean square)						
			درصد جوانه‌زنی نهایی	سرعت جوانه‌زنی	متوسط جوانه‌زنی روزانه	میانگین زمان جوانه‌زنی	بنیه بذر	آلفا آمیلاز	بتا آمیلاز
SOV		df	Final germination percent	Germination rate	Mean of daily germination	Mean of germination time	Seed vigor	α-amylase	β-amylase
خراش‌دهی	Scarification	1	6550.51**	12.16**	0.06**	28.40**	985876.05**	0.39**	0.34**
نیترات پتاسیم	KNO_3	3	468.23^{ns}	1.38**	0.007**	2.90^{ns}	146183.54*	0.01^{ns}	0.01^{ns}
خراش‌دهی× نیترات پتاسیم	Scarification×KNO_3	3	462.28^{ns}	0.75^{ns}	0.003^{ns}	1.51^{ns}	164118.70*	0.01^{ns}	0.01^{ns}
زمان	Time	3	928.95**	1.59**	0.008**	17.80**	171016.67**	0.04*	0.03*
خراش‌دهی×زمان	Scarification×Time	3	258.78^{ns}	0.59^{ns}	0.003^{ns}	1.65^{ns}	58812.42^{ns}	0.02^{ns}	0.02^{ns}
نیترات پتاسیم×زمان	KNO_3×Time	9	623.47**	0.92**	0.004**	4.30^{ns}	149645.28**	0.03**	0.03**
خراش‌دهی×نیترات پتاسیم×زمان	Scarification×KNO_3× Time	9	563.15**	0.83*	0.004*	2.03^{ns}	141485.13**	0.03**	0.03**
خطای آزمایش	Error	64	218.26	0.38	0.001	2.20	47688.37	0.01	0.01
ضریب تغییرات (درصد)	CV (%)	-	33.84	41.06	40.11	17.28	55.22	29.63	27.35

ns، * و ** به‌ترتیب نشان‌دهنده غیر معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد است.

ns, * and ** Represents non-significant and significant at the 5 and 1% probability, respectively.

در این رابطه، MGT میانگین زمان جوانه‌زنی، n تعداد بذرهایی که در روز D جوانه‌زده‌اند و D تعداد روزهای پس از شروع جوانه‌زنی است. متوسط جوانه‌زنی روزانه که شاخصی از سرعت جوانه‌زنی روزانه است به صورت زیر تعیین شد (حمیدی[1] و همکاران، ۲۰۰۸).

$$MDG = \frac{FGP}{D}$$ رابطه (۳)

در رابطه بالا، FGP درصد جوانه‌زنی نهایی و D تعداد روز تا رسیدن به حداکثر جوانه‌زنی نهایی است. شاخص بنیه بذر نیز بر اساس رابطه ۴ محاسبه شد (آگراوال[2]، ۲۰۰۳).

$$SV=FGP\times SL$$ رابطه (۴)

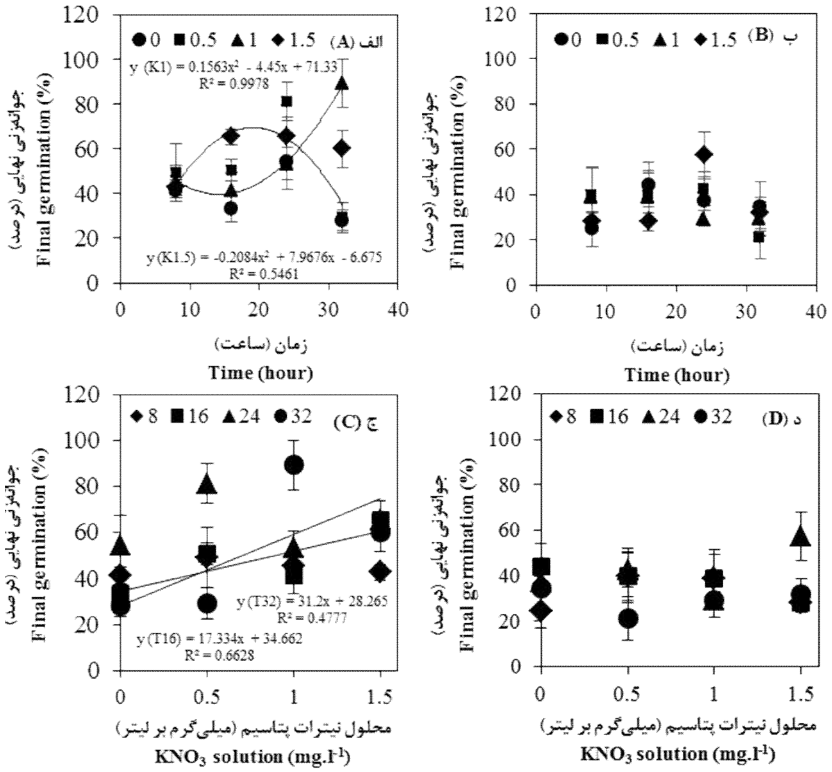
در این رابطه، SV شاخص بنیه بذر، FGP درصد جوانه‌زنی نهایی و SL طول گیاهچه است. جهت تعیین فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز از روش برن‌فلد[3] (۱۹۷۰) استفاده شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۳ تجزیه شد. قبل از تجزیه واریانس داده‌ها، تست نرمالیتی انجام گرفته و پس از اطمینان از توزیع نرمال باقیمانده‌ها، تجزیه واریانس از طریق مدل خطی تعمیم یافته (GLM) انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح پنج درصد احتمال خطا استفاده شد. در مواقعی که اثر متقابل دو و سه گانه معنی‌دار شد، برای تفسیر بهتر نتایج و برای جلوگیری از مقایسه میانگین‌های طولانی و پیچیده، برش‌دهی فیزیکی برای خراش‌دهی و محلول نیترات پتاسیم انجام شد. به علاوه، مقایسات مستقل چندجمله‌ای برای آزمون اثر خطی یا درجه دو غلظت‌های محلول نیترات پتاسیم و زمان‌های پرایمینگ بر صفات جوانه‌زنی اندازه‌گیری‌شده در سطح پنج درصد احتمال استفاده گردید.

نتایج و بحث

درصد نهایی و سرعت جوانه‌زنی

تجزیه واریانس نشان داد که درصد جوانه‌زنی نهایی از نظر خراش‌دهی، زمان، برهمکنش‌های نیترات پتاسیم

[1] Hamidi
[2] Agrawal
[3] Bernfeld



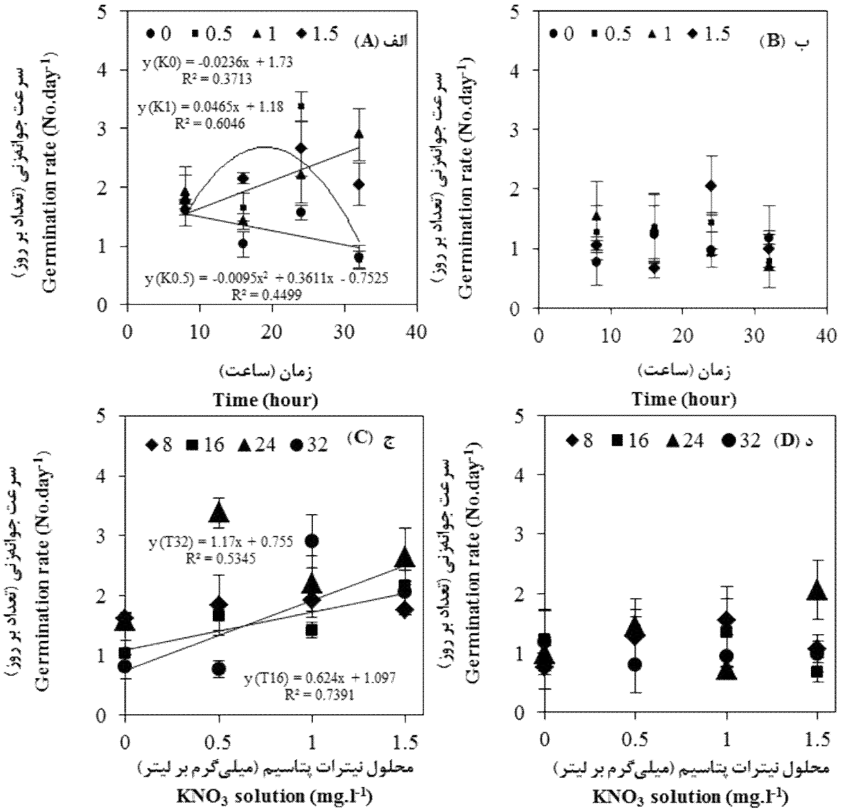
شکل ۱. درصد جوانه‌زنی نهایی پنیرباد در زمان‌های مختلف پرایمینگ، برش داده شده در غلظت‌های مختلف نیترات پتاسیم در شرایط خراش‌دهی (الف) و عدم خراش‌دهی (ب) و تحت‌تأثیر غلظت‌های مختلف نیترات پتاسیم، برش داده شده در زمان‌های مختلف پرایمینگ در شرایط خراش‌دهی (ج) و عدم خراش‌دهی (د). رگرسیون‌های خطی و درجه دوم بر اساس معنی‌داری در سطح ۵ درصد ارائه شده‌اند. خط‌های عمودی نشان دهنده خطای معیار می‌باشند. در شکل الف و ب، شاهد (●)، ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر (■)، ۱ میلی‌گرم بر لیتر (▲) و ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر (♦) محلول نیترات پتاسیم و در شکل ج و د، ۸ ساعت (●)، ۱۶ ساعت (■)، ۲۴ ساعت (▲) و ۳۲ ساعت (♦) زمان پرایمینگ، نمایش داده شده است.

Fig. 1. Final germination percent of Indian Cheese Maker in different priming times, sliced at different concentration of KNO_3 in scarification (A) and non-scarification (B) condition, and affected by different concentration of KNO_3, sliced at different priming times in scarification (C) and non-scarification (D) condition. Linear and quadratic regressions are presented at a significant level of 5%. In figure (A and B), control (●), 0.5 $mg.l^{-1}$ (■), 1 $mg.l^{-1}$ (▲) and 1.5 $mg.l^{-1}$ (♦) KNO_3 solution and in figure (C and D), 8 hour (♦), 16 hour (■), 24 hour (▲) and 32 hour (●) of priming time are shown.

× زمان و خراش‌دهی × نیترات پتاسیم × زمان در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). همچنین، سرعت جوانه‌زنی از نظر خراش‌دهی، نیترات پتاسیم، زمان، برهمکنش‌های نیترات پتاسیم × زمان و خراش‌دهی × نیترات پتاسیم × زمان و سرعت جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

بر اساس معادلات درجه دوم، در شرایط خراش‌دهی، بیشترین درصد جوانه‌زنی نهایی (۶۹/۴۷ درصد) در غلظت یک و نیم میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم، در زمان ۱۹ ساعت و کمترین درصد جوانه‌زنی نهایی (۳۹/۶۵ درصد) در غلظت یک میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم، در زمان ۱۴ ساعت به‌دست آمد (شکل ۱-الف). در شرایط عدم خراش‌دهی، بیشترین درصد جوانه‌زنی نهایی (۵۷/۳۳ درصد) در غلظت یک و نیم میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم و زمان ۲۴ ساعت مشاهده شد و کم‌ترین درصد جوانه‌زنی نهایی (۲۱/۳۳ درصد) در غلظت نیم میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم و زمان ۳۲ ساعت دیده شد که با عدم کاربرد نیترات پتاسیم و زمان ۸ ساعت تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۱-ب و شکل ۱-د). با توجه به معادله خطی، در شرایط خراش‌دهی، در زمان‌های ۱۶ و ۳۲ ساعت به ازای هر یک میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم، ۱۷/۳۳ و ۳۱/۲ درصد جوانه‌زنی

نهایی افزایش یافت (شکل ۱-ج). بر اساس معادله خطی، در شرایط خراش‌دهی و عدم کاربرد نیترات پتاسیم، به ازای هر ساعت، سرعت جوانه‌زنی ۰/۰۲ درصد کاهش یافت (شکل ۲-الف). با توجه به معادله درجه دوم، در شرایط خراش‌دهی، بیشترین سرعت جوانه‌زنی (۲/۶۷ تعداد بر روز) در غلظت نیم میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم در ۱۹ ساعت برآورد شد (شکل ۲-الف). همچنین، بر اساس معادله خطی، در شرایط خراش‌دهی و غلظت یک میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم، به ازای هر ساعت، سرعت جوانه‌زنی ۰/۰۵ تعداد بر روز افزایش یافت (شکل ۲-الف). در شرایط عدم خراش‌دهی، بیشترین سرعت جوانه‌زنی (۲/۰۶ تعداد بر روز) در زمان ۲۴ ساعت و غلظت یک و نیم میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم مشاهده شد. کمترین سرعت جوانه‌زنی (۰/۶۷ تعداد بر روز) در زمان ۱۶ ساعت و غلظت یک و نیم میلی‌لیتر نیترات پتاسیم دیده شد که با زمان ۱۶ ساعت و غلظت یک میلی‌گرم بر لیتر تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۲-ب و ۲-د).



شکل ۲. سرعت جوانه‌زنی پنیرباد در زمان‌های مختلف پرایمینگ برش داده شده برای غلظت‌های مختلف محلول نیترات پتاسیم در شرایط خراش‌دهی (الف) و عدم خراش‌دهی (ب) و تحت‌تأثیر غلظت‌های مختلف نیترات پتاسیم برش داده شده در زمان‌های مختلف پرایمینگ در شرایط خراش‌دهی (ج) و عدم خراش‌دهی (د). رگرسیون‌های خطی و درجه دوم بر اساس معنی‌داری در سطح ۵ درصد ارائه شده‌اند. خط‌های عمودی نشان دهنده خطای معیار می‌باشند. در شکل الف و ب، شاهد (●)، ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر (■)، ۱ میلی‌گرم بر لیتر (▲) و ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر (♦) محلول نیترات پتاسیم و در شکل ج و د، ۸ ساعت (●)، ۱۶ ساعت (■)، ۲۴ ساعت (▲) و ۳۲ ساعت (♦) زمان پرایمینگ، نمایش داده شده است.

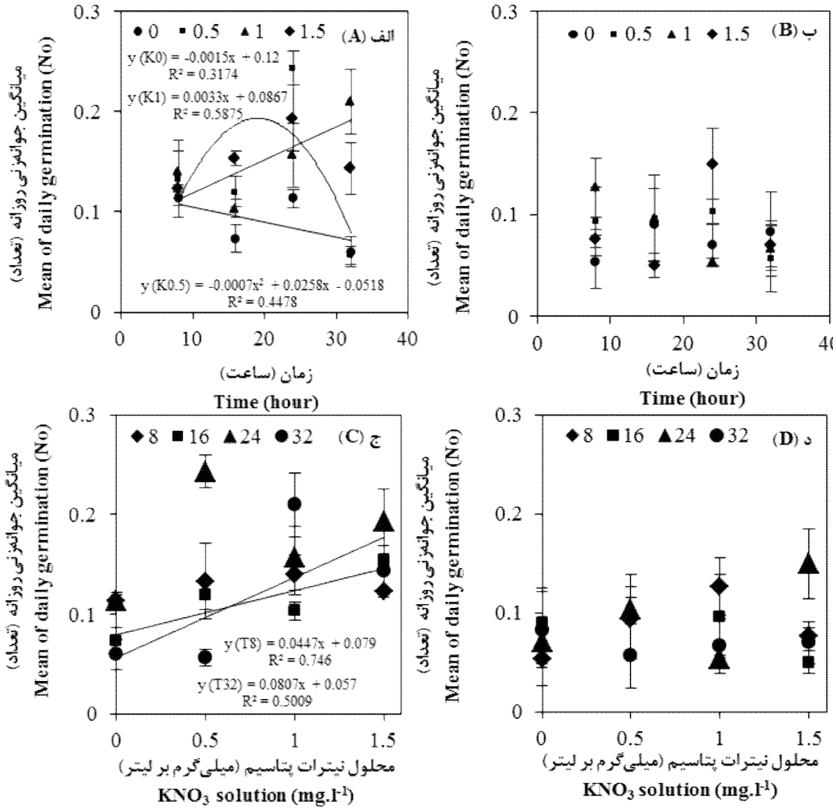
Fig. 2. Germination rate of Indian Cheese Maker in different priming times, sliced at different concentration of KNO_3 in scarification (A) and non-scarification (B) condition, and affected by different concentration of KNO_3, sliced at different priming times in scarification (C) and non-scarification (D) condition. Linear and quadratic regressions are presented at a significant level of 5%. In figure (A and B), control (●), 0.5 $mg.l^{-1}$ (■), 1 $mg.l^{-1}$ (▲) and 1.5 $mg.l^{-1}$ (♦) KNO_3 solution and in figure (C and D), 8 hour (♦), 16 hour (■), 24 hour (▲) and 32 hour (●) of priming time are shown.

با توجه به معادله خطی، در شرایط خراش‌دهی، به ازای هر یک میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم در زمان‌های ۱۶ و ۳۲ ساعت، ۰/۶۲ و ۱/۱۷ تعداد بر روز سرعت جوانه‌زنی افزایش یافت (شکل ۲-ج). پژوهشگران در بررسی بهبود جوانه‌زنی بذر زالزالک[1] با کاربرد نیترات پتاسیم، اسید سولفوریک و لایه‌گذاری گزارش دادند که بیشترین درصد جوانه‌زنی نهایی و سرعت جوانه‌زنی در تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم دیده شد (احمدلو[2] و همکاران، ۲۰۱۶). محققین در بررسی اثرات خراش‌دهی و نیترات پتاسیم بر جوانه‌زنی بذر گیاه دریافتند که بیشترین درصد جوانه‌زنی نهایی و سرعت جوانه‌زنی در تیمار خراش‌دهی مشاهده شد (زارع و حیدری[4]، ۲۰۱۱). در بسیاری از بذرها، افزایش فعالیت جوانه‌زنی تحت تأثیر نیترات پتاسیم فقط با همراهی شرایط دیگر محیطی از قبیل خراش‌دهی امکان‌پذیر است (ستینباس و کویونکو[5]، ۲۰۰۶). نیترات پتاسیم در پاسخ به فرآیندهای متابولیکی بذرها مفید است و این ترکیب ممکن است باعث بیوسنتز اکسین شده و باعث شروع رویش جنین گردد (خان[6] و همکاران، ۱۹۹۹). پوسته به‌عنوان یک مانع فیزیکی از طریق ممانعت از گسترش رویان و یا از طریق ایجاد محدودیت در جذب آب و تبادلات گازی بر میزان جوانه‌زنی تأثیر می‌گذارد. با افزایش غلظت نیترات پتاسیم، درصد جوانه‌زنی نهایی و سرعت جوانه‌زنی که از عوامل مؤثر بر استقرار گیاهان می‌باشند به‌واسطه ضعیف شدن پوشش بذری و کاهش استحکام پوسته بذر و کاهش طول دوره مرحله تأخیری در طی فرآیند جوانه‌زنی افزایش می‌یابند (خان و همکاران، ۱۹۹۹). خراش‌دهی پوسته بذر با تخریب پوشش بذر و سلول‌های اسکلریدی اجازه نفوذ آب را جهت فرآیند آبگیری می‌دهد و خواب بذر ناشی از عدم نفوذ آب به پوسته را برطرف می‌کند (شریفی[7] و همکاران، ۲۰۱۳).

میانگین روزانه و متوسط زمان جوانه‌زنی

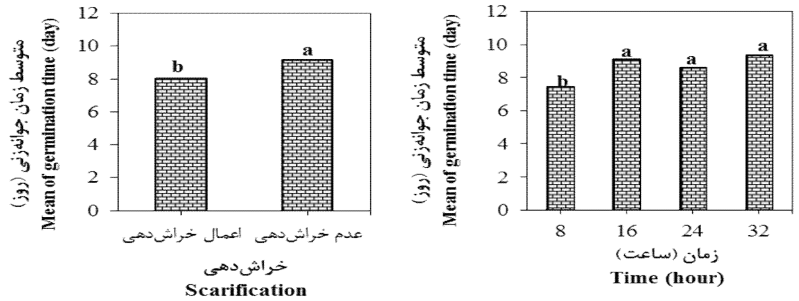
میانگین جوانه‌زنی روزانه از نظر خراش‌دهی، نیترات پتاسیم، زمان و برهمکنش‌های نیترات پتاسیم×زمان و خراش‌دهی×نیترات پتاسیم×زمان در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). همچنین، متوسط زمان جوانه‌زنی از نظر خراش‌دهی و زمان در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). در شرایط خراش‌دهی، معادلات خطی عدم کاربرد نیترات پتاسیم و غلظت یک میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم، به ازای هر ساعت به‌ترتیب کاهش ۰/۰۰۲ تعداد و افزایش ۰/۰۰۳ تعداد در متوسط جوانه‌زنی روزانه را برآورد کرد (شکل ۳-الف). معادله درجه دوم، بیشترین پاسخ میانگین جوانه‌زنی روزانه (۰/۱۸ تعداد) در غلظت نیم میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم را در زمان ۱۸ ساعت برآورد کرد (شکل ۳-الف). بیشترین میانگین جوانه‌زنی روزانه (۰/۱۵ تعداد) در غلظت یک و نیم میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم و زمان ۲۴ ساعت مشاهده شد و کم‌ترین میانگین جوانه‌زنی روزانه (۰/۰۵ تعداد) در غلظت یک و نیم میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم و زمان ۱۶ ساعت دیده شد که با عدم کاربرد نیترات پتاسیم و زمان ۸ ساعت و غلظت یک میلی‌گرم بر لیتر و ۲۴ ساعت و زمان ۲۴ ساعت تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۳-ب و ۳-د). نتایج مقایسه میانگین از نظر خراش‌دهی و زمان نشان داد که بیشترین متوسط زمان جوانه‌زنی در شرایط عدم خراش‌دهی (۹/۱۳ روز) بوده و با اعمال خراش‌دهی متوسط زمان جوانه‌زنی (۸/۰۴ روز) کاهش یافت. همچنین، بیشترین متوسط زمان جوانه‌زنی (۹/۳۵ روز) در زمان ۳۲ ساعت پیش‌تیمار نیترات پتاسیم مشاهده شد که با زمان‌های ۲۴ و ۱۶ ساعت تفاوت معنی‌داری نداشت و با کاهش مدت زمان پیش‌تیمار به ۸ ساعت متوسط زمان جوانه‌زنی (۷/۳۹ روز) کاهش یافت (شکل ۴). پژوهشگران با بررسی اثر جیبرلین، نیترات پتاسیم، نور و خراش مکانیکی بر جوانه‌زنی بذر گیاه دارویی تاتوره[8] دریافتند که بیشترین میانگین جوانه‌زنی روزانه و و کم‌ترین میانگین زمان جوانه‌زنی در غلظت ۱۰۰ ppm جیبرلین و ۵۰۰ ppm نیترات پتاسیم بود. همچنین با افزایش غلظت نیترات پتاسیم تا ۵۰۰ ppm میانگین

[1] *Crataegus pseudoheterophylla* Pojark.
[2] Ahmadloo
[3] *Acacia nilotica*
[4] Zare and Heidari
[5] Çetinbaş and Koyuncu
[6] Khan
[7] Sharifi
[8] *Datura stramonium* L.



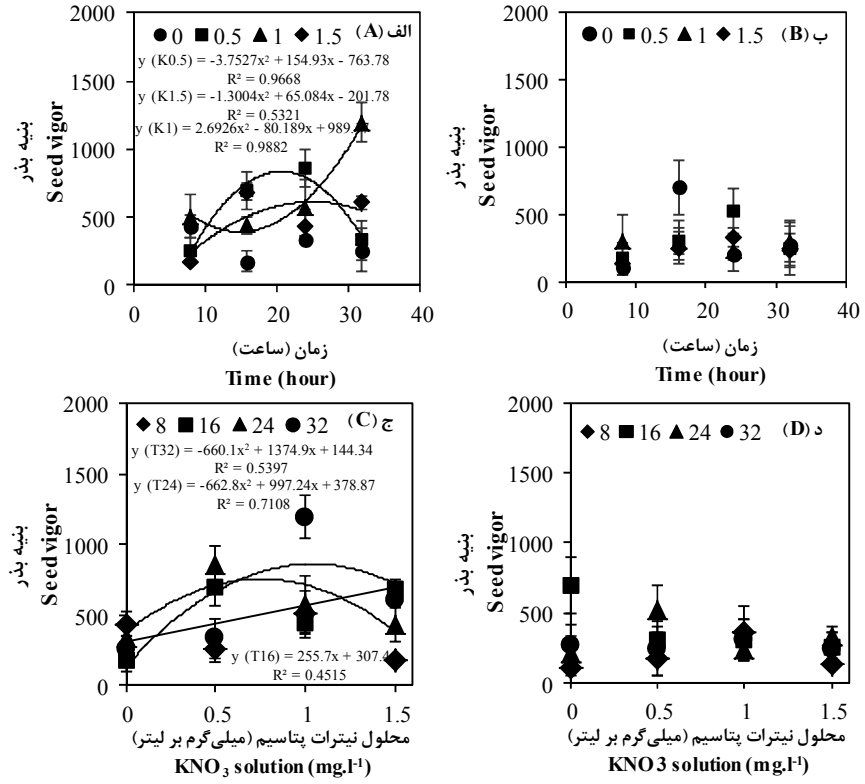
شکل ۳. میانگین جوانه‌زنی روزانه پنیرباد در زمان‌های مختلف پرایمینگ برش داده شده برای هر غلظت از محلول نیترات پتاسیم در شرایط خراش‌دهی (الف) و عدم خراش‌دهی (ب) و تحت‌تأثیر غلظت‌های مختلف نیترات پتاسیم برش داده شده در هر زمان پرایمینگ در شرایط خراش‌دهی (ج) و عدم خراش‌دهی (د). رگرسیون‌های خطی و درجه دوم بر اساس معنی‌داری در سطح ۵ درصد ارائه شده‌اند. خط‌های عمودی نشان دهنده خطای معیار می‌باشند. در شکل الف و ب، شاهد (●)، ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر (■)، ۱ میلی‌گرم بر لیتر (▲) و ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر (♦) محلول نیترات پتاسیم و در شکل ج و د، ۸ ساعت (●)، ۱۶ ساعت (■)، ۲۴ ساعت (▲) و ۳۲ ساعت (♦) زمان پرایمینگ، نمایش داده شده است.

Fig. 3. Mean of daily germination of Indian Cheese Maker in different priming times, sliced at different concentration of KNO_3 in scarification (A) and non-scarification (B) condition, and affected by different concentration of KNO_3, sliced at different priming times in scarification (C) and non-scarification (D) condition. Linear and quadratic regressions are presented at a significant level of 5%. In figure (A and B), control (●), 0.5 $mg.l^{-1}$ (■), 1 $mg.l^{-1}$ (▲) and 1.5 $mg.l^{-1}$ (♦) KNO_3 solution and in figure (C and D), 8 hour (♦), 16 hour (■), 24 hour (▲) and 32 hour (●) of priming time are shown.



شکل ۴. اثرات اصلی خراش‌دهی و زمان بر متوسط زمان جوانه‌زنی

Fig. 4. Main effect of scarification and time on mean of germination time



شکل ۵. بنیه بذر پنیرباد در زمان‌های مختلف پرایمینگ برش داده شده برای غلظت‌های محلول نیترات پتاسیم در شرایط خراش‌دهی (الف) و عدم خراش‌دهی (ب) و تحت‌تأثیر غلظت‌های مختلف نیترات پتاسیم برش داده شده در زمان‌های مختلف پرایمینگ در شرایط خراش‌دهی (ج) و عدم خراش‌دهی (د). رگرسیون‌های خطی و درجه دوم بر اساس معنی‌داری در سطح ۵ درصد ارائه شده‌اند. خط‌های عمودی نشان دهنده خطای معیار می‌باشند. در شکل الف و ب، شاهد (●)، ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر (■)، ۱ میلی‌گرم بر لیتر (▲) و ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر (♦) محلول نیترات پتاسیم و در شکل ج و د، ۸ ساعت (●)، ۱۶ ساعت (■)، ۲۴ ساعت (▲) و ۳۲ ساعت (♦) زمان پرایمینگ، نمایش داده شده است.

Fig. 5. Seed vigor of Indian Cheese Maker in different priming times, sliced at different concentration of KNO_3 in scarification (A) and non-scarification (B) condition, and affected by different concentration of KNO_3, sliced at different priming times in scarification (C) and non-scarification (D) condition. Linear and quadratic regressions are presented at a significant level of 5%. In figure (A and B), control (●), 0.5 $mg.l^{-1}$ (■), 1 $mg.l^{-1}$ (▲) and 1.5 $mg.l^{-1}$ (♦) KNO_3 solution and in figure (C and D), 8 hour (♦), 16 hour (■), 24 hour (▲) and 32 hour (●) of priming time are shown.

جوانه‌زنی روزانه افزایش یافت و از میانگین زمان جوانه‌زنی کاسته شد (بخت‌آور و ملکی فراهانی[1]، ۲۰۱۴). تحقیقات نشان داده است که ترکیبات نیترات با تأثیر بر غشای سلولی، بر فرآیندهای فیزیولوژیکی دانه تأثیر گذاشته و دانه‌هایی که دارای منابع کافی از ترکیبات نیتروژن محلول باشند می‌توانند در شرایط مناسب دارای بالاترین متوسط جوانه‌زنی روزانه و پایین‌ترین متوسط زمان جوانه‌زنی باشند (قاسمی پیربلوطی[2] و همکاران، ۲۰۰۷).

محققین معتقدند که با افزایش زمان قرارگیری بذرها در غلظت‌های نیترات پتاسیم، صفات مربوط به جوانه‌زنی افزایش می‌یابد؛ اما شایان ذکر است که مدت زمان زیاد نیز به‌دلیل نفوذ نیترات پتاسیم به ساختار درونی بذر و تماس جوانه‌ها و سایر بافت‌های بذر با نیترات پتاسیم، سبب افزایش گیاهچه‌های غیرطبیعی

[1] Bakhtavar and Maleki-Farahani

[2] Ghasemi Pirbalouti

می‌شود، زیرا که طویلی[1] و همکاران (۲۰۱۰) در تحقیقات خود نشان دادند که خراش‌دهی با کاغذ سمباده سبب شده رویان بذرها در معرض نفوذ مستقیم نیترات پتاسیم قرار گیرد و نفوذ نیترات پتاسیم به بافت‌های داخلی سبب آسیب دیدن رویان و کاهش پارامترهای جوانه‌زنی می‌گردد.

بنیه بذر

تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از آن است که بنیه بذر از نظر خراش‌دهی، زمان و برهمکنش‌های نیترات پتاسیم × زمان و خراش‌دهی × نیترات پتاسیم × زمان در سطح احتمال یک درصد و از نظر نیترات پتاسیم و برهمکنش خراش‌دهی × نیترات پتاسیم در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

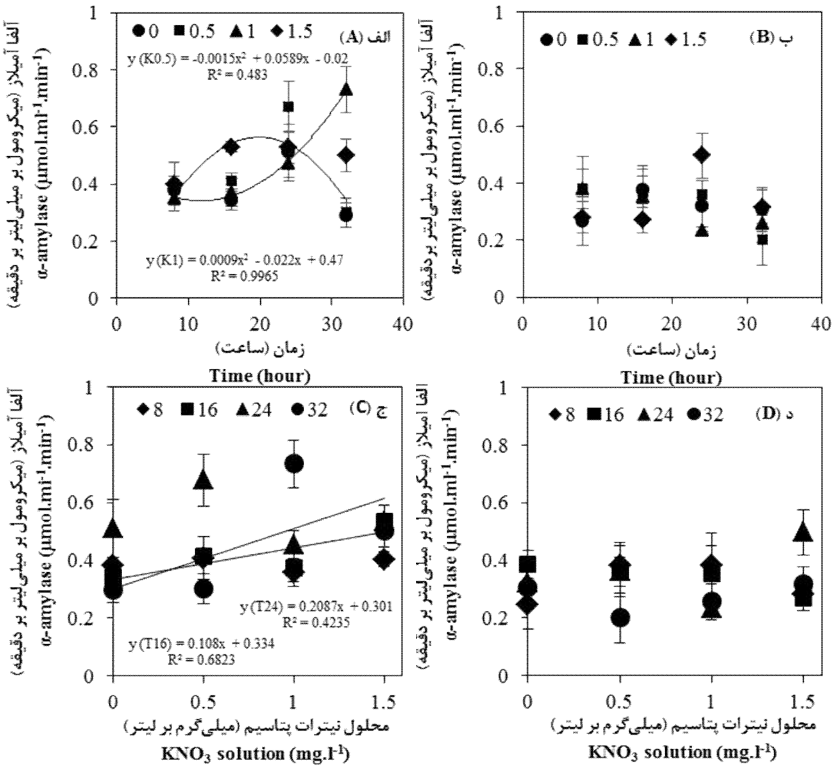
پاسخ بنیه بذر به خراش‌دهی و غلظت‌های نیم، یک و یک و نیم میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم را می‌توان با استفاده از معادلات درجه دوم بیان کرد که بیشترین بنیه بذر را به‌ترتیب در غلظت‌های نیم و یک و نیم میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم در زمان‌های ۲۰ ساعت (۸۳۵/۲۸) و ۲۵ ساعت (۶۱۲/۵۷) و کم‌ترین بنیه بذر (۳۹۲/۱۳) را برای غلظت یک میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم در زمان ۱۴ ساعت تخمین می‌زند (شکل ۵-الف). در شرایط عدم خراش‌دهی، بیشترین بنیه بذر (۷۰۰/۷) در عدم کاربرد نیترات پتاسیم و زمان ۱۶ ساعت و کم‌ترین بنیه بذر (۱۰۹/۸) در عدم کاربرد نیترات پتاسیم و زمان ۸ ساعت دیده شد که با غلظت یک و نیم میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم و زمان ۸ ساعت تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۵-ب و ۵-د). پژوهشگران در بررسی شکست خواب بذر مشگک[2] تحت تیمارهای مختلف اعلام کردند که بنیه بذر تحت تأثیر عوامل محیطی و شرایط نگه‌داری بذرها قرار داشته و بالاترین شاخص بنیه بذر مربوط به تیمارهای نیترات پتاسیم بود که بهبود شاخص بنیه بذر را می‌توان به بهبود درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه نسبت داد (قوام[3] و همکاران، ۲۰۱۸). افزایش شاخص بنیه بذر را می‌توان با بهبود سازوکار ترمیم ژنتیکی ناشی از نیترات پتاسیم و یا افزایش سنتز RNA، DNA و پروتئین و همچنین، تحریک تولید متابولیت‌های لازم برای جوانه‌زنی مرتبط دانست (فاروق[4] و همکاران، ۲۰۰۵). پژوهشگران در بررسی اثر تیمارهای مختلف در شکست خواب و تحریک جوانه‌زنی بذرهای یونجه زرد گزارش دادند که واکنش بنیه بذر به غلظت‌های نیترات پتاسیم غیر معنی‌دار بوده است (محمودزاده[5] و همکاران، ۲۰۰۳). به‌طور کلی، این‌گونه واکنش به غلظت‌ها و زمان‌های مختلف پیش‌تیمار نیترات پتاسیم به حساسیت بذر گیاهان و اثر مخرب آن‌ها بر ساختار جنین در غلظت‌ها و زمان‌های بالا نسبت داده شده است (درکان و کارسن[6]، ۱۹۹۳؛ فاروق و همکاران، ۲۰۰۳). پژوهشگران در بررسی اثر تیمارهای مختلف در شکست خواب و تحریک جوانه‌زنی بذر گیاه آمودندرون[7] گزارش دادند که واکنش بنیه بذر به غلظت‌های نیترات پتاسیم به‌همراه خراش‌دهی با کاغذ سمباده به‌شدت افزایشی بوده است (طویلی و همکاران، ۲۰۱۰). اساساً تأثیر خراش‌دهی فیزیکی پوسته بذر در بین گونه‌های گیاهی متفاوت است و می‌تواند از طریق کاهش محدودیت فیزیکی رشد جنین، تسهیل در تبادل گازی جنین، از دست رفتن بازدارنده‌های رشد جنین مؤثر باشد (بولی[8] و همکاران، ۲۰۱۳).

فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز

با توجه به جدول ۱ می‌توان دریافت که فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز از نظر خراش‌دهی و برهمکنش‌های نیترات پتاسیم × زمان و خراش‌دهی × نیترات پتاسیم × زمان در سطح احتمال یک درصد و از نظر زمان در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). با توجه به معادلات درجه دوم، در شرایط خراش‌دهی و غلظت‌های نیم و یک میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم، بیشترین (۱/۷۱ میکرومول بر میلی‌لیتر بر دقیقه) و کم‌ترین (۰/۳۳ میکرومول بر میلی‌لیتر بر دقیقه) فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز به‌ترتیب در زمان‌های ۱۹ و ۱۲ ساعت برآورد شد (شکل ۶-الف). در شرایط

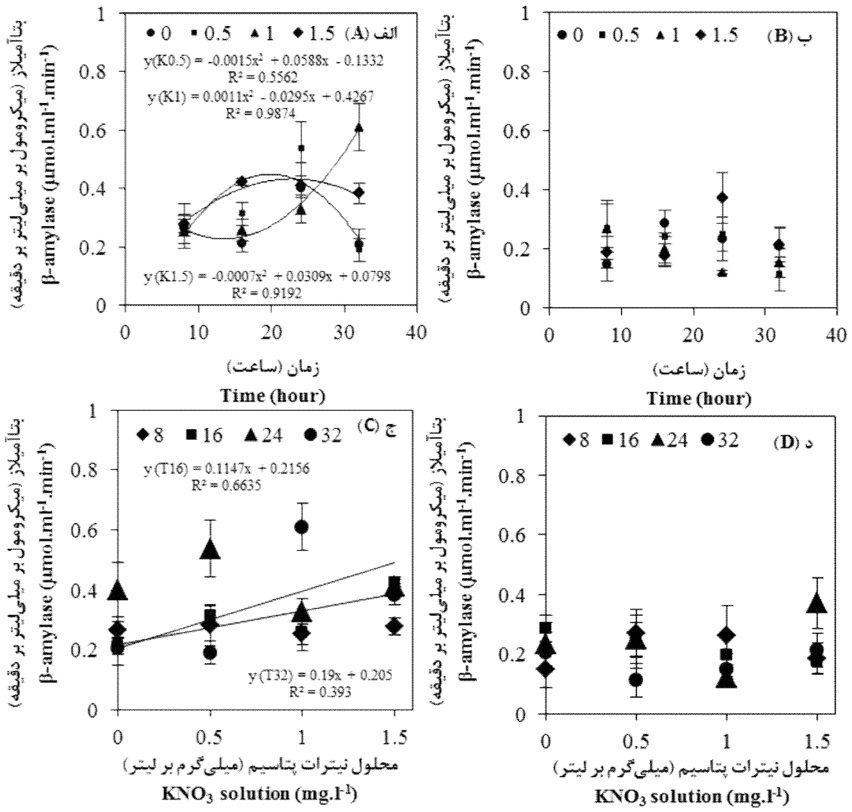
[1] Tavili
[2] *Ducrosia anethifolia* Boiss
[3] Ghavam
[4] Farooq
[5] Mahmoodzadeh
[6] Derkan and Karssen
[7] *Ammodendron persicum*
[8] Bewley

عدم خراش‌دهی، بیشترین فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز (۰/۴۹ میکرومول بر میلی‌لیتر بر دقیقه) در غلظت یک و نیم میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم و زمان ۲۴ ساعت مشاهده شد (شکل ۶-ب و ۶-د). کم‌ترین فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز (۰/۲ میکرومول بر میلی‌لیتر بر دقیقه) در غلظت نیم میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم و زمان ۳۲ ساعت دیده شد که با غلظت یک میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم و زمان‌های ۳۲ و ۲۴ ساعت تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۶-ب و ۶-د). با توجه به معادلات خطی، در شرایط خراش‌دهی، در زمان‌های ۱۶ و ۲۴ ساعت به ازای هر یک میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز به‌ترتیب ۰/۲۱ و ۰/۱۱ میکرومول بر میلی‌لیتر بر دقیقه افزایش یافت (شکل ۶-ج). پاسخ فعالیت آنزیم بتا آمیلاز به خراش‌دهی و غلظت‌های نیم، یک و یک و نیم میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم را می‌توان با استفاده از معادلات درجه دوم بیان کرد که بیشترین فعالیت آنزیم بتا آمیلاز را به‌ترتیب در غلظت‌های نیم (۰/۷۵ میکرومول بر میلی‌لیتر بر دقیقه) و یک و نیم (۰/۴۲ میکرومول بر میلی‌لیتر بر دقیقه) میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم در زمان‌های ۱۹ و ۲۲ ساعت برآورد کرد (شکل ۷-الف).



شکل ۶. فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز پنیرباد در زمان‌های مختلف پرایمینگ برش داده شده برای هر غلظت از محلول نیترات پتاسیم در شرایط خراش‌دهی (الف) و عدم خراش‌دهی (ب) و تحت‌تأثیر غلظت‌های مختلف نیترات پتاسیم برش داده شده در هر زمان پرایمینگ در شرایط خراش‌دهی (ج) و عدم خراش‌دهی (د). رگرسیون‌های خطی و درجه دوم بر اساس معنی‌داری در سطح ۵ درصد ارائه شده‌اند. خط‌های عمودی نشان دهنده خطای معیار می‌باشند. در شکل الف و ب، شاهد (●)، ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر (■)، ۱ میلی‌گرم بر لیتر (▲) و ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر (♦) محلول نیترات پتاسیم و در شکل ج و د، ۸ ساعت (●)، ۱۶ ساعت (■)، ۲۴ ساعت (▲) و ۳۲ ساعت (♦) زمان پرایمینگ، نمایش داده شده است.

Fig. 6. α-amylase activity of Indian Cheese Maker in different priming times, sliced at different concentration of KNO_3 in scarification (A) and non-scarification (B) condition, and affected by different concentration of KNO_3, sliced at different priming times in scarification (C) and non-scarification (D) condition. Linear and quadratic regressions are presented at a significant level of 5%. In figure (A and B), control (●), 0.5 $mg.l^{-1}$ (■), 1 $mg.l^{-1}$ (▲) and 1.5 $mg.l^{-1}$ (♦) KNO_3 solution and in figure (C and D), 8 hour (♦), 16 hour (■), 24 hour (▲) and 32 hour (●) of priming time are shown.



شکل ۷. فعالیت آنزیم بتا آمیلاز پنیرباد در زمان‌های مختلف پرایمینگ برش داده شده برای غلظت‌های مختلف محلول نیترات پتاسیم در شرایط خراش‌دهی (الف) و عدم خراش‌دهی (ب) و تحت‌تأثیر غلظت‌های مختلف نیترات پتاسیم برش داده شده در زمان‌های پرایمینگ در شرایط خراش‌دهی (ج) و عدم خراش‌دهی (د). رگرسیون‌های خطی و درجه دوم بر اساس معنی‌داری در سطح ۵ درصد ارائه شده‌اند. خط‌های عمودی نشان دهنده خطای معیار می‌باشند. در شکل الف و ب، شاهد (●)، ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر (■)، ۱ میلی‌گرم بر لیتر (▲) و ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر (♦) محلول نیترات پتاسیم و در شکل ج و د، ۸ ساعت (●)، ۱۶ ساعت (■)، ۲۴ ساعت (▲) و ۳۲ ساعت (♦) زمان پرایمینگ، نمایش داده شده است.

Fig. 7. . β-amylase activity of Indian Cheese Maker in different priming times, sliced at different concentration of KNO_3 in scarification (A) and non-scarification (B) condition, and affected by different concentration of KNO_3, sliced at different priming times in scarification (C) and non-scarification (D) condition. Linear and quadratic regressions are presented at a significant level of 5%. In figure (A and B), control (●), 0.5 $mg.l^{-1}$ (■), 1 $mg.l^{-1}$ (▲) and 1.5 $mg.l^{-1}$ (♦) KNO_3 solution and in figure (C and D), 8 hour (♦), 16 hour (■), 24 hour (▲) and 32 hour (●) of priming time are shown.

کم‌ترین فعالیت آنزیم بتا آمیلاز (۰/۲۲ میکرومول بر میلی‌لیتر بر دقیقه) را برای غلظت یک میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم در زمان ۱۳ ساعت برآورد کرد (شکل ۷-الف). در شرایط عدم خراش‌دهی، بیشترین فعالیت آنزیم بتا آمیلاز (۰/۳۷ میکرومول بر میلی‌لیتر بر دقیقه) در غلظت یک و نیم میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم و زمان ۲۴ ساعت و کم‌ترین فعالیت آنزیم بتا آمیلاز (۰/۱۱۳۳ میکرومول بر میلی‌لیتر بر دقیقه) در غلظت نیم میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم و زمان ۳۲ ساعت دیده شد که با غلظت یک میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم و زمان‌های ۲۴ و ۳۲ ساعت تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۷-ب و ۷-د).

با توجه به معادلات خطی، در شرایط خراش‌دهی، در زمان‌های ۱۶ و ۳۲ ساعت به ازای هر یک میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم فعالیت آنزیم بتا آمیلاز به‌ترتیب ۰/۱۱ و ۰/۱۹ میکرومول بر میلی‌لیتر بر دقیقه افزایش یافت (شکل ۶-ج). پژوهشگران با بررسی اثر آنیون‌ها و کاتیون‌ها بر فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز دریافتند که بیشترین فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز تحت‌تأثیر

غلظت‌های سولفات منیزیم و نیترات پتاسیم بود (جها[1] و همکاران، ۲۰۱۳). تحقیقات در زمینه بررسی اثرات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی پیش‌تیمار پیش از کشت در برنج نشان داد که فعالیت آنزیم‌های آمیلاز طی ۲۴ ساعت نسبت به ۴۸ ساعت روند افزایشی به‌خود گرفته است. پژوهشگران این بهبود فعالیت آنزیم‌های آمیلاز را با بهبود جذب آب توسط بذر در طی آبنوشی و افزایش محتوای قندهای محلول بذر مرتبط دانسته‌اند (بسرا[2] و همکاران، ۲۰۰۵). محققین همچنین، اثر سمیت نیترات پتاسیم را با افزایش مدت زمان پیش‌تیمار گزارش نموده‌اند (بسرا[2] و همکاران، ۲۰۰۳ و ۲۰۰۵). این محققین کاهش فعالیت آنزیم‌های آمیلاز طی ۴۸ ساعت پیش‌تیمار نیترات پتاسیم را با ایجاد سمیت نیترات پتاسیم مرتبط دانسته که منجر به آسیب اندامک‌ها و غشاهای درون سلولی شده است (بسرا و همکاران، ۲۰۰۵). سایر پژوهشگران نیز افزایش فعالیت آنزیم‌های آمیلاز را با افزایش غلظت نیترات پتاسیم گزارش دادند و علت آن را با نقش پرایم‌کنندگی نمک نیترات پتاسیم برای افزایش فعالیت آنزیم‌های آمیلاز و کمک به تولید متابولیت‌های مورد نیاز بذر طی دوره جوانه‌زنی مرتبط دانسته‌اند (لی و کیم[3]، ۲۰۰۲؛ نواز[4] و همکاران، ۲۰۱۱). ۲۰۱۱). احمدلو و همکاران (۲۰۱۶) و شریفی و همکاران (۲۰۱۶) دریافتند، با توجه به این که تیمار خراش‌دهی مکانیکی تأثیر مثبتی بر بهبود جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز داشت، بنابراین می‌توان بیان نمود که احتمالاً پایین بودن فعالیت آنزیم‌های آمیلاز در حالت طبیعی با عوامل فیزیکی مرتبط بوده و عاملی که باعث عدم جوانه‌زنی مطلوب و کاهش فعالیت آنزیم‌های آمیلاز در بذر می‌شود، بخشی از آن به مقاومت مکانیکی پوسته بذر مرتبط است. افزایش فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز توسط خراش‌دهی مکانیکی نیز تأیید کننده این مطلب است که بذر این گونه‌ها دارای خواب فیزیکی از نوع پوسته سخت بوده و خراش‌دهی مکانیکی می‌تواند با رفع محدودیت فیزیکی رشد جنین، افزایش در تبادل گازی جنین و کاهش بازدارنده‌های رشد جنین باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی و بهبود تبدیل نشاسته به قند به‌عنوان یک منبع غذایی برای رشد جنین گردد.

نتیجه‌گیری

در مجموع نتایج این پژوهش نشان داد که درصد جوانه‌زنی نهایی و سرعت جوانه‌زنی با افزایش غلظت نیترات پتاسیم و استفاده از خراش‌دهی مکانیکی روند افزایشی داشته لیکن در غلظت‌های بالا این روند کاهشی بوده است. فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی آلفا و بتا آمیلاز تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نیترات پتاسیم و خراش‌دهی قرار گرفت و در غلظت‌های نیم و یک میلی‌گرم بر لیتر نیترات پتاسیم بر میزان فعالیت این آنزیم‌ها افزوده شده است. افزایش زمان پیش‌تیمار و غلظت‌های بالای نیترات پتاسیم نیز موجب کاهش بنیه بذر پنیرباد شده است. خراش‌دهی بذر به‌عنوان یک روش خوب و مفید به همراه استفاده از غلظت‌های پایین نیترات پتاسیم در زمان‌های ۱۶ الی ۲۴ ساعت برای شکست خواب بذر گیاه پنیرباد توصیه می‌گردد.

[1] Jha
[2] Basra
[3] Lee and Kim
[4] Nawaz

منابع

Agrawal, R. 2003. Seed technology. Pub. Co. PVT. LTD, New Delhi, India, 829p.

Ahmadloo, F., Tabari Kouchaksaraei, M., Azadi, P. and Hamidi, A. 2016. Improving germination of Hawthorn (*Crataegus pseudoheterophylla* Pojark.) seed by potassium nitrate, sulfuric acid and stratification. Journal of Plant Research, 29(2): 254-263. [In Persian with English Summary].

Bakhtavar, Z. and Maleki Farahani, S. 2014. Effect of gibberellin, potassium nitrate, light and mechanical abrasion Brjvanh germination of medicinal plant Datura (*Datura stramonium* L.). 1st International and 13th Iranian Crop Science Congress and 3rd Iranian Seed Science and Technology Conference. Seed and Plant Improvement Institute Karaj, Iran, August 24-26, 1-5. [In Persian with English Summary].

Barakat, N.A.M., Kabeil, H.F., Hegazy, A.K. and Singer, N.S. 2013. Synergetic action of light and temperature on seed germination of some solanaceae members. Journal of Stress Physiology and Biochemistry, 9(4): 85-100.

Barbour, M.G. 1968. Germination requirements of the desert shrub *Larrea divaricata*. Ecology, 49(5): 915-923. https://doi.org/10.2307/1936543

Basra, S.M.A., Farooq, M. and Khaliq, A. 2003. Comparative study of pre-sowing seed enhancement treatments in fine rice (*Oryza sativa* L.). Pakistan Journal of Life and Social Sciences, 1(1): 5-9.

Basra, S.M.A., Farooq, M., Tabassam, R., and Ahmad, N. 2005. Physiological and biochemical aspects of pre-sowing seed treatments in fine rice (*Oryza sativa* L.). Seed Science and Technology, 33: 623-628. https://doi.org/10.15258/sst.2005.33.3.09

Bernfeld, P. 1970. Amylase a and b, in methods in Enzymology, I. (Colowick, S. and Kaplan, N., eds.). Academic Press, NY, 149p.

Bewley, J.D., Bradford, K.J., Hilhorst, H.W.M. and Nonogaki, H. 2013. Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy. Springer, New York-Heidelberg Dordrecht London, 392p.

Çetinbaş, M., and Koyuncu, F. 2006. Improving germination of *Prunus avium* L. seeds by gibberellic acid, potassium nitrate and thiourea. Horticultural Science (Prague), 33(3): 119-123. https://doi.org/10.17221/3750-HORTSCI

Derkan, M.P.M. and Karssen, C.M. 1993. Effect of light and temperature on seed dormancy and gibberellins stimulated germination in Arabidopsis thaliana: studies with gibberellins-deficient and in sensitive mutants. Plant Physiology, 89: 360-368. https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1993.890218.x

Farooq, M., Basra, S.M.A. and Hafeez, K. 2006. Seed invigoration by osmohardening in coarse and fine rice. S. Science and Technology, 34(1): 181-187. https://doi.org/10.15258/sst.2006.34.1.19

Ghanbari, M. and Karamnia, S. 2016. Evaluation of the seed aging effect on some characteristics of bean germination (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces of Guilan province under salinity stress conditions. The 6th Iranian Pulse Crops Symposium, 4May, Khoram-abad. [In Persian Summary].

Ghanbari, M., Mansour Ghanaei Pashaki, K., Safaei Abdolmanaf, S., and Aziz Ali-abadi, K. 2016. Effect of salt stress and hydropriming on germination characteristics of Mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). Iranian Journal of Pulses Research, 7(1): 65-80. [In Persian with English Summary].

Ghasemi Pirbalouti, A., Golparvar, A.R., Riyahi Dehkordi, M. and Navid, A. 2007. The effect of different treatments on seeds dormancy and germination of five species of medicinal plants

of Chahar Mahal & Bakhteyari province. Pajouhesh & Sazandegi, 74: 185-192. [In Persian with English Summary].

Ghavam, M., Soleimani Nejad, Z. and Tavili, A. 2018. Dormancy breaking of *Ducrosia anethifolia* Boiss seed under different treatment. Journal of Cell-Molecular Biotechnology up-to-date, 30(8): 35-44. [In Persian Summary].

Gupta, P. 2012. Withania coagulans, an overview. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 12(2): 68-71.

Hamidi, A., Roodi, D., Asgari, V. and Hajiloo, S. 2008. Study on applicability of controlled deterioration vigor test for evaluation of seed vigour and field performance relationship of three oil-seed rape (*Brassica napus* L.) cultivars. Seed and Plant Improvement Journal, 24(4): 677-706. [In Persian with English Summary].

Hartmann, H.T., Kester, D.E., Devies, F.T. and Geneve, R.L. 2007. Plant Propagation Principles and Practices. Prentice Hall of India Pvt, Ltd, New Delhi, 528p.

Hunter, E.A., Glasbey, C.A. and Naylor, R.E.L. 1984. The analysis of data from germination tests. Journal of Agricultural Science, Cambridge, 102(1): 207-213. https://doi.org/10.1017/S0021859600041642

Jain, S., Shukla, S.D., Sharma, K. and Bhatnagar, M. 2001. Neuroprotective effects of Withania somnifera Dunn. In hippocampal sub-regions of female albino rat. Phytotherapy Research, 15(6): 544-548. https://doi.org/10.1002/ptr.802

Jha, S., Rai, H., Chattopadhyay, R., Kaur, V.P., Indupriya, M., and Shanti, V. 2013. Effect of metal ions on amylase production. Recent Research in Science and Technology, 5(2): 52-53.

Joshi, A.G. and Padhya, M.A. 2010. Shoot regeneration from leaf explants of *Withania somnifera* (L.) Dunal. Notulae Scientia Biologicae, 2(1): 63-65. https://doi.org/10.15835/nsb213609

Kambizi, L., Adebola, P.O. and Afolayan, A.G. 2006. Effects of temperature, pre-chilling and light on seed germination of *Withania somnifera*; a high value medicinal plant. South African Journal of Botany, 72(1): 11-14. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2005.03.001

Khan, J., Rauf, M., Ali, Z., Rashid, H. and Khattack, M.S. 1999. Different stratification techniques effects on seed germination of Pistachio. Pakistan Journal of Biological Sciences, 2: 1412-1414. https://doi.org/10.3923/pjbs.1999.1412.1414

Kumar, A., Kaul, M.K., Bhan, M.K., Punit, K., Khanna, K. and Suri, A. 2007. Morphological and chemical variation in 25 collections of the Indian medicinal plant, *Withania somnifera* L. *Dunal Solanaceae*. Genetic Resources Crop Environmental, 54(3): 655-660. https://doi.org/10.1007/s10722-006-9129-x

Lee, S.S. and Kim, J.H. 2000. Total sugars, α-amylase activity and germination after priming of normal and aged rice seeds. Korean Journal of Crop Science, 45(2): 108-111.

Lyaruu, H.V.M. 2008. Seed longevity of dominant plant species from degraded savanna in semi-arid Tanzania. Tanzania Journal Science, 34: 11-20. https://doi.org/10.4314/tjs.v34i1.44283

Mahmoodzadeh, A., Nojavan, M. and Bagheri, Z. 2003. Effects of treatments on dormancy and germination of *Melilotus officinalis* L. seeds. Journal of Agricultural Science and Natural Resource, 10(1): 55-64. [In Persian with English Summary].

Mirjalili, M.H,. Moyano, E., Bonfill, M., Cusido, R.M. and Palazon, J. 2009. Steroidal lactones from *Withania somnifera*, an ancient plant for novel medicine. Molecules Journal, 14(7): 2373-2393. https://doi.org/10.3390/molecules14072373

Mohan, K.K., Reddy, A.R., Sharma, S. and Jyotsna, B. 2012. Effect of physical and chemical treatments on dormancy breaking, germination and vigor of certain medicinal plants. Journal of Pharmacognosy, 3(2): 71-72.

Nathiya, S., Pradeepa, D., Devasena, T. and Senthil, K. 2013. Studies on the effect of sucrose, light and hormons on micropropagation and in vitro flowering of *Withania somnifera* Var. JAWAHAR-20. The Journal of Animal & Plant Sciences, 23(5): 1391-1397.

Nawaz, A., Amjad, M., Aslam Pervez, M. and Afzal, I. 2011. Effect of halopriming on germination and seedling vigor of tomato. African Journal of Agricultural Research, 6(15): 3551-3559.

Niyaz, A. and Siddiqui, E.N. 2014. Seed germination of *Withania somnifera* (L.) Dunal. European Journal of Medicinal Plants, 4(8): 920-926. https://doi.org/10.9734/EJMP/2014/8916

Pramanick, D.L. and Srivastava, S.K. 2015. Pharmacognostic evaluation of *Withania coagulans* Dunal (Solanaceae) - an important ethnomedicinal plant. Bioscience Discovery, 6(1): 6-13.

Rout, J., Sahoo, S.L. and Das, R. 2011. An attempt to conserve *Withania somnifera* L. Dual- A highly essential medicinal plant, through in Vitro callus culture. Pakistan Journal of Botany, 434: 1837-1842.

Shanmugaratnam, S., Mikunthan, G. and Thurairatnam, S. 2013. Potential of *Withania somnifera* Dunal cultivation as a medicinal crop in Jaffna district. American-Eurasian Journal Agriculture and Environment Science, 13(3): 357-361.

Sharifi, H., Khajeh Hosseini, M. and Rashed Mohassel, M.H. 2016. Effect of mechanical scarification on dormancy breaking and improved seed germination of 12 medicinal plant species. Journal of Seed Research, 18(6): 11-18. [In Persian Summary].

Soltani, A., Galashi, S., Zeinali, E. and Latifi, N. 2001. Genetic variation for and interrelationships among seed vigor traits in wheat from the Caspian Sea Coast of Iran. Seed Science and Technology, 29(3): 653-662.

Tavili, A., Zare, S. and Yari, R. 2010. Effect of different treatments on seed dormancy breaking and germination stimulation of *Ammodendron persicum*. Iranian Journal of Range and Desert Research, 17(3): 466-475. [In Persian with English Summary].

Thakur, N.S., Verma, K.S. and Rana, R.C. 2014. Growth and yield performance of ashwagandha (*Withania somnifera*) under agroforestry. Indian Journal of Agricultural Sciences, 84(8): 937-941.

The Herb Society of America (HSA). 2009. Promising Plant Profile. *Withania somnifera*.

Zare, M. and Heydari, M. 2012. The effect of scarification and potassium nitrate on seed germination of Acasia (*Acacia nilotica*). 2th National Conference on Seed Science and Technology, Islamic Azad University of Mashhad. [In Persian Summary].

Iranian Journal of Seed Research, 2021, 8(1): 73-89

Research Article

Assessment of Germination Characteristics and α and β Amylase Activity of Indian Cheese Maker (*Withania coagulans*) Seed in Response to Scarification and Potassium Nitrate

Majid Ghanbari [1], Seyed Ali Mohammad Modarres-Sanavy [2, *], Ali Mokhtassi-Bidgoli [2]

Extended Abstract

Introduction: Medicinal herbs are of particular importance in the treatment and prevention of diseases. Indian Cheese Maker has strengthening, liver repair, anti-inflammatory properties and is useful in the treatment of bronchitis, asthma, wounds, neurological disorders such as Parkinson's and Alzheimer's. Evaluation of seed quality as a propagating organ and the most important input for crop production and medicinal products has a special place in seed production, control and certification. Studying germination and biological properties of seeds of medicinal plants and methods of breaking dormancy in them are among basic and primary studies of domestication of medicinal plants. In the meantime, scrubbing with abrasives changes the integrity of the seed shell and allows the seeds to be permeable to water and gases. The researchers stated that the dormancy of seeds containing inhibitory metabolic materials can be reduced by removing the seed shell through mechanical scarification and osmopriming. For this purpose, the effect of scarification and potassium nitrate on germination and enzymatic properties of Indian Cheese Maker was evaluated.

Material and Method: This study was conducted as factorial based on a completely randomized design with three replications during 2015-16 at the laboratory of Department of Agronomy, Tarbiat Modares University. Potassium nitrate solution (0, 0.5, 1 and 1.5 $mg.l^{-1}$ from KNO_3), scarification (un-use and scarification with soft sanding) and osmopriming durations (8, 16, 24 and 32 hour) were experimental factors. The experiment was performed on Indian Cheese Maker seeds, landrace of Khash. Petri dishes were placed in a germinator at 25 ° C and in full lighting for 14 days. In this experiment, germination rate and percentage of germination, mean of germination time and daily germination, seed vigority, alpha and beta amylase were measured.

Results: The results of the experiment showed that in scarification, the highest germination percentage (69.47%) was obtained by seed priming at a concentration of 1.5 $mg.l^{-1}$ potassium nitrate for 19 hours under abrasion. In scarification, germination rate increased at 16 and 32 hour, 0.62 and 1.17 $No.day^{-1}$ for each $mg.l^{-1}$ of potassium nitrate. The highest daily mean germination (0.15) was observed at 1.5 $mg.l^{-1}$ potassium nitrate and 24 hour time and decreased to 8 hours mean germination time (7.39 days) by reducing pretreatment time. Also, the highest mean germination time (9.35 days) was observed in 32 hours pretreatment with potassium nitrate and the highest mean germination time in non-scarification condition (9.13 days) and in scarification condition decreased with mean of germination time (8.04 days). The activity of alpha and beta-amylase germination enzymes was affected by different concentrations of potassium nitrate and scarification and at high concentrations of potassium nitrate the activity of these enzymes decreased.

Conclusions: In general, application of potassium nitrate osmopriming, by improving the activity of germination enzymes and increasing seed germination properties of Indian Cheese Maker, increased the activity of hydrolyzing enzymes in the endosperm of germinated seeds, which reduced the mean germination time, increased germination rate and germination percentage. In general, seed scarification with low concentrations of potassium nitrate at 16 to 24 hours is recommended for breaking seed dormancy of Indian Cheese Maker.

Keywords: α and β Amylase, Germination Rate, Osmopriming, Scarification, Withania

***Highlights*:**

1- Germination rate and percentage of Indian Cheese Maker seed were monitored by osmopriming and scarification.
2- The role of α and β amylase germination enzymes in accelerating dormancy breaking of Indian Cheese Maker was studied.
3- Mean time and mean daily germination during the dormancy breaking process of Indian Cheese Maker were estimated.

[1] Ph.D. Crop Physiology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
[2] Professor, Department of Agronomy, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

* Corresponding author, E-mail: modaresa@modares.ac.ir

(Received: 11.03.2020; Accepted: 25.07.2020)

http://dorl.net/dor/20.1001.1.23831251.1400.8.1.7.1

DOI: 10.52547/yujs.8.1.73