پژوهش‌های بذر ایران/ سال پنجم/ شماره اول/ ۱۳۹۷

خصوصیات جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های بذر توده‌های مختلف پنیرباد (*Withania coagulans*) در پاسخ به هیپوکلریت سدیم و پیش سرمادهی مرطوب

مجید قنبری [۱]، سید علی محمد مدرس ثانوی [۲،*]، علی مختصی بیدگلی [۳]

چکیده مبسوط

مقدمه: گیاه پنیرباد از خانواده سیب زمینی، گیاهی است علفی که در مناطقی از جمله پاکستان، افغانستان، هند و ایران رشد می‌کند. گیاه پنیرباد با دارا بودن خواص دارویی، نقش مهمی در طب سنتی ایران دارد و دارای خواص تقویت‌کنندگی، ترمیم کبد، ضدالتهاب و غیره می‌باشد. فقدان خواب یکی از ویژگی‌های مطلوب زراعی بذر می‌باشد که برای رسیدن به بالاترین میزان جوانه‌زنی، سبز شدن و استقرار گیاه ضروری به‌نظر می‌رسد. ظرفیت جوانه‌زنی بذرهای گیاهان دارویی به‌طور معمول پایین بوده که به‌دلیل وجود خواب در بذرهای این گیاهان است. به این منظور در این تحقیق تأثیر ضد عفونی کردن بذر و پیش تیمار سرمادهی مرطوب بر خصوصیات جوانه‌زنی و فعالیت‌-های آنزیمی بذر پنیرباد در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: به‌منظور بررسی تأثیر ضدعفونی کردن بذر و سرمادهی مرطوب بر ویژگی‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیمی توده‌های مختلف پنیرباد، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار طی سال‌های ۹۵-۱۳۹۴ در گروه زراعت دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل ضد عفونی کردن بذر دارای دو سطح (بدون ضدعفونی کردن و استفاده از هیپوکلریت سدیم به مدت ۳۰ دقیقه)، پیش سرمادهی مرطوب دارای دو سطح (بدون پیش سرمادهی و پیش سرمادهی مرطوب به مدت یک هفته) و چهار توده‌گیاه پنیرباد (توده‌های فنوج، خاش، سراوان و سرباز) بود). به‌منظور پیش سرمادهی مرطوب جهت فعال نمودن آنزیم‌های جوانه‌زنی، بذرها درون ظرف پوشش‌دار، روی فویل آلومینیومی منفذدار، در شرایط عدم تماس مستقیم در مجاورت آب مقطر در دمای چهار درجه سلیسیوس قرار گفتند. 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. پس از اعمال تیمارها، ظروف توسط پارافیلم پوشیده شد و پتری‌دیش‌ها در ژرمیناتور در دمای ۲۵ درجه سلیسیوس و در روشنایی کامل به مدت ۱۴ روز قرار داده شدند

یافته‌ها: نتایج آزمایش نشان داد که در توده‌های فنوج، خاش و سراوان بیشترین مقادیر درصد جوانه‌زنی نهایی، سرعت جوانه‌زنی، متوسط جوانه‌زنی روزانه و بنیه بذر در ۳۰ دقیقه ضدعفونی و یک هفته پیش سرمادهی مرطوب حاصل شد. در صورتی که توده سرباز نسبت به پیش سرمادهی مرطوب و ضد عفونی بذر روند معکوس در پیش گرفته و بیشترین مقادیر این صفات در تیمار عدم کاربرد ضدعفونی بذر و پیش سرمادهی مرطوب حاصل شد. از نظر فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی، بیشترین مقادیر آلفا و بتا آمیلاز در توده فنوج، ۳۰ دقیقه ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم و یک هفته پیش سرمادهی مرطوب دیده شد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به‌دست آمده، توده‌های فنوج، خاش و سراوان از گیاه دارویی پنیرباد نسبت به ضدعفونی کردن با هیپوکلریت سدیم به مدت ۳۰ دقیقه و پیش سرمادهی مرطوب به مدت یک هفته واکنش مثبت نشان داده و این تیمارها موجب افزایش خصوصیات و فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی شده است. توده سرباز واکنش خوبی نسبت به تیمارهای اعمال شده نداشته و از نظر خصوصیات و فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی روند نزولی به خود گرفته است که دلیل این رفتار در توده سرباز را می‌توان به بارانذگی سالانه کمتر و همچنین دمای بالاتر در مناطق تحت رویش این توده نسبت داد که موجب سخت شدن پوسته بذر و افزایش عومل بازدارنده جوانه‌زنی توده سرباز و ایجاد خواب در بذر جهت سپری کردن دوره گرم و خشک می‌گردد. به‌طور کلی، می‌توان استفاده از هیپوکلریت سدیم و پیش سرمادهی مرطوب را راهی برای شکست خواب غالب توده‌های گیاه پنیر باد توصیه نمود.

واژه‌های کلیدی: آلفا و بتا آمیلاز، استراتیفیکاسیون، توده بومی، ضدعفونی بذر، ویژگی‌های مورفولوژیک

جنبه‌های نوآوری:

۱- ارزیابی تأثیر موسیلاژ درون کپسول بر بازدارندگی جوانه‌زنی بذر پنیرباد
۲- ارزیابی روند فعال‌سازی آنزیم‌های جوانه‌زنی جهت شکست خواب بذر پنیرباد
۳- بررسی پاسخ توده‌های مختلف پنیرباد به روش‌های شکست خواب اعمال شده

---

[۱] دانشجوی دکترا، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
[۲] استاد گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
[۳] استادیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

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

DOI: 10.29252/yujs.5.1.119

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۱/۰۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۳/۳۱)

مقدمه

امروزه گیاهان دارویی، با توجه به جایگاه ویژه‌ای که در بهداشت و سلامت جامعه دارند، همواره مورد توجه مراکز علمی و تحقیقاتی هستند. غنی بودن فلور ایران و نیز فرهنگ و دانش استفاده از گیاهان دارویی از یک سو و توجه به این‌که در مکان‌های مختلف، برای استفاده از گیاهان دارویی، آداب، رسوم و روش‌های متفاوتی وجود دارد از سویی دیگر، توجه به این علم را بسیار ضروری کرده‌است (پرامانیک و سریواستاوا[1]، ۲۰۱۵). گیاه پنیرباد[2] از خانواده سیب زمینی، گیاهی علفی است 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، زابلی و حوالی زاهدان به‌شمار می‌رود. گیاه پنیرباد با دارا بودن خواص دارویی، 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).

مهم‌ترین روش تکثیر گیاه پنیرباد بذر است. بذر پنیرباد دارای ۳-۲/۵ میلی‌متر قطر، دارای لکه‌های تیره تا قهوه‌ای، بدون کرک و کپسول آن تا حدودی زاویه‌دار و دارای موسیلاژ است (گوپتا و کشاری[4]، ۲۰۱۳). 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[7]، ۲۰۱۵)، سطح زیر کشت آن حدود ۶۰ هزار هکتار و میزان تولید ریشه آن حدود ۱۵۰۰ تن در کشور هندوستان گزارش شده است (تاکور[8] و همکاران، ۲۰۱۴).

فقدان خواب یکی از ویژگی‌های مطلوب زراعی بذر بوده که برای رسیدن به بالاترین میزان جوانه‌زنی، سبز شدن و استقرار گیاه ضروری به‌نظر می‌رسد. ظرفیت جوانه‌زنی بذرهای گیاهان دارویی به‌طور معمول پایین بوده که به‌دلیل وجود خواب در بذرهای این گیاهان است (موهان[9] و همکاران، ۲۰۱۲). محققین در بررسی پتانسیل کشت گیاه بوزیدان[10] 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 به‌طورمعمول به‌دلیل وجود خواب در بذر آن پایین است (شانموگاراتنام[11] و همکاران، ۲۰۱۳). همچنین پژوهش‌گران در بررسی عمل هم‌افزایی نور و دما بر جوانه‌زنی بذرهای برخی از گونه‌های خانواده سیب‌زمینی به‌ویژه بوزیدان دریافتند که بذرهای این گیاه فتوبلاستیک بوده و هیچ‌گونه رابطه‌ای بین درصد جوانه‌زنی و دمای متناوب در این گیاه وجود ندارد (برکت[12] و همکاران، ۲۰۱۳). در این بین، لیارو[13] (۲۰۰۸) در بررسی طول عمر بذرهای گونه‌های گیاهی دارای خواب از نواحی ساوانای در حال تخریب مناطق نیمه‌خشک تانزانیا گزارش داد که گیاه بوزیدان 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.

محققین در پژوهش‌های خود به منظور شکست خواب بذر گیاهان دارویی و بهبود درصد جوانه‌زنی آن از

---

[1] Pramanick and Srivastava

[2] *Withania coagulans*

[3] Gupta

[4] Gupta and Keshari

[5] Jain

[6] Kumar

[7] Pramanick and Srivastava

[8] Thakur

[9] Mohan

[10] *Withania somnifera*

[11] Shanmugaratnam

[12] Barakat

[13] Lyaruu

کاربرد تیمار شیمیایی پیش از جوانه‌زنی و تنظیم شرایط محیط جوانه‌زنی گیاه بهره برده‌اند (نیاز و سیدیکویی[1]، ۲۰۱۴). پیش‌تیمار بذر با آب در دمای اتاق (هارتمن[2] و همکاران، ۲۰۰۷)، غلظت‌های مختلف KNO_3 و GA_3 (موهان و همکاران، ۲۰۱۲)، پیش سرمادهی مرطوب (کامبیزی[3] و همکاران، ۲۰۰۶) و خراش‌دهی (نیاز و سیدیکویی، ۲۰۱۴) ازجمله روش‌های شکست خواب بذر در گیاهان دارویی محسوب می‌شوند. نیاز نوری گیاه پنیرباد برای جوانه‌زنی در آزمایش‌های مختلف به‌صورت تناوب نور و تاریکی (کامبیزی و همکاران، ۲۰۰۶)، تاریکی کامل (ناتیا[4] و همکاران، ۲۰۱۳) و نور کامل (جوشی و پادیا[5]، ۲۰۱۰) گزارش شده است. 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[6]، ۲۰۰۹). در این تحقیق تأثیر ضد عفونی کردن بذر و پیش تیمار سرمادهی مرطوب بر خصوصیات جوانه‌زنی و فعالیت‌های آنزیمی بذر پنیرباد در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر ضدعفونی کردن بذر و سرمادهی مرطوب بر ویژگی‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیمی توده‌های مختلف پنیرباد، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار طی سال‌های ۹۵-۱۳۹۴ در گروه زراعت دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل ضد عفونی کردن بذر دارای دو سطح (بدون ضدعفونی کردن و استفاده از هیپوکلریت سدیم به مدت ۳۰ دقیقه) (عدالتی‌فرد[7] و همکاران، ۲۰۱۴)، پیش سرمادهی مرطوب دارای دو سطح (بدون پیش سرمادهی و پیش سرمادهی مرطوب به مدت یک هفته (کالیسکان[8] و همکاران، ۲۰۱۲) و چهار توده‌گیاه پنیرباد (توده‌های فنوج، خاش، سراوان و سرباز) بود (جدول ۱ و ۲). از محلول مستقیم هیپوکلریت سدیم پنج درصد (از شرکت تولی‌پرس) جهت شستشوی موسیلاژ و ضدعفونی کردن بذر استفاده شد (عدالتی‌فرد و همکاران، ۲۰۱۴). به‌منظور پیش سرمادهی مرطوب جهت فعال نمودن آنزیم‌های جوانه‌زنی، بذرها درون ظرف پوشش‌دار، روی فویل آلومینیومی منفذدار، در شرایط عدم تماس مستقیم در مجاورت آب مقطر در دمای چهار درجه سلیسیوس قرار گرفت (اکرم قادری[9] و همکاران، ۲۰۰۸). ۲۰۰۸). به‌منظور کشت، 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[10] و همکاران، ۲۰۱۶). پس از اعمال تیمارها، ظروف توسط پارافیلم پوشیده شدند (قنبری و کرم‌نیا[11]، ۲۰۱۶) و پتری‌ها در ژرمیناتور در دمای ۲۵ درجه سلیسیوس (کامبیزی و همکاران، ۲۰۰۶) و در روشنایی کامل (انجمن گیاهان دارویی آمریکا، 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[12] و همکاران، ۲۰۰۱). درصد جوانه‌زنی نهایی از نسبت تعداد بذرهای جوانه‌زده پس از ۱۴ روز به تعداد کل بذرها به‌دست آمد (هانتر[13] و همکاران، ۱۹۸۴). جهت محاسبه سرعت جوانه‌زنی از رابطه ۱ استفاده شد (صالحزاده[14] و همکاران، ۲۰۰۹).

رابطه (۱): $GR = \sum N_i / T_i$

GR = سرعت جوانه‌زنی بر حسب تعداد بذر در روز شمارش، N_i = تعداد بذر جوانه‌زده در هر روز، T_i = شمارش روز پس از شروع آزمایش که در آن، S سرعت

---

[1] Niyaz and Siddiqui
[2] Hartmann
[3] Kambizi
[4] Nathiya
[5] Joshi and Padhya
[6] The Herb Society of America
[7] Edalatifard
[8] Caliskan
[9] Akram Ghaderi
[10] Ghanbari
[11] Ghanbari and Karamnia
[12] Soltani
[13] Hunter
[14] Salehzade

جوانه‌زنی (بذر در روز)، n تعداد بذرهای جوانه‌زده در زمان t و t تعداد روزها از زمان شروع آزمون می‌باشد.

طول ریشه‌چه و ساقه‌چه با خط‌کش میلی‌متری اندازه‌گیری شد. شاخص بنیه بذر نیز بر اساس رابطه ۲ محاسبه شد (آگراوال[1]، ۲۰۰۳).

رابطه (۲): $VI= (RL+SL)\times GP$

که در آن، RL طول ریشه‌چه (بر حسب سانتی‌متر)، SL طول ساقه‌چه (بر حسب سانتی‌متر) و GP درصد جوانه‌زنی می‌باشد.

جهت تعیین فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی، نمونه‌های منجمد شده در بافر سدیم فسفات ۰/۰۲ مولار، pH=۶/۹ و ۰/۰۰۶ مولار برای آلفا آمیلاز و بافر سدیم استات ۰/۰۱۶ مولار، pH=۴/۸ برای بتا آمیلاز درون هاون چینی ساییده و سپس در ۱۲۰۰۰ دور در دمای ۴-۲ درجه‌سلیسیوس به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. پس از سانتریفیوژ، برای اطمینان از عدم وجود ذرات معلق از کاغذ صافی عبور داده و از محلول صاف شده برای سنجش آنزیم α و β-آمیلاز استفاده شد. در هر لوله‌آزمایش مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره‌آنزیمی ریخته و سپس به هر کدام ۰/۵ میلی‌لیتر نشاسته‌یک درصد افزوده شد. محیط‌واکنش دقیقاً به مدت سه دقیقه برای انجام واکنش بین مواد مختلف، رها و سپس یک میلی‌لیتر معرف DNS به هر یک افزوده گردید. برای تهیه‌نمونه‌شاهد عصاره‌ی آنزیمی حذف شد. لوله‌ها به مدت پنج دقیقه در حمام آب جوش حرارت داده و پس از سرد شدن در دمای اتاق، ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن‌ها افزوده شدند. پس از به هم زدن، جذب آن‌ها در ۵۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد (برن‌فلد[2]، ۱۹۷۰).

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۳ تجزیه گردید. قبل از تجزیه واریانس داده‌ها، تست نرمالیتی انجام گرفت 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 ۵ درصد احتمال 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 هر توده انجام شد.

نتایج و بحث

درصد نهایی و سرعت جوانه‌زنی

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر توده و برهمکنش‌های توده×آب ژاول، توده×سرمادهی و توده×آب ژاول×سرمادهی در سطح احتمال آماری یک درصد بر درصد نهایی جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی معنی‌دار است، در حالی که اثر سرمادهی به‌ترتیب در سطح احتمال آماری پنج درصد و یک درصد بر درصد نهایی جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی معنی‌دار است (جدول ۳). مقایسه میانگین نشان داد در توده فنوج، بیشترین درصد نهایی جوانه‌زنی در تیمار ۳۰ دقیقه ضدعفونی و عدم کاربرد سرمادهی (۹۳/۳۳ درصد) و کمترین مقدار آن در عدم کاربرد هر دو تیمار (۵۷/۳۳ درصد) مشاهده شد. همچنین، بیشترین سرعت جوانه‌زنی در تیمار ۳۰ دقیقه ضدعفونی و عدم کاربرد سرمادهی (۲/۷۱ بر روز) مشاهده شد که با تیمارهای بدون ضدعفونی و یک هفته سرمادهی و تیمار ۳۰ دقیقه ضدعفونی و یک هفته سرمادهی تفاوت معنی‌داری نداشت و کمترین مقدار آن در عدم کاربرد هر دو تیمار (۱/۵۵ بر روز) دیده شد (جدول ۵). در توده خاش، بیشترین درصد نهایی و سرعت جوانه‌زنی در تیمار ۳۰ دقیقه ضدعفونی و یک هفته سرمادهی به‌ترتیب (۷۶/۶۶ درصد و ۲/۸۲ بر روز) مشاهده شد و کمترین مقدار آن در تیمار ۳۰ دقیقه ضدعفونی و عدم کاربرد سرمادهی به‌ترتیب (۲۸/۰۰ درصد و ۱/۱۱ تعداد بر روز) دیده شد که با تیمار عدم کاربرد هر دو تیمار تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۵). در توده سراوان، بیشترین درصد نهایی جوانه‌زنی در تیمار بدون ضدعفونی و یک هفته سرمادهی (۵۶/۶۶ درصد) مشاهده شد که با تیمارهای عدم کاربرد هر دو تیمار و ۳۰ دقیقه ضدعفونی و یک هفته سرمادهی تفاوت معنی‌داری نداشت. کمترین مقدار آن نیز در تیمار ۳۰ دقیقه ضدعفونی و بدون سرمادهی (۳۳/۳۳ درصد) دیده شد.

---

[1] Agrawal
[2] Bernfeld

جدول ۱- مختصات منطقه‌ای و موقعیت جغرافیایی توده‌های مختلف پنیرباد

Table 1. Regional coordinates and geographical position of different landraces of Indian Cheese Maker

مختصات منطقه‌ای Regional coordinates						موقعیت جغرافیایی Geographical location					
ردیف	مناطق تحت رویش	بخش	دهستان	روستا	ارتفاع از سطح دریا (متر)	عرض شمالی Northern latitude			طول شرقی Eastern longitude		
Row	growth areas	County	Village	Village	Elevation (m)	درجه Degree	دقیقه Minutes	ثانیه Seconds	درجه Degree	دقیقه Minutes	ثانیه Seconds
1	Fanuj	Central	Siahgan	-	714	26	47	31	59	38	25
2	Khash	Karvander	-	Pigel	1420	27	75	27	60	49	12
3	Saravan	-	-	Shamsabad	1170	27	47	43	62	17	46
4	Sarbaz	Sarbaz	Minan	Dez	915	26	38	12	61	18	9

جدول ۲- ویژگی‌های آب و هوایی مناطق رشد توده‌های مورد بررسی

Table 2. The weather characteristics of the cities studied

ردیف Row	شهر City	اقلیم Climate	میانگین سالانه دما (سلیسیوس) Average annual temperature (°C)	میانگین سالانه باران (میلی‌متر) Average annual rainfall (mm)	میانگین سالانه رطوبت (درصد) Average annual humidity (%)
1	فنوج Fanuj	گرم و خشک بیابانی hot and dry desert	28	173.2	36
2	خاش Khash	نیمه خشک و معتدل گرم Semi-dry and hot	20	153	31
3	سراوان Saravan	گرم و خشک بیابانی hot and dry desert	27	110	37.5
4	سرباز Sarbaz	خشک و خیلی گرم بیابانی Dry and very hot desert	29	133	36

همچنین، بیشترین سرعت جوانه‌زنی در تیمار ۳۰ دقیقه ضدعفونی و یک هفته سرمادهی (۱/۹۶ بر روز) مشاهده شد که با تیمار بدون ضدعفونی و یک هفته سرمادهی تفاوت معنی‌داری نداشت. همچنین، کمترین مقدار آن نیز در تیمار ۳۰ دقیقه ضدعفونی و بدون سرمادهی (۰/۷۸ بر روز) مشاهده شد (جدول ۵). در توده سرباز، بیشترین درصد نهایی و سرعت جوانه‌زنی در تیمار ۳۰ دقیقه ضدعفونی و بدون سرمادهی به‌ترتیب (۴۰ درصد و ۰/۸۸ بر روز) مشاهده شد که با تیمار عدم کاربرد هر دو تیمار تفاوت معنی‌داری نداشت. همچنین، کمترین مقدار آن‌ها نیز در ۳۰ دقیقه ضدعفونی و یک هفته سرمادهی به‌ترتیب (۷/۳۳ درصد و ۰/۱۵ تعداد بر روز) مشاهده شد که با تیمار بدون ضدعفونی و یک هفته سرمادهی تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۵).

خطیب‌زاده[1] و همکارن (۲۰۱۳) در بررسی ضدعفونی سطحی و چینه سرمایی بر جوانه‌زنی بذر انجدان رومی (*Levisticum officinale* Koch.) گزارش دادند که کاربرد هیپوکلریت سدیم دو درصد به مدت ۱۵ دقیقه به‌همراه پیش سرمادهی مرطوب موجب افزایش درصد نهایی و سرعت جوانه‌زنی گردید. پیش سرمادهی مرطوب با تغییر در شکل آنزیم‌ها یا در

---

[1] Khatibzadeh

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر هیپوکلریت سدیم و پیش سرمادهی مرطوب بر خصوصیات جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی توده‌های مختلف پنیرباد

Table 3. Analysis of variance of the effect of sodium hypochlorite and pre-chilling on the properties and activity of germination enzymes of different landraces of Indian cheese maker

منابع تغییرات		درجه آزادی	میانگین مربعات (Mean of Square)						
			درصد جوانه‌زنی نهایی	سرعت جوانه‌زنی	طول ریشه‌چه	طول ساقه‌چه	بنیه بذر	آلفا آمیلاز	بتا آمیلاز
Source of Variation		df	Final germination percentage	Germination rate	Radicle length	Shoot length	Seed vigor	α-Amylase	β-Amylase
توده	Landrace	3	5125.86**	5.86**	28.82**	3.10**	247086.34**	0.06**	0.14**
آب ژاول	NaOCl	1	126.75^{ns}	0.13^{ns}	1.00^{ns}	0.36*	7430.41^{ns}	0.004**	0.009**
توده×آب ژاول	Landrace×NaOCl	3	409.63**	0.39**	6.05*	0.22^{ns}	22774.08*	0.0005^{ns}	0.00007^{ns}
سرمادهی	Chilling	1	396.75*	2.12**	21.83**	2.41**	19824.19^{ns}	0.02**	0.03**
توده×سرمادهی	Landrace× Chilling	3	1973.41**	2.22**	13.11**	0.98**	66550.32**	0.0001^{ns}	0.001^{ns}
آب ژاول×سرمادهی	NaOCl× Chilling	1	24.08^{ns}	0.003^{ns}	0.26^{ns}	0.01^{ns}	10483.74^{ns}	0.00003^{ns}	0.0001^{ns}
توده×آب ژاول×سرمادهی	Landrace× NaOCl× Chilling	3	667.85**	0.67**	0.08^{ns}	0.09^{ns}	37323.95**	0.0001^{ns}	0.0002^{ns}
خطای آزمایش	Error	32	66.75	0.07	1.89	0.08	8039.22	0.0007	0.0006
ضریب تغییرات (درصد)	CV (%)	-	16.60	17.59	30.86	18.27	27.90	4.06	5.37

ns، * و ** به‌ترتیب نشان‌دهنده غیر معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال خطای ۰/۰۵ و ۰/۰۱ است

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

جدول ۴- اثرات اصلی عوامل مورد آزمایش بر طول ساقه‌چه، آلفا و بتا آ میلاز پنیرباد

Table 4. Main effects of experimental factors on shoot length, alpha and beta amylase in Indian cheese maker

تیمار Treatment				طول ساقه‌چه (سانتی‌متر) Shoot length (cm)	آلفا آمیلاز (میکرومول بر میلی‌لیتر عصاره بر دقیقه) α-Amylase (μmol.ml^{-1}.min^{-1})	بتا آمیلاز (میکرومول بر میلی‌لیتر عصاره بر دقیقه) β-Amylase (μmol.ml^{-1}.min^{-1})
Landrace	توده	Fanuj	فنوج	-	0.74±0.02 ^{a}	0.59±0.02 ^{a}
		Khash	خاش	-	0.71±0.01 ^{b}	0.56±0.02 ^{b}
		Saravan	سراوان	-	0.63±0.01 ^{c}	0.42±0.01 ^{c}
		Sarbaz	سرباز	-	0.58±0.02 ^{d}	0.36±0.02 ^{d}
NaOCl	هیپوکلریت سدیم	No applications	بدون کاربرد	1.69±0.30 ^{a}	0.66±0.04 ^{b}	0.47±0.06 ^{b}
		30 min	۳۰ دقیقه	1.52±0.41 ^{b}	0.68±0.04 ^{a}	0.49±0.05 ^{a}
Moist pre-chilling	پیش سرمادهی مرطوب	No applications	بدون کاربرد سرمادهی	-	0.64±0.03 ^{b}	0.45±0.05 ^{b}
		One week	یک هفته سرمادهی	-	0.69±0.04 ^{a}	0.51±0.06 ^{a}

میانگین‌ها با حروف مشترک در هر ستون، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد توسط آزمون LSD با هم ندارند. (میانگین±خطای استاندارد)

Means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different at 1% probability level based on the LSD test. (Mean±STDERR)

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر آب ژاول و سرمادهی در هر سطح توده پنیرباد برای صفات درصد و سرعت جوانه‌زنی و بنیه بذر

Table 5. Mean comparison of NaOCl and Pre-chilling in each level of landraces of Indian cheese maker for germination percentage, germination rate and seed vigor

توده	آب ژاول	سرمادهی	درصد جوانه‌زنی نهایی	سرعت جوانه‌زنی (تعداد بر روز)	بنیه بذر
Landrace	NaOCl	Pre-Chilling	Final germination percentage	Germination rate (1/Day)	Seed vigor
Fanuj	No applications	No applications	57.33±4.80 ^{c}	1.55±0.20 ^{b}	272.76±66.79 ^{b}
		One week	78.00±4.00 ^{ab}	2.31±0.06 ^{a}	475.09±27.12 ^{a}
	30 min	No applications	93.33±3.33 ^{a}	2.71±0.10 ^{a}	508.55±11.36 ^{a}
		One week	74.00±8.71 ^{bc}	2.16±0.25 ^{a}	485.29±73.71 ^{a}
Khash	No applications	No applications	32.00±6.42 ^{c}	1.19±0.22 ^{c}	272.99±70.92 ^{b}
		One week	53.33±4.80 ^{b}	2.16±0.24 ^{b}	342.48±35.70 ^{b}
	30 min	No applications	28.00±5.29 ^{c}	1.11±0.19 ^{c}	187.73±33.47 ^{b}
		One week	76.66±2.40 ^{a}	2.82±0.10 ^{a}	569.19±81.43 ^{a}
Saravan	No applications	No applications	50.00±1.15 ^{a}	1.40±0.12 ^{b}	456.81±70.28 ^{a}
		One week	56.66±0.66 ^{a}	1.94±0.07 ^{a}	357.95±29.71 ^{a}
	30 min	No applications	33.33±2.40 ^{b}	0.78±0.06 ^{c}	368.95±55.99 ^{a}
		One week	54.00±3.46 ^{a}	1.96±0.12 ^{a}	388.71±40.93 ^{a}
Sarbaz	No applications	No applications	36.66±6.76 ^{a}	0.84±0.16 ^{a}	210.77±75.68 ^{a}
		One week	16.66±3.33 ^{b}	0.33±0.07 ^{b}	82.17±21.44 ^{ab}
	30 min	No applications	40.00±7.02 ^{a}	0.88±0.17 ^{a}	129.41±33.52 ^{ab}
		One week	7.33±2.40 ^{b}	0.15±0.05 ^{b}	32.27±10.57 ^{b}

میانگین‌ها با حروف مشترک در هر سطح توده، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد توسط آزمون LSD با هم ندارند. (میانگین±خطای استاندارد)

Means in each Landrace followed by similar letter(s) are not significantly different at 1% probability level based on the LSD test. (Mean±STDERR)

جدول ۶- مقایسه میانگین برهمکنش دو گانه آب ژاول و توده‌های پنیرباد (برش‌دهی در هر سطح توده)

Table 6. Mean comparison of NaOCl and landraces of Indian cheese maker (slicing by landrace)

توده	آب ژاول	طول ریشه‌چه (سانتی‌متر)
Landrace	NaOCl	Radicle length (cm)
Fanuj	No applications	3.55±0.38 ^{a}
	30 min	4.34±0.26 ^{a}
Khash	No applications	4.81±0.68 ^{a}
	30 min	6.10±0.84 ^{a}
Saravan	No applications	5.49±0.90 ^{a}
	30 min	6.37±1.07 ^{a}
Sarbaz	No applications	3.42±0.75 ^{a}
	30 min	1.60±0.35 ^{b}

میانگین‌ها با حروف مشترک در هر توده، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد توسط آزمون LSD با هم ندارند. (میانگین±خطای استاندارد)

Means in each landrace followed by similar letter(s) are not significantly different at 1% probability level based on the LSD test. (Mean±STDERR)

جدول ۷- مقایسه میانگین برهمکنش دو گانه سرمادهی و توده‌های پنیرباد (برش‌دهی در هر سطح توده)

Table 7. Mean comparison of two-way interaction of Pre-chilling ×landraces of Indian cheese maker (slicing by landrace)

توده Landrace	سرمادهی Pre-Chilling	طول ریشه‌چه (سانتی‌متر) Radicle length (cm)	طول ساقه‌چه (سانتی‌متر) Shoot length (cm)
Fanuj	No applications	3.27 ± 0.26^{b}	1.69 ± 0.03^{a}
	One week	4.63 ± 0.17^{a}	1.64 ± 0.07^{a}
Khash	No applications	6.42 ± 0.79^{a}	1.35 ± 0.07^{b}
	One week	4.48 ± 0.59^{a}	2.20 ± 0.12^{a}
Saravan	No applications	7.76 ± 0.80^{a}	1.57 ± 0.07^{b}
	One week	4.09 ± 0.25^{b}	2.60 ± 0.13^{a}
Sarbaz	No applications	3.08 ± 0.73^{a}	0.91 ± 0.14^{a}
	One week	1.94 ± 0.58^{a}	0.87 ± 0.24^{a}

میانگین‌ها با حروف مشترک در هر توده، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد توسط آزمون LSD با هم ندارند. (میانگین±خطای استاندارد)

Means in each landrace followed by similar letter (s) are not significantly different at 1% probability level based on the LSD test. (Mean±STDERR)

متابولیسم اسید نوکلئیک‌ها و یا در ساختار کلوئیدی بذر با افزایش آبدوستی، کاهش یا حذف بازدارنده‌های جوانه‌زنی درون بذر از جمله کاهش میزان آبسیزیک اسید و یا فعال کردن و سنتز جیبرلین موجب افزایش درصد نهایی و سرعت جوانه‌زنی می‌گردد (عمو آقایی[1]، ۲۰۰۵).

پژوهشگران، اثر افزایشی ضدعفونی کردن بذر را به کاهش جمعیت و کلونیزاسیون قارچ‌ها روی پوسته بذر و در نتیجه کاهش مرگ و میر رویان‌های جوانه‌زده نسبت می‌دهند (ونی و دومرس[2]، ۱۹۸۷). یزدانشناس[3] و همکاران (۲۰۱۵) در بررسی اثر تیمارهای فیزیکی و شیمیایی بر خصوصیات جوانه‌زنی بذر گیاه دارویی‌زینتی تاج خروس (*Amaranthus cruentus*) گزارش کردند که کمترین درصد نهایی و سرعت جوانه‌زنی مربوط به تیمار سرمادهی است.

سرمادهی مرطوب در بذرهای گیاهان دارای جنین ناقص پس از جدا شدن از گیاه مادری نه‌تنها کمکی به تحریک تولید جیبرلین نمی‌کند، بلکه موجب صدمه به جنین و کاهش درصد نهایی و سرعت جوانه‌زنی در آن‌ها می‌گردد (اقبالی تاجانی[4] و همکاران، ۲۰۱۵) که در مورد توده سرباز بسیار مشهود است. به‌دلیل شرایط آب و هوایی خشک و بیابانی منطقه سرباز و پایین بودن نزولات جوی در این منطقه، بذرهای این توده دارای پوسته ضخیم و مواد بازدارنده جوانه‌زنی بوده و این عوامل موجب شده بذر این توده نتواند به‌طور کامل آب جذب کرده و فرآیند جوانه‌زنی را تکمیل کند (جدول ۱ و ۲) (ولی‌زاده[5] و همکاران، ۲۰۱۵؛ امیدی[6] و همکاران، ۲۰۱۴).

طول ریشه‌چه و ساقه‌چه

جدول ۳ نشان داد که اثر توده، سرمادهی، برهمکنش‌های توده×آب ژاول و توده×سرمادهی در سطح احتمال آماری یک درصد بر طول ریشه‌چه معنی‌دار است.

همچنین، اثر توده، سرمادهی و برهمکنش توده×سرمادهی در سطح احتمال آماری یک درصد و اثر

---

[1] Amooaghaei
[2] Wenny and Dumroese
[3] Yazdanshenas
[4] Eghbali Tajani
[5] Valizadeh
[6] Omidi

آب ژاول در سطح احتمال پنج درصد بر طول ساقه‌چه معنی‌دار شد (جدول ۳). مقایسه میانگین طول ریشه‌چه در برهمکنش توده و سرمادهی نشان داد که در توده فنوج، بیشترین طول ریشه‌چه در تیمار یک هفته سرمادهی (۴/۶۳ سانتی‌متر) و کمترین آن در شرایط بدون سرمادهی (۳/۲۷ سانتی‌متر) مشاهده شد (جدول ۷). در توده سراوان، بیشترین طول ریشه‌چه در تیمار بدون سرمادهی (۷/۷۶ سانتی‌متر) و کمترین آن در تیمار یک هفته سرمادهی (۴/۰۹ سانتی‌متر) دیده شد (جدول ۷). در توده‌های خاش و سرباز اختلاف معنی‌داری بین توده‌ها مشاهده نشد (جدول ۵). همچنین، مقایسه میانگین برهمکنش توده×آب ژاول نشان داد که در توده سرباز، بیشترین طول ریشه‌چه در تیمار بدون ضدعفونی (۳/۴۲ سانتی‌متر) و کمترین آن در تیمار ۳۰ دقیقه ضدعفونی (۱/۶۰ سانتی‌متر) دیده شد (جدول ۶).

در توده‌های فنوج، خاش و سراوان اختلاف معنی‌داری بین توده‌ها مشاهده نشد (جدول ۶). مقایسه میانگین طول ساقه‌چه از نظر آب ژاول نشان داد که بیشترین طول ساقه‌چه در تیمار بدون ضدعفونی (۱/۶۹ سانتی‌متر) و کمترین مقدار آن در تیمار ۳۰ دقیقه ضدعفونی (۱/۵۲ سانتی‌متر) مشاهده شد (جدول ۴). همچنین، در برهمکنش توده×سرمادهی، بیشترین طول ساقه‌چه در توده‌های خاش و سراوان در تیمار یک هفته سرمادهی به‌ترتیب (۲/۲۰ و ۲/۶۰ سانتی‌متر) و کمترین مقدار آن در تیمار بدون سرمادهی به‌ترتیب (۱/۳۵ و ۱/۵۷ سانتی‌متر) مشاهده شد (جدول ۷). در توده‌های فنوج و سرباز اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد (جدول ۷).

سلطانی‌پور[1] و همکاران (۲۰۰۹) در بررسی تأثیر برخی تیمارهای خواب‌شکنی بر شاخص‌های جوانه‌زنی و بنیه بذر سه گونه گیاه دارویی رازیانه (*Foeniculum vulgare* L.)، مریم گلی جنوبی (*Salvia sharifii* Rech. et Esfand.) و برگ نمدی درختچه‌ای (*Abutilon fruticosum* Guill. et Perr.) گزارش دادند که طول ریشه‌چه در اثر پیش سرمادهی مرطوب و ضدعفونی بذر با اسید سولفوریک نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت. پژوهشگران تأثیر ضدعفونی کردن و سرمادهی مرطوب در مدت زمان طولانی را بر پوسته خارجی بذر منفی ارزیابی کرده که موجب تغییراتی در نفوذپذیری غشای سلولی و ممانعت از رسیدن اکسیژن به جنین می‌گردد (اورفانوس[2]، ۱۹۸۳). سلطانی و همکاران (۲۰۰۲) معتقدند که ریشه‌چه گیاهان در معرض مواد ضدعفونی کننده به‌دلیل سطح برخورد بالا با مواد سریع واکنش نشان می‌دهند. صالحی[3] و همکاران (۲۰۱۵) در بررسی روش‌های مؤثر در شکست خواب بذر گیاه دارویی بیلهر (*Dorema aucheri*) دریافتند که تیمار سرمادهی مرطوب، شستشو و ضدعفونی کردن بذر موجب افزایش طول ساقه‌چه گردید. گزارش شده است که سرمادهی مرطوب و ضدعفونی کردن بذر با تأثیر بر نفوذپذیری غشاء باعث رسیدن اسید جیبرلیک به محل فعالیت آن می‌گردد. همچنین، افزایش سطوح آنزیم‌های کاتالاز، فسفاتاز، آلکالین لیپاز و پراکسیداز در بذرهای سرمادیده و تشکیل اسیدآمینه ضروری برای تغذیه رویان در طول رشد از جمله عواملی است که با افزایش تقسیم سلولی، طویل‌تر شدن سلول و افزایش انعطاف سلولی موجب افزایش طول ساقه‌چه می‌گردد (پور اسماعیل و شریفی[4]، ۲۰۰۳). با توجه به شرایط آب و هوایی مناطق تحت رویش توده‌های مختلف پنیرباد و مختصات جغرافیایی این توده‌ها (جدول ۱ و ۲) می‌توان دریافت که پوسته بذر توده‌های سراوان و سرباز در شرایط گرم و خشک نسبت به توده‌های فنوج و خاش در برابر جذب آب و مواد محلول محدودکننده بوده و به دلیل یونیزه شدن گروه‌های اسیدی و بازی چربی‌های غشا، در مدت زمان بیشتری شرایط بازدارندگی اسمزی آن رفع شده و تولید گیاهچه می‌نمایند (ولی‌زاده و همکاران، ۲۰۱۵؛ امیدی و همکاران، ۲۰۱۴).

بنیه بذر

تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از آن است که اثر توده و برهمکنش‌های توده × سرمادهی و توده × آب ژاول × سرمادهی در سطح احتمال آماری یک درصد و اثر

---

[1] Soltanipoor

[2] Orphanos

[3] Salehi

[4] Pooresmaeil and Sharifi

برهمکنش توده × آب ژاول در سطح احتمال پنج درصد بر بنیه بذر معنی‌دار است (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین برهمکنش سه‌گانه نشان داد که در توده فنوج، بیشترین مقدار بنیه بذر در تیمار ۳۰ دقیقه ضدعفونی و بدون سرمادهی (۵۰۸/۵۵) وجود داشته که با تیمارهای ۳۰ دقیقه ضدعفونی و بدون سرمادهی و یک هفته سرمادهی تفاوت معنی‌داری نداشت. همچنین، کمترین مقدار آن در تیمار بدون کاربرد هر دو تیمار (۲۷۲/۷۶) مشاهده شد (جدول ۵). در توده خاش، بیشترین میزان بنیه بذر در تیمار ۳۰ دقیقه ضدعفونی و یک هفته سرمادهی (۵۶۹/۱۹) دیده شد و کمترین میزان آن در تیمار ۳۰ دقیقه ضدعفونی و بدون سرمادهی (۱۸۷/۷۳) مشاهده شد که با تیمارهای بدون ضدعفونی و یک هفته سرمادهی و بدون کاربرد هر دو تیمار تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۵). در توده سراون تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد (جدول ۵). در توده سرباز، بیشترین مقدار بنیه بذر در تیمار بدون کاربرد هر دو تیمار (۲۱۰/۷۷) وجود داشت و کمترین مقدار آن در تیمار ۳۰ دقیقه ضدعفونی و یک هفته سرمادهی (۳۲/۲۷) دیده شد (جدول ۵).

صالحی و همکاران (۲۰۱۵) در بررسی روش‌های مؤثر در شکست خواب بذر گیاه دارویی بیلهر دریافتند که تیمار سرمادهی مرطوب، شستشو و ضدعفونی کردن بذر موجب افزایش شاخص بنیه بذر گردید. ضدعفونی کردن بذر بطور عمده به‌صورت سطحی بر پوسته بذر اثرگذار است و به‌نظر می‌رسد با زدودن موسیلاژ موجود بر پوسته بذر رسیدن اکسیژن به رویان را تسهیل کرده و منجر به افزایش بنیه بذر می‌گردد (اورفانوس، ۱۹۸۳). پژوهش‌ها نشان داده است که پیش سرمادهی مرطوب با کاهش محتوای اسید آبسیزیک بذر و افزایش محتوای جیبرلیک اسید و یا با تغییر حساسیت به این دو هورمون درون بذر موجب افزایش بنیه بذر می‌گردد (کشتکار[1] و همکاران، ۲۰۰۹). اسعدی و حشمتی[2] (۲۰۱۵) در بررسی اثر تیمارهای مختلف بر شکستن خواب و تحریک جوانه‌زنی بذر آویشن خراسانی (*Thymus transcaucasicus* Ronn.) و آویشن شیرازی (*Zataria moltiflora* Boiss.) گزارش دادند که با افزایش سرمادهی از میزان بنیه بذر کاسته می‌شود. خیاط[3] و همکاران (۲۰۱۱) دریافتند که ضدعفونی کردن بذر موجب کاهش درصد جوانه‌زنی نهایی، طول گیاهچه و شاخص بنیه بذر گندم می‌گردد. پژوهشگران گزارش دادند که کاربرد توأم سرمادهی مرطوب و ضدعفونی کردن بذر موجب ایجاد مسمومیت یونی در بذر سیکاس (*Cycas revoluta*) و آسیب دیدن جنین توسعه نیافته آن می‌گردد (اقبالی تاجانی و همکاران، ۲۰۱۵) که در مورد توده سرباز بسیار مشهود بود. زمانی سرمادهی می‌تواند برای جوانه‌زنی بذر سودمند باشد که غلظت موسیلاژ موجود در پوسته به وسیله ضدعفونی به حداقل رسیده باشد (مکی‌زاده تفتی[4] و همکاران، ۲۰۱۱). با توجه به ویژگی‌های آب و هوایی توده‌های مختلف در عرض‌های مختلف جغرافیایی (جدول ۱ و ۲) توده سرباز به‌دلیل دارا بودن موسیلاژ بیشتر درون کپسول و شرایط خشک و بیابانی حاکم بر منطقه رویش آن موجب ایجاد خواب ذاتی در بذر این توده شده که اثر زیستگاه رویشی در بروز این امر واضح بوده و مؤید عدم جوانه‌زنی بذرهای سالم و سخت است (ولی‌زاده و همکاران، ۲۰۱۵؛ امیدی و همکاران، ۲۰۱۴).

فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز

جدول ۳ نشان داد که اثر توده، آب ژاول و سرمادهی در سطح احتمال آماری یک درصد بر فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز معنی‌دار است (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین اثرات اصلی نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز در توده فنوج به‌ترتیب (۰/۷۴ و ۰/۵۹ میکرومول بر میلی‌لیتر بر دقیقه) و کمترین مقدار آن در توده سرباز به‌ترتیب (۰/۵۸ و ۰/۳۶ میکرومول بر میلی‌لیتر بر دقیقه) بود (جدول ۴). همچنین، بیشترین مقدار فعالیت آن‌ها در ۳۰ دقیقه ضدعفونی به‌ترتیب (۰/۶۸ و ۰/۴۹ میکرومول بر میلی‌لیتر بر دقیقه) و کمترین میزان فعالیت آن‌ها در شرایط بدون ضدعفونی به‌ترتیب (۰/۶۶ و ۰/۴۷ میکرومول بر میلی‌لیتر بر دقیقه) دیده شد (جدول ۴).

---

[1] Keshtkar
[2] Asaadi and Heshmati
[3] Khayat
[4] Makizadeh Tafti

بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی در تیمار یک هفته سرمادهی به‌ترتیب (۰/۶۹ و ۰/۵۱ میکرومول بر میلی‌لیتر بر دقیقه) و کمترین میزان آن‌ها در تیمار بدون سرمادهی به‌ترتیب (۰/۶۴ و ۰/۴۵ میکرومول بر میلی‌لیتر بر دقیقه) مشاهده گردید (جدول ۴).

صالحی و همکاران (۲۰۱۵) در بررسی روش‌های مؤثر در شکست خواب بذر گیاه دارویی بیلهر دریافتند که تیمار سرمادهی مرطوب، شستشو و ضدعفونی کردن بذر موجب افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی و افزایش فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی گردید. دهقانپور فراشاه[1] و همکاران (۲۰۱۲) در بررسی اثر تیمارهای شکست خواب بر جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های آلفا آمیلاز و بتا ۱ و ۳ گلوکاناز در بذر توده‌های مرزنگوش (*Origanum vulgare*) گزارش کردند که فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز در تیمارهای سرمادهی و شستشوی بذر به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که پیش سرمادهی مرطوب و ضدعفونی کردن بذر به‌خاطر ایجاد تعادل در نسبت هورمونی بذر و کاهش بازدارنده‌های رشد از جمله آبسیزیک اسید می‌تواند سبب شکستن خواب مورفوفیزیولوژیک بذر شود. جیبرلیک اسید از طریق القای سنتز آلفا و بتا آمیلاز و افزایش میزان تولید آن باعث شروع جوانه‌زنی در بذرهای دارای خواب می‌گردد (نبئی[2] و همکاران. آنچه مسلم است پیش سرمادهی مرطوب موجب ترشح هورمون جیبرلین در بذر شده و با افزایش این هورمون میزان آبسیزیک اسید کاهش می‌یابد. سپس جیبرلیک اسید به لایه آلورون رفته و آنزیم‌های مختلفی را فعال می‌کند که از جمله آن می‌توان به آلفا و بتا آمیلاز اشاره کرد که موجب شکسته شدن قندها و نشاسته بذر شده و آن‌ها را به مواد قابل استفاده جنین تبدیل می‌کند (کوپلند و مک دونالد[3]، ۱۹۹۵). ضدعفونی کردن بذر و شستشوی آن با مواد مختلف نیز احتمالاً بازدارنده‌های محلول در آب را در پوسته و یا رویان بذر خارج نموده و با از بین بردن موسیلاژ بذر نقش بسزایی در شکست خواب بذر دارد (رحیمیان و خسروی[4]، ۱۹۹۵). نشاسته ذخیره شده در بذر نقش مهمی در توسعه جنین طی جوانه‌زنی بذرها ایفا می‌کند. افزایش در فعالیت متابولیک بذرهای در حال جوانه‌زنی نتیجه تحریک برخی از آنزیم‌های تجزیه‌کننده می‌باشد. نشاسته توسط آنزیم‌های آمیلولیتیک تجزیه شده تا منابع انرژی را برای رشد جنین فراهم کند (کاشم[5] و همکاران،، ۱۹۹۵). عقیده بر این است که تولید آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز در لایه آلورون که به شدت توسط سنتز جیبرلین در جنین کنترل می‌شود، برای جوانه‌زنی بذر ضروری است (اوگاوا[6] (اوگاوا[6] و همکاران، ۲۰۰۳). در مقابل، آبسیزیک اسید از از تولید الفا و بتا آمیلاز جلوگیری کرده و جوانه‌زنی را متوقف می‌کند (زی[7] و همکاران، ۲۰۰۷).

بنابر شرایط آب و هوایی مناطق تحت رویش هر یک از توده‌ها (جدول ۱ و ۲)، میانگین سالانه باران در توده‌های فنوج و خاش نسبت به توده‌های سراوان و سرباز بیشتر بوده و پس از شستشوی عوامل بازدارنده جوانه‌زنی در پوسته بذر در اواسط زمستان در اثر بارندگی، ترشح هورمون جیبرلین از طریق جنین و سنتز آنزیم‌های هیدرولیتیکی مانند آلفا و بتا آمیلاز افزایش می‌یابد، به همین دلیل توده‌های دارای جوانه‌زنی مطلوب و بیشتر، از جمله توده فنوج دارای فعالیت بیشتر آنزیم‌های جوانه‌زنی هستند (ولی‌زاده و همکاران، ۲۰۱۵؛ امیدی و همکاران، ۲۰۱۴).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست آمده، توده‌های فنوج، خاش و سراوان از گیاه دارویی پنیرباد نسبت به ضدعفونی کردن با هیپوکلریت سدیم به مدت ۳۰ دقیقه و پیش سرمادهی مرطوب به مدت یک هفته واکنش مثبت نشان داده و این تیمارها موجب افزایش خصوصیات و فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی شده است. توده سرباز واکنش خوبی نسبت به تیمارهای اعمال شده نداشته و از نظر خصوصیات و فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی روند نزولی به خود گرفته است که دلیل این رفتار در توده سرباز را می‌توان به بالا بودن میانگین سالانه باران در

---

[1] Dehghanpoor Farashah
[2] Nabaei
[3] Copeland and McDonald
[4] Rahimian and Khosravi
[5] Kashem
[6] Ogawa
[7] Xie

مناطق تحت رویش توده‌های فنوج و خاش نسبت به توده‌های سراوان و سرباز نسبت داده که موجب شستشوی عوامل بازدارنده جوانه‌زنی در پوسته بذر در اواسط زمستان در اثر بارندگی در توده‌های فنوج و خاش و همچنین شرایط آب و هوایی خیلی گرم و بیابانی رویشگاه توده سرباز عنوان کرد که موجب سخت شدن پوسته بذر توده سرباز و ایجاد خواب در بذر جهت سپری کردن دوره گرم و خشک می‌گردد. به‌طور کلی، می‌توان استفاده از هیپوکلریت سدیم و پیش سرمادهی مرطوب را راهی برای شکست خواب غالب توده‌های گیاه پنیر باد توصیه نمود.

منابع

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

Akram Ghaderi, F., Kamkar, B., and Soltani, A. 2008. Seed science and technology. Jahad Daneshgahi Press. Mashhad. 512 p. [In Persian].

Amooaghaei, R. 2005. Effect of soaking the seeds, duration and temperature of pre-chilling on the failure of Ferula (*Ferula ovina*) seed dormancy. Iranian Journal of Biology, 18(4): 350-359. [In Persian with English Summary].

Asaadi, A.M., and Heshmati, Gh.A. 2015. The effect of different treatments on breaking seeds dormancy and inducing germination of *Thymus transcaucasicus* Ronn. and *Zataria moltiflora* Boiss. Journal of Plant Research, 28(1): 12-22. [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.

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

Caliskan, O., Mavi, K., and Polat, A. 2012. Influences of presowing treatments on the germination and emergence of fig seeds (*Ficus carica* L.). Acta Scientiarum, 34(3): 293-297.

Copeland, L.O., and Mc Donald, M.B. 1995. Principals of seed science and technology. Chapman and Hall, New York. 236 p.

Dehghanpoor Farashah, H., Tavakol Afshari, R., and Sharifzadeh, F. 2012. Effect of dormancy failure treatment on germination and activity of α-amylase and β-1 and 3-glucanase enzymes in Marzongoush landraces seed (Origanum vulgare). Iranian Journal of Crop Science, 43(4): 611-619. [In Persian with English Summary].

Edalatifard, L., Modares Sanavy, S.A.M., and Askari, H. 2014. The optimum condition under light and Media for Seed germination of *Withania coagulans*. International Journal of Farming and Allied Sciences, 3(7): 722-728.

Eghbali Tajani, N., Miri, S.M., and Touhidloo, G. 2015. Effect of gibberellic acid, benzyladenine, potassium nitrate and chilling on seed dormancy failure and seed germination of Cicas (*Cycas revoluta*). The 1st scientific-scientific congress of the development and promotion of agricultural science, natural resources and environment of Iran, 19 September, Tehran. [In Persian with English Summary].

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, 4 May, Khoram-abad. [In Persian with English 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].

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

Gupta, V., and Keshari, B.B. 2013. *Withania coagulans* Dunal. (Paneer Doda): A Review. International Journal of Ayurvedic and Herbal Medicine, 3(5): 1330-1336.

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.

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: 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

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: 11-14. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2005.03.001

Kashem, M.A., Sultana, N., Samanta, S.C., and Kamal, A.M.A. 1995. Starch, sugar, amylase and invertase activity in the germinating seeds of modern wheat varieties. Journal of the National Science Council of Sri Lanka, 23(2): 55-61. https://doi.org/10.4038/jnsfsr.v23i2.5840

Keshtkar, H.R., Azarnivand, H., and Shahriari, A. 2009. Effect of some treatments on seed dormancy Failure and germination of *Ferula gummosa* and Ferula assa-foetida. Scientific Journal of Rangeland, 2(3): 281-290. [In Persian with English Summary].

Khatibzadeh, R., Azizi, M., Arouei, H., and Farsi, M. 2013. Effect of superficial and stratified disinfection treatments on seed germination of Anjdan Rumi (*Levisticum officinale* Koch.) in vitro conditions. Journal of Horticultural Science, 27(2): 130-138. [In Persian with English Summary].

Khayat, M., Shirin, M., and Gharniyeh, M.H. 2011. The effect of sodium hypochlorite concentration and duration of seed disinfection on the characteristics of wheat buds of Chamran cultivar. New Findings in Agriculture, 5(4): 367-376. [In Persian with English Summary].

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 and Crop Evolution, 54(3): 655-660. https://doi.org/10.1007/s10722-006-9129-x

Lyaruu, H.V.M. 2008. Seed longevity of dominant plant species from degraded savanna in semi-arid Tanzania. Tanzania Journal of Science, 34(1): 11-20.

Makizadeh Tafti, M., Farhoodi, R., Rasti Far, M., and Sadat Asilan, K. 2011. Seed dormancy failure in Caper. Iranian Journal of Range and Desert Research, 18(4): 569-577. [In Persian with English Summary].

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.

Nabaei, M., Roushandel, P., and Mohammad Khani, A. 2011. Effective methods in seed dormancy failure and increased rhubarb seed germination (*Rheum ribes* L.). Journal of Research of Medicinal and Aromatic Plants, 27(2): 212-223. [In Persian with English Summary].

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

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

Ogawa, M., Hanada, A., Yamauchi, Y., Kuwahara, A., Kamiya, Y. and Yamaguchi, S. 2003. Gibberellin biosynthesis and response during Arabidopsis seed germination. The Plant Cell, 15: 1591-1604. https://doi.org/10.1105/tpc.011650

Omidi, H., Jafarzadeh, L., and Naghdibadi, H.A. 2014. Seeds of medicinal plants and crops. Printing and Publishing Center, Shahed University. 444 p. [In Persian].

Orphanos, P.I. 1983. Germination of caper (*Capparis spinosa* L.) Seeds. Journal of Horticultural Science, 58(2): 267-270. https://doi.org/10.1080/00221589.1983.11515119

Pour Esmaeil, M., and Sharifi, M. 2003. The effect of cold treatment and some cytokinin in dormancy removing the seeds of black cumin seeds. Journal of Research of Medicinal and Aromatic Plants, 19(2): 183-193. [In Persian].

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.

Rahimian, H., and Khosravi, M. 1995. Seed physiology. Jahad Daneshgahi Mashhad Press, 96 p. [In Persian].

Salehi, A., Masoumiasl, A., and Moradi, A. 2015. Evaluation of The Effective Methods of Seed Dormancy Breaking in Medicinal Plant of Bilhar (*Dorema aucheri*). Iranian Journal of Seed Research, 2(1): 65-72. [In Persian with English Summary].

Salehzade, H., Izadkhah Shishvan, M., and Chiyasi, M. 2009. Effect of seed priming on germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). Journal of Biological Sciences, 4(5): 629-631.

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.

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: 653-662.

Soltani, A., Galeshi, S., Zeinali, E., and Latifi, N. 2002. Germination, seed reserve utilization and seedling growth of chickpea as affected by salinity and seed size. Seed Science and Technology, 30(1): 51-60.

Soltanipoor, M.A., Asadpoor, R., Hajebi, A.H., and Moradi, N.A. 2009. Study of pre-treatments on seed germination of *Foeniculum vulgare* L., *Salvia sharifii* Rech. cv. Esfand. and *Abutilon fruticosum* Guill. et Perr. Journal of Research of Medicinal and Aromatic Plants, 25(4): 528-539. [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*.

Valizadeh, M., Bagheri, A., Valizadeh, J., Mirjalili, M.H., and Moshtaghi, N. 2015. Autecology of *Withania coagulans* (Stocks) Dunal in Sistan and Baluchestan province. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 31(1): 127-137. [In Persian with English Summary].

Wenny D.L., and Dumroese R.K. 1987. Germination of conifer seeds surface-sterilized with bleach. Tree Planters Notes, 38(3):18-21.

Xie, X., Zhang, Z., and Hanzlik, S. 2007. Salicylic acid inhibits gibberellin-induced alpha-amylase expression and seed germination via a pathway involving an abscisic-acid inducible WRKY gene. Plant Molecular Biology, 64: 293-303. https://doi.org/10.1007/s11103-007-9152-0

Yazdanshenas, H., Tavili, A., and Nasiri, M. 2015. Effects of physicochemical treatments on the germination properties of seeds of ornamental-medicinal plant (*Amaranthus cruentus*). Journal of Plant Research, 28(5): 1129-1136. [In Persian with English Summary].

Yasouj University

Iranian Journal of Seed Research, Vol: 5(1), 2018

Germination Characteristics and Seed Activity of Enzymes of Different Landraces of Indian Cheese Maker (*Withania coagulans*) in Response to Sodium Hypochlorite and Pre-chilling

Majid Ghanbari [1], Seyed Ali Mohammad Modarres-Sanavy [2, *], Ali Mokhtassi-Bidgoli [3]

Extended abstract

Introduction: Indian Cheese Maker, an herbage plant, belongs to potatoes family and grows in areas such as Pakistan, Afghanistan, India and Iran. Given its medicinal properties, Indian Cheese Maker plays an important role in traditional Iranian medicine. Lack of dormancy is one of the most desirable agronomic characteristics of its seeds, which is necessary to achieve the highest amount of germination, emergence and plant establishment. Seed germination capacity of medicinal herbs is typically low, which is due to the presence of seed dormancy in these plants.

Material and Methods: This study was conducted to evaluate the effect of disinfection and pre-chilling on germination and enzymatic properties of different Indian cheese maker landraces. The experiment was conducted as a factorial based on a completely randomized design with three replications during 2015-16 at the Laboratory of the Department of Agronomy, Tarbiat Modares University. Two treatments consisting of seeds disinfected at two levels (no application and 30 min with hypochlorite solution 5%), two pre-chilling treatments (no application and 1 week pre-chilling) and four Indian cheese maker landraces (Fanuj, Khash, Saravan and Sarbaz) were the experimental factors. For the purpose of suitable pre-chilling to activate the germination enzymes, the seeds were placed in a coated container, on an aluminum foil with holes in it, without direct contact and close to distilled water at 4 °C. 25 seeds were placed in each sterile petri dish with Watten filter paper 42. Five ml of distilled water was added to each petri. After applying the treatments, the petri dishes were covered with parafilm and were placed in a germinator at 25 °C in the light for 14 days.

Results: The results showed that in the Fanuj, Khash and Saravan landraces, the highest values of final germination percentage, germination rate, mean daily germination and mean time germination were obtained during disinfection of 30 minutes and pre-chilling of one week. However, the Sarbaz landrace showed a reverse trend and indicated the highest values of these traits in non-application of seed disinfection and pre-chilling. In terms of the activity of germination enzymes, the highest values of α and β amylase (0.74 and 0.59 µmol/ml/min) were obtained in the Fanuj landrace with 30-minute disinfection with sodium hypochlorite and one-week pre-chilling.

Conclusion: According to the results, the Fenuj, Khash and Saravan landraces of Indian Cheese Maker showed positive reaction to disinfection with sodium hypochlorite for 30 minutes and pre-cooling for one week. The same treatments increased the properties and activity of germination enzymes. The Sarbaz landrace did not react positively to the treatments applied and reacted negatively in terms of the properties and activity of germination enzymes. The reason for this behavior in the Sarbaz landrace could be attributed to lower annual rainfall, as well as higher temperature, which causes the hardening of the seed's cover and the increase in the values of germination inhibiting factors, creating seed dormancy, which allows it to survive hot and dry periods. Generally speaking, the use of sodium hypochlorite and pre-chilling can be recommended to break seed dormancy of most Indian Cheese Maker landraces.

Keywords:* α *and* β *Amylase, Seed sterilization, Landrace, Morphological Features, Stratification

***Highlights*:**

1- Investigating the effect of mucilage inside the capsule on the inhibition of Indian cheese maker's germination
2- Assessing the activation pattern of germination enzymes to break dormancy of Indian cheese maker's seeds
3- Investigating the reaction of different Indian cheese maker landraces to dormancy-breaking protocols applied

---

[1] *Ph.D.* Candidate, *of Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran*

[2] *Professor,* Department *of Agronomy, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran*

[3] *Assistant Professor, Department of Agronomy, Faculty of* Agriculture, *Tarbiat Modares University, Tehran, Iran*

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

DOI: 10.29252/yujs.5.1.119

(Received: 21.03.2018; Accepted: 21.06.2018)