مقایسه تیمارهای سرمادهی، اسیدسولفوریک، خراش‌دهی، نیترات پتاسیم و هیدروپرایمینگ بر شاخص‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز بذر درختچه مورد (*Myrtus communis* L.)

زینب کیهان‌پور[۱]، محمدرضا صالحی‌سلمی[۲*]

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

[۲]دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۳/۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۶/۱۴

چکیده

مورد درختی است که در چند دهه اخیر کاربرد فراوانی در فضای سبز داشته، ضمن اینکه این گونه خاصیت دارویی هم دارد. بذر این گیاه دارای خواب است و بایستی خواب آن بوسیله تیمارهای مختلف شکسته تا جوانه زنی فراهم گردد. به منظور بررسی تیمارهای شکست خواب بذر مورد پژوهشی در قالب طرح کامل تصادفی در ۴ تکرار در سال ۱۳۹۴ در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهان باغی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام شد. تیمارهای مورد بررسی شامل: شاهد، خراش‌دهی مکانیکی با استفاده از کاغذ سنباده به‌مدت ۲ دقیقه، خیساندن در آب ۴، ۲۵، ۵۰، درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه، استفاده از نیترات پتاسیم در غلظت‌های ۱۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ قسمت در میلیون با زمان غوطه‌وری به‌مدت ۲۴ ساعت، استفاده از اسیدسولفوریک ۵۰ درصد در زمان‌های ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰ دقیقه و سپس ۳ بار شستشو با آب مقطر، سرمادهی بذور مرطوب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با زمان‌های ۱۰، ۲۰، ۴۰ روز. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد با اعمال تیمار اسید سولفوریک ۵۰ درصد به مدت ۲۰ دقیقه بیشترین میزان جوانه‌زنی ۶۴/۲۵ درصد و بیشترین سرعت جوانه‌زنی به مقدار ۱۲/۸ عدد در روز و بالاترین بنیه بذر (۲۲/۲۹ واحد) حاصل گردید. پس از این تیمار، خراش‌دهی با سنباده به تقریب در جایگاه دوم قرار داشت. همچنین نتایج نشان داد برخی از تیمارها مانند اسید سولفوریک ۵۰ درصد به مدت ۴۰ دقیقه، نیترات پتاسیم با غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام و خیساندن در آب ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ دقیقه سبب آسیب به بذر و کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی گردید. به‌طور کلی مشخص گردید که مانع اصلی در جوانه‌زنی بذر مورد پوشش بذر بود.

واژه‌های کلیدی: ازدیاد، پوشش، خفتگی، خیساندن، هورمون

مقدمه

جوانه‌زنی بذرها علاوه بر شرایط محیطی مانند رطوبت، دما و اکسیژن تحت تأثیر عوامل داخلی مانند خواب و سختی پوسته بذر می‌باشد (Benech-Arnold and Sanchez, 2004). خواب بذر در حقیقت یک نوع سازگاری طبیعی به شرایط محیط است که سبب می‌گردد گیاهان در شرایط طبیعی در زمان‌های معین ظاهر شده و از شرایط محیطی نامناسب برای جوانه‌زنی اجتناب کنند (Meyer and Allen, 2000; Güleryüz et al., 2021). با این وجود خواب بذر و

*نویسنده مسئول:

عدم جوانه زنی آن‌ها سبب ایجاد مشکلاتی در پژوهش‌های علوم گیاهی، تکثیر و حفاظت گیاهان می‌گردد. بذر اغلب گونه‌های دارویی برای سازگاری با شرایط محیطی دارای انواع خواب می‌باشند، این ویژگی از دیدگاه اکولوژیکی صفت مطلوبی محسوب می‌گردد، چون مانع کاهش ذخیره ژنتیکی این گیاهان می‌گردد و همواره این گیاهان در طبیعت حتی پس از خشک‌سالی طولانی یافت می‌شوند، اما از زمانی که تولید و پرورش گیاهان و استفاده تجاری در اولویت کار محققین، تولیدکنندگان و مصرف‌کنندگان گیاهان قرار گرفت، این صفت مطلوب به یکی از موانع تولید و پرورش گیاهان تبدیل‌شده است (Mackizadeh tafti et al., 2006).

درختچه مورد یکی از گونه‌هایی است که علاوه بر ویژگی‌های جنگلی، ارزش زینتی- دارویی زیادی نیز دارد. این گیاه با نام علمی *Myrtus communis* L. گونه‌ای همیشه‌سبز از خانواده موردسانان (Myrtaceae)، به ارتفاع ۱ تا ۳ متر با برگ‌های متقابل، تخم‌مرغی، نیزه‌ای، نوک‌تیز و چرمی براق با عطر دل‌انگیز است. میوه آن سته تقریباً گوشتی، حاوی دانه‌های زیاد، تخم‌مرغی شکل به‌رنگ آبی تیره و دارای طعم شیرین و گس است و دارای مواد فنولی و ترپنوئیدی است (Brazandeh, 2001; Yangui et al., 2021). درختچه مورد در ارتفاع ۵۰۰ تا ۲۰۰۰ متر از سطح دریا در استان‌های لرستان، سیستان و بلوچستان، فارس، کرمان، هرمزگان، گیلان و ایلام می‌روید گیاه مورد به دلیل همیشه‌سبز بودن، هرس پذیری و شاخ و برگ متراکم، اغلب درشیب‌های مشرف‌به رودخانه‌ها، چمن‌کاری‌ها، بلوارها و حاشیه پارک‌ها به‌عنوان‌درختچه زینتی یا ایجاد پرچین مورداستفاده می‌باشد. این گیاه در مناطق گرم و زمین‌هایی که ارزش زراعی خود را ازدست‌داده‌اند قابل کاشت بوده و باعث پایداری محیط‌زیست می‌گردد (Zargari, 1997).

گرچه تکثیر گیاه مورد به هر دو روش جنسی (از طریق بذر) و غیرجنسی (قلمه) امکان‌پذیر است، اما تکثیر از طریق بذر به ۲ دلیل حائز اهمیت است. هنگامی‌که بحث کشت و کار وسیع یک محصول در نظر باشد، تکثیر از طریق بذر به‌واسطه اقتصادی و کاربردی بودن و نیز سهولت در استفاده، به‌روش تکثیر رویشی برتری خواهد داشت (Heidari Sharifabad, 2009). دلیل دوم اینکه هدف اصلی کشت مورد، جنبه دارویی آن و برداشت قسمت‌های جوان (برگ‌ها و سرشاخه) به دلیل بالاتر بودن ماده مؤثره است. اگر با استفاده از بذر به سهولت بتوان گیاهچه تولید کرد، کل گیاهچه برای صنایع دارویی برداشت‌شده و شاخص برداشت ماده مؤثره نیز افزایش خواهد یافت.

پوشش بذر خانواده موردسانان معمولاً سخت بوده و نسبت به آب و گازها نفوذناپذیر است. این بذرها عمدتاً دارای خواب از نوع سخت‌پوستی هستند و این سخت‌پوستی تحت تأثیر جنس، گونه و شرایط محیطی زمان نمو بذر است (Elias et al., 2003; Heidari Sharifabad, 2009). البته در برخی موارد علاوه بر سخت‌پوستی، مواد بازدارنده جوانه‌زنی نیز در بذر وجود دارند که در چنین وضعیتی حتی در صورت نفوذپذیر بودن پوسته نسبت به آب، بازهم بذر جوانه نمی‌زند. در طبیعت، خواب بذر در چنین گیاهانی پس از مصرف توسط پرندگان، با عبور از سیستم گوارشی آن‌ها برطرف می‌شود (Elias et al., 2003).

مکی‌زاده تفتی و همکاران (Mackizadeh tafti et al., 2006) با اعمال تیمارهای مختلفی روی بذر مورد، گزارشی از جوانه‌زنی آن ارائه کردند و بالاترین درصد جوانه‌زنی را در تیمار خراش با تیغ به دست آوردند و پوسته بذر را به‌عنوان یک مانع فیزیکی در مقابل خروج جوانه عنوان کردند. درحالی‌که کاربرد این تیمار برای مقادیر زیادی از بذر بسیار هزینه‌بر، دشوار و عملی نخواهد بود. تیمار خراش فیزیکی (با سنباده) و متعاقب آن اعمال سرمادهی متناسب با شرایط رویشگاهی گونه مربوطه می‌تواند راهکار مطمئن، اقتصادی و کم‌خطری (ازنظر تولید گیاهچه سالم و قوی) برای برطرف

نمودن بذرهای دارای پوسته سخت گیاهان مناطق معتدله و سردسیر باشد (Eisavand *et al*., 2006; Hardegree and Winstral, 2006).

در پژوهش گولریوز و همکاران (Güleryüz et al., 2021) روی جوانه‌زنی گل راعی مشخص شد که دمای مطلوب جوانه زنی تناوب ۱۰-۲۰ درجه سانتی گراد به‌ترتیب برای شب-روز است و هیچ نوری برای جوانه زنی بذر مورد نیاز نیست. بذرهای راعی خواب فیزیولوژیکی دارند. جیبرلیک اسید به تنهایی نتوانست وضعیت خواب را از بین ببرد. خراش‌دهی با اسید سولفوریک و ترکیب جیبرلیک اسید موثرترین روش برای جوانه‌زنی گل راعی بود. مهم‌ترین هدف این پژوهش رفع خفتگی گیاه و ارزیابی ویژگی‌هایی بذر شامل درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، شاخص بنیه بذر و میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تحت اثر تیمارهای فیزیکی، شیمیایی و سرمادهی بود.

مواد و روش‌ها

بذرهای مورد از درختچه‌های واقع در ۱۰ کیلومتری شهر خرم‌آباد با ارتفاع حدود ۹۱۵ متر از سطح دریا از طریق برداشت میوه‌های آن از روی درختچه‌ها در اواسط آذرماه ۱۳۹۵ جمع‌آوری شدند. سپس به آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهان باغی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان منتقل گردیدند. سپس از طریق شستشو با آب معمولی بذرهای داخل آن‌ها جدا شد و برای جلوگیری از گسترش آلودگی در حین آزمایش، بذور با قارچ‌کش مانکوزب ۲ ٪ به مدت ۵ دقیقه ضدعفونی شدند.

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و در ۴ تکرار (هر تکرار شامل ۱۰۰ بذر) انجام شد. تیمارهای مورداستفاده در این آزمایش عبارت بودند از: شاهد، خراش‌دهی مکانیکی با استفاده از کاغذ سنباده به‌مدت ۲ دقیقه، خیساندن در آب ۴، ۲۵، ۵۰، درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه، استفاده از نیترات پتاسیم در غلظت‌های ۱۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ قسمت در میلیون با زمان غوطه‌وری به‌مدت ۲۴ ساعت، استفاده از اسیدسولفوریک ۵۰ ٪ در زمان‌های ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰ دقیقه و سپس ۳ بار شستشو با آب مقطر، سرمادهی بذور مرطوب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با زمان‌های ۱۰، ۲۰، ۴۰ روز. لازم به ذکر است زمان تیمارها به گونه‌ای تنظیم شد تا هنگام قراردهی بذور در ژرمیناتور همزمان گردد.

پس از اعمال تیمارها، بذرها بین یک لایه کاغذ صافی مرطوب در پتری دیش قرار داده شدند و هر پتری به‌عنوان یک تکرار در نظر گرفته شد. خروج ریشه‌چه به‌اندازه ۲ میلی‌متر به‌عنوان معیار بذر جوانه‌زده در نظر گرفته شد. پتری دیش‌ها به‌مدت ۴ هفته در داخل ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۲ ساعت نور و۱۲ ساعت تاریکی با رطوبت نسبی ۷۰ درصد قرار گرفتند. شمارش بذرهای جوانه‌زده روزانه به‌مدت ۱۴ روز انجام گرفت. برای محاسبه سرعت جوانه‌زنی از فرمول ارائه شده توسط آکراوال (Agrawal, 1992) به شرح زیر استفاده شد:

$$\text{سرعت جوانه زنی} = \sum_i^j \frac{ni}{Dj}$$

ni تعداد بذرهای جوانه زده در روزهای شمارش و *Dj* تعداد روز پس از شروع آزمایش

برای محاسبه درصد جوانه زنی از فرمول ارائه شده توسط اسکات و همکاران (Scott et al., 1984) استفاده شد:

$$\text{درصد جوانه زنی} = \frac{\sum Ti\, Ni}{S}$$

Ti زمان شمارش (روز) پس از شروع آزمایش، *Ni* تعداد بذرهای جوانه زده در هر شمارش و *S* کل بذرهای کاشته شده است.

همچنین از فرمول شاخص بنیه نیز استفاده گردید (Abdul-baki and Anderson, 1975):

$$\text{شاخص بنیه} = \frac{\text{میانگین طول گیاهچه بر حسب میلی متر} \times \text{درصد جوانه زنی}}{100}$$

جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز، بذرهای سالم به مدت ۲۴ ساعت در شرایط متفاوت جوانه‌زنی قرار گرفتند. در پایان ۲۴ ساعت [زمان تقریبی جذب آب توسط بذر در مرحله I جوانه‌زنی (Carleton et al., 1968)] نمونه‌هایی از بذور جهت اندازه‌گیری استفاده شدند. یک گرم بذور با ۱۰ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم روی یخ سائیده شد و مخلوط حاصل به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. مخلوط حاصل به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد با دور ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ (Hettich, German) شد. فعالیت آنزیمی در قسمت رویی با استفاده از معرف ۳ و ۵ دی نیترو سالیسیلیک اسید (DNS) و با استفاده از نشاسته یک درصد به‌عنوان سوبسترا در جذب نمونه در ۵۴۰ نانومتر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-2100, UK) اندازه‌گیری شد. مقدار جذب نمونه مورد آزمایش منهای مقدار جذب نمونه شاهد، به‌عنوان مقدار واقعی جذب در نظر گرفته شد. فعالیت آنزیم بر اساس واحد محاسبه شد. یک واحد برابر با میلی‌گرم مالتوز تولیدشده در یک دقیقه در یک گرم وزن‌تر بود. برای رسم منحنی استاندارد از غلظت‌های متوالی مالتوز از صفر تا ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه شد (Xiao et al., 2006).

تجزیه و تحلیل داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD و رسم نمودارها با Excel 2010 انجام گردید.

نتایج و بحث

نتایج آنالیز واریانس داده‌ها مشخص کرد که تیمارهای به کار رفته بر بذور مورد جهت جوانه‌زنی موثر بود. به‌گونه‌ای که این تیمارها بر ویژگی‌های درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، شاخص بنیه بذر و فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۱).

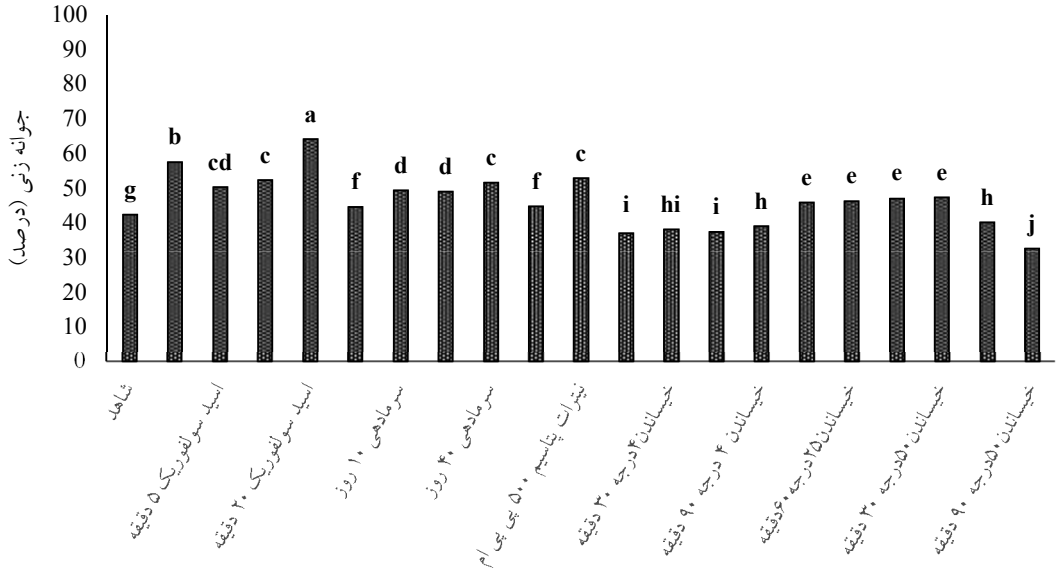
– درصد جوانه‌زنی: با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) اثر تیمارهای پیش جوانه‌زنی براین صفت معنی‌دار ($P<۰/۰۱$) شد. نتایج مقایسه میانگین (شکل۱) نشان داد که تیمارهای خراش‌دهی با سنباده، خراش‌دهی با اسید سولفوریک در زمان‌های مختلف، سرمادهی در هر ۳ زمان، نیترات پتاسیم در غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰۰ پی پی ام، خیساندن در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در هر ۳ مدت و خیساندن در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه نسبت به تیمار شاهد، سبب افزایش درصد جوانه‌زنی گردید. با این وجود بیشترین جوانه‌زنی در تیمار اسید سولفوریک ۵۰ ٪ به مدت ۲۰ دقیقه (۶۴/۲۵ درصد) مشاهده شد. کمترین درصد جوانه‌زنی در تیمار خیساندن با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ دقیقه (۳۲/۷۵ درصد) مشاهده گردید. این موضوع تأییدی بر این مطلب است که خواب بذر در این گونه گیاهی به طور عمده ناشی از پوسته سخت بذر می‌باشد، زیرا تیمار با اسیدسولفوریک در زمان‌های مختلف روی جوانه‌زنی اثر مطلوبی داشت. با این وجود مشخص شد افزایش زمان تیماردهی با اسیدسولفوریک سبب کاهش جوانه‌زنی گردید، که علت این می‌تواند آسیب به جنین باشد. همچنین با توجه به اینکه تیمارهای خیساندن، به‌ویژه دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، سبب افزایش درصد جوانه‌زنی گردید، به این نکته می‌توان پی برد که تیمار خیساندن سبب شستشوی بازدارنده‌های شیمیایی پوشش بذر مثل فنل‌ها و کومارین شده است. یکی از انواع خفتگی، خفتگی شیمیایی می‌باشد که به‌وسیله خیساندن می‌توان آن را برطرف کرد. شرایط محیطی نامناسب برای

گیاه مادری در زمان تولید بذر نیز باعث تغییر در میزان خواب بذر می‌شود. نتایج تحقیقی نشان داده که خیساندن بذر گیاه تاتوره باعث کاهش میزان خواب گردید که علت این امر مربوط به کاهش غلظت هورمون‌های بازدارنده جوانه زنی در بذور تاتوره عنوان گردیده است (Gib et al., 1998). در مطالعه‌ای بر جوانه زنی بذر عناب وحشی، بهترین نتیجه که باعث جوانه‌زنی ۷۸ ٪ شد. استفاده توأم سرمادهی (۳ هفته) و خراش‌دهی با اسید سولفوریک (۳۰ دقیقه) بود (Aboutalebi et al., 2012). نتایج مقایسه تیمار سرمادهی و خیساندن در آب ۲۵ درجه سانتی‌گراد، می‌توان نتیجه گیری کرد که تیمارسرمادهی در نقش خیساندن بذر عمل کرده و هیچ تغییر فیزیولوژیکی ایجاد نکرده است و به عبارت دیگر این گیاه خفتگی عمیق فیزیولوژیکی نداشت.

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر پیش تیمارهای جوانه زنی بر خصوصیات کمی وکیفی جوانه زنی در بذر مورد

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات (MS)					
		درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	طول ریشه‌چه	طول ساقه‌چه	شاخص بنیه بذر	فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز
تیمار	۲۰	۱۶۸۱/۷۱**	۴۱/۳۲**	۱۸۳/۷۵**	۱۸۲/۴۲*	۱۸۷/۵۸**	۱۵۴/۱۵ **
خطای آزمایش	۶۳	۳۳/۷۸	۱/۰۴	۲/۰۶	۴/۶۹	۸/۱۷	۳/۲۲

* و** به‌ترتیب وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۵ و ۱ درصد، ns عدم وجود اختلاف معنی‌دار.

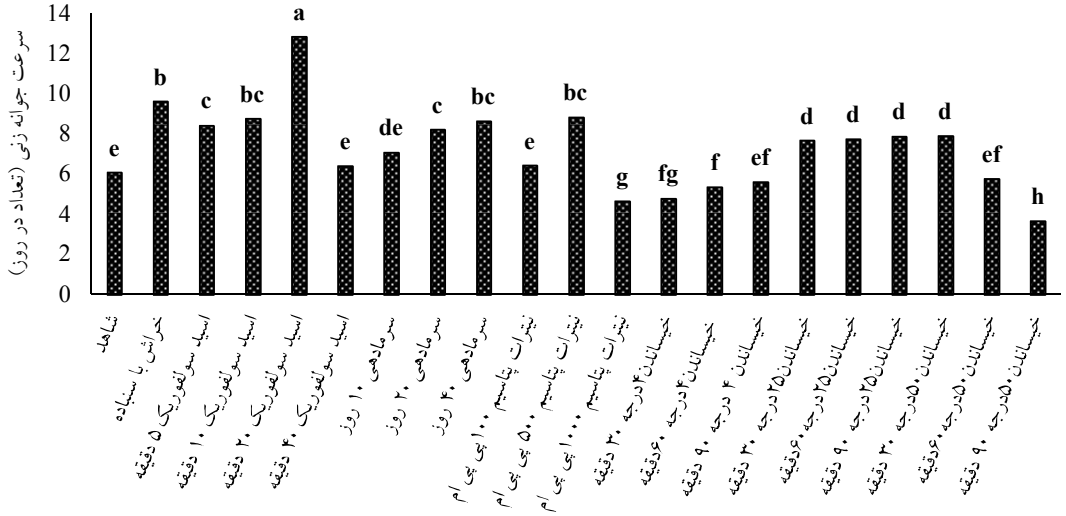


شکل ۱- اثر تیمارهای مکانیکی، شیمیایی و سرمادهی بر درصد جوانه‌زنی بذر درختچه مورد (*Myrtus communis* L.)
در هر نمودار، ستون‌های دارای حرف مشترک، از نظر آماری در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

- سرعت جوانه‌زنی: با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) اثر تیمارهای پیش جوانه‌زنی بر سرعت جوانه‌زنی معنی‌دار (P<۰/۰۱) شد و با توجه به نتایج مقایسه میانگین (شکل ۲)، بالاترین مقدار این شاخص در تیمار اسید سولفوریک ۵۰ ٪ به مدت ۲۰ دقیقه مشاهده شد. همچنین نتایج نشان داد تیمارهای خراش‌دهی با سنباده و اسید سولفوریک در تمامی زمان‌ها، سرمادهی به‌مدت ۴۰ روز، نیترات پتاسیم ۵۰۰ پی‌پی‌ام، خیساندن در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت‌های ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه و خیساندن در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه سبب افزایش

سرعت جوانه‌زنی نسبت به تیمار شاهد شد. همچنین تیمارهای نیترات پتاسیم ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام، خیساندن در دمای ۴ درجه به‌مدت ۳۰ و ۶۰ دقیقه و خیساندن در آب ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ دقیقه سبب کاهش سرعت جوانه‌زنی نسبت به شاهد شد. به‌طور کلی بیشترین سرعت جوانه‌زنی مربوط به تیمار خراش‌دهی با اسید سولفوریک ۵۰ ٪ به مدت ۲۰ دقیقه (۱۲/۸ عدد در روز) و کمترین میزان این شاخص مربوط به تیمار خیساندن در آب ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ دقیقه (۳/۶ عدد در روز) بود.

استفاده از تیمار خیساندن سبب سرعت بخشیدن به جوانه‌زنی می‌شود، زیرا اولین مرحله در فرایند جوانه‌زنی جذب آب می‌باشد که سبب می‌گردد آنزیم‌های تجزیه کننده کربوهیدرات سریعتر فعال شوند و در نتیجه قندهای قابل دسترس سریعتر در اختیار قسمت‌های مریستمی ریشه‌چه قرار گیرند، بنابراین سرعت جوانه‌زنی افزایش یافت. کمترین مقدار این شاخص در تیمار خیساندن در آب ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ دقیقه مشاهده گردید. نتایج به‌دست آمده با نتایج عیسی‌وند و همکاران (Eisavand et al., 2006) در بذر گیاه *Astragalus Siliquosus* همسویی داشت. تیمارهای سرمادهی نیز سبب از بین رفتن آبسیزیک اسید و افزایش سنتز جیبرلیک اسید می‌شود. یکی از هورمون‌هایی که به جوانه‌زنی سرعت می‌بخشد هورمون جیبرلین است که با تحریک کردن فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز سبب تجزیه نشاسته به قندهای ساده‌تر می‌گردد (Bensch et al., 2003).

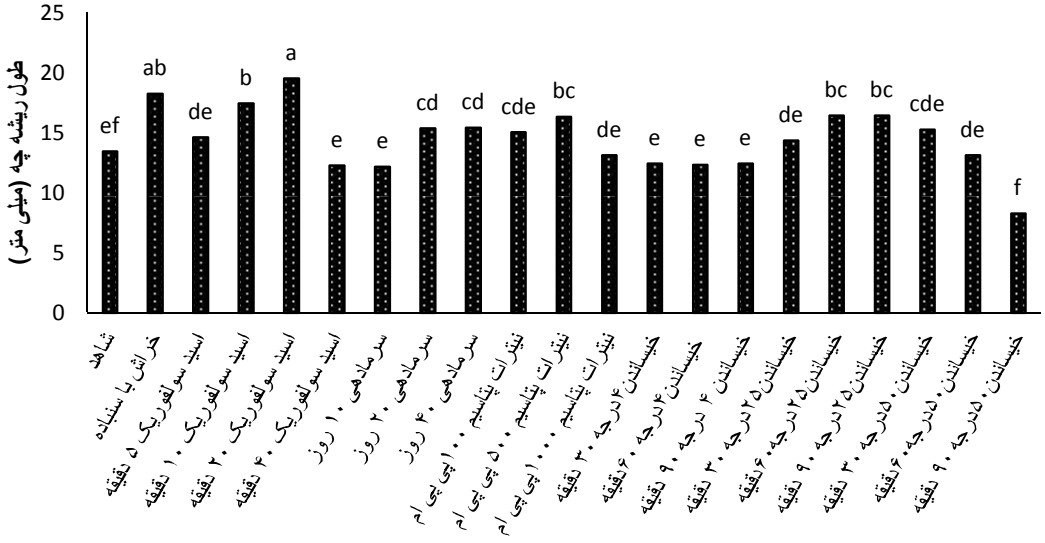


شکل ۲- اثر تیمارهای مکانیکی، شیمیایی و سرمادهی بر سرعت جوانه‌زنی بذر درختچه مورد (*Myrtus communis* L.)

در هر نمودار، ستون‌های دارای حرف مشترک، از نظر آماری در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

- طول ریشه‌چه: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که اثر تیمارهای پیش جوانه‌زنی بر طول ریشه‌چه مورد در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود. با توجه به نتایج مقایسه میانگین (شکل۳)، بذرهای با تیمار خراش‌دهی با اسید سولفوریک ۵۰ ٪ به‌مدت ۲۰ دقیقه (۱۹/۶ میلی‌متر) و خراش دهی با سنباده بیشترین طول ریشه‌چه داشتند و با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشتند. در تیمار خیساندن در آب ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ دقیقه رشد بسیار کم ریشه‌چه مشاهده شد (۸/۳ میلی‌متر). به نظر می‌رسد خیساندن در آب ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ دقیقه آسیب جدی به مریستم ریشه وارد می‌کند. همچنین نتایج نشان داد که سرمادهی ۲۰ و ۴۰ روز سبب افزایش طول ریشه‌چه

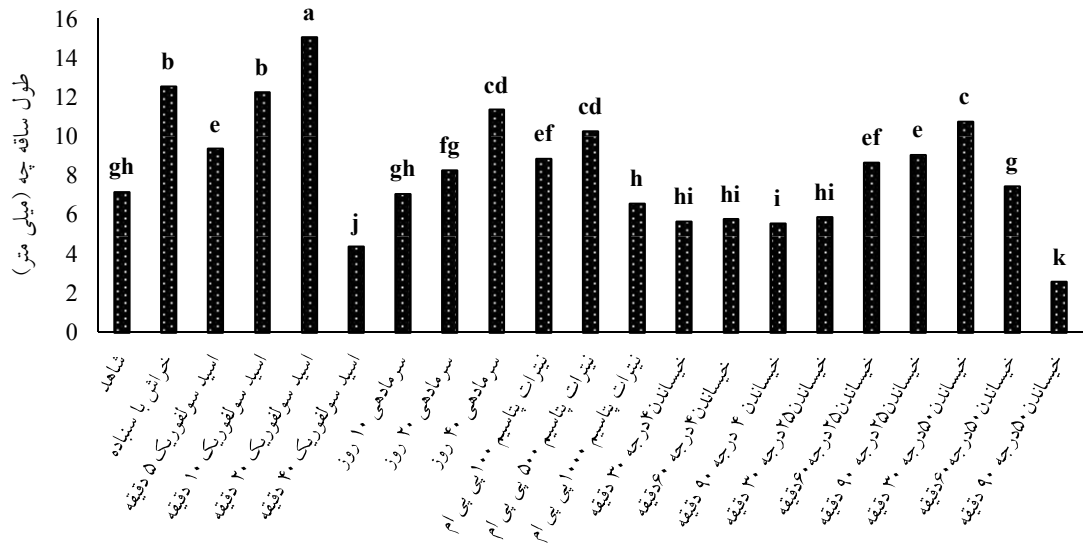
نسبت به تیمار شاهد گردید. با افزایش مدت‌زمان سرمادهی، تعادل بین مواد بازدارنده (ABA) و تحریک‌کننده (اسید جیبرلیک) به سمت افزایش مواد تحریک‌کننده پیش می‌رود، بنابراین دماهای پایین از طریق تحریک تولید هورمون جیبرلین وکاهش میزان اسید آبسیزیک سبب توازن بین این هورمون‌ها می‌شود و به دنبال آن از طریق القاء سنتز آنزیم‌های مختلفی ازجمله آلفا آمیلاز فعال‌شده، موجب شکستن ذخایر غذایی بذر گردیده و آن‌ها را به مواد قابل‌استفاده جنین تبدیل می‌کند (Zhang et al., 2007). همچنین نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که بین تیمارهای نیترات پتاسیم و شاهد تفاوت معنی‌داری وجود داشت و نیترات پتاسیم سبب افزایش طول ریشه گردید. جابری و همکاران (Jabari et al., 2009) در بررسی که روی جوانه‌زنی و شکست خواب بذر گیاه دارویی همیشه بهار انجام دادند، بیان کردند نیترات پتاسیم تأثیری مثبتی روی طول ریشه‌چه بذر نشان داد.



شکل ۳- اثر تیمارهای مکانیکی، شیمیایی و سرمادهی بر طول ریشه‌چه بذر درختچه مورد (*Myrtus communis* L.)
در هر نمودار، ستون‌های دارای حرف مشترک، از نظر آماری در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

- طول ساقه چه: با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) اثر تیمارهای پیش جوانه‌زنی بر ویژگی طول ساقه‌چه در سطح ۱ ٪ معنی دار شد. نتایج مقایسه میانگین‌ها (شکل۴) نشان داد که بذرهای تیمار شده با اسیدسولفوریک ۵۰ ٪ به‌مدت ۲۰ دقیقه بیشترین طول ساقه‌چه داشتند (۱۵/۱ میلی‌متر) و کمترین طول ساقه‌چه مربوط به تیمار خیساندن در آب ۵۰ درجه به‌مدت ۹۰ دقیقه بود (۲/۶ میلی‌متر). تیمار خراشدهی با سنباده سبب رشد بیشتر ساقه‌چه بذور تیمار شده گردید. در مورد تیمار اسید سولفوریک ۵۰ ٪ با زمان‌های متفاوت، نتایج نشان داد قرار دهی تا ۲۰ دقیقه در این محلول تأثیر مثبتی بر رشد ساقه‌چه گذاشت ولی افزایش زمان تا ۴۰ دقیقه اثر منفی شدیدی داشت. در ارتباط با تیمار سرمادهی نتایج نشان داد که افزایش زمان سرمادهی در بذور سبب افزایش رشد طول ساقه‌چه گردید. تیمارهای نیترات پتاسیم با غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام سبب افزایش رشد طول ساقه‌چه گردید. تیمار خیساندن در آب ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت‌های متفاوت تأثیری معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نداشتند. همچنین خیساندن در آب ۲۵ درجه سانتی‌گراد نسبت به دماهای ۴ و ۵۰ درجه سانتی‌گراد تأثیر بیشتری داشت. نتایج بیانگر این است که بذرهای مورد دارای خفتگی مکانیکی و فیزیکی می‌باشند. احتمالاً علت افزایش طول ساقه‌چه در اثر تیمار سرمادهی، تغییر میزان

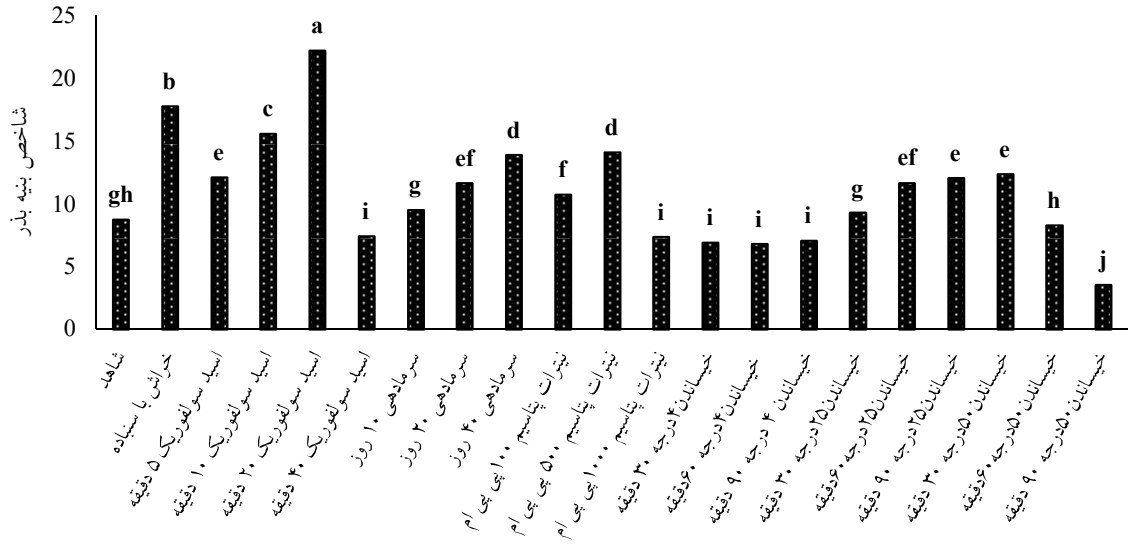
جیبرلین درونی بذور است که سبب افزایش رشد سلولی و در نهایت افزایش طول ساقه شده است. نتایج به‌دست آمده از این پژوهش با بررسی تیگابو (Tigabu, 2001) روی بذر اقاقیا همسویی داشت. همچنین نتایج نشان داد که بذرهای تیمار شده با اسید سولفوریک طولانی مدت از رشد ساقه‌چه جلوگیری کرد و به‌نظر می‌رسد این تیمار آسیب جدی به مریستم ساقه وارد می‌کند. نتایج به‌دست آمده از این پژوهش با نتایج اسچلین و همکاران (Schelin et al., 2003) روی بذر مورد همسویی داشت.



شکل ٤- اثر تیمارهای مکانیکی، شیمیایی و سرمادهی بر طول ساقه‌چه بذر درختچه مورد (*Myrtus communis* L.)

در هر نمودار، ستون‌های دارای حرف مشترک، از نظر آماری در سطح احتمال ۱ ٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

- شاخص بنیه بذر: با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) اثر تیمارهای پیش جوانه‌زنی بر این صفت در سطح احتمال ۱ ٪ معنی‌دار شد. نتایج مقایسه میانگین (شکل۵)، تیمارهای اسید سولفوریک ۵۰ ٪ به مدت ۴۰ دقیقه، نیترات پتاسیم ۱۰۰۰ پی پی ام، خیساندن در آب ۴ درجه به‌مدت‌های ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه و خیساندن در آب ۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت‌های ۹۰ دقیقه سبب کاهش شاخص بنیه گردید، به گونه‌ای که کمترین شاخص بنیه بذر در تیمار خیساندن در آب ۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت‌های ۹۰ دقیقه (۳/۵۶ واحد) مشاهده شد. بذرهای تیمار شده با اسیدسولفوریک۵۰٪ به‌مدت ۲۰ دقیقه بیشترین شاخص بنیه بذر را داشتند (۲۲/۲۹ واحد). افزایش سریع طول ساقه‌چه و ریشه‌چه باعث تسریع در سبز شدن و استقرار بهتر گیاهچه‌ها می‌شود که این مسئله در آزمایش‌های مربوط به پژوهش‌های درختچه‌ها و دیگر آزمایش‌ها بسیار مهم است (Bensch et al., 2003). در پژوهش حاضر بیشترین شاخص بنیه، در بذرهای تیمار شده با اسیدسولفوریک ۵۰ ٪ به‌مدت ۲۰ دقیقه بدست آمد. با توجه به رابطه مستقیم شاخص بنیه با درصد جوانه‌زنی و طول گیاهچه، بالا بودن این شاخص در این تیمار امری بدیهی است و ناشی از بالا بودن طول گیاهچه می‌باشد (Baskin and Baskin, 1998).



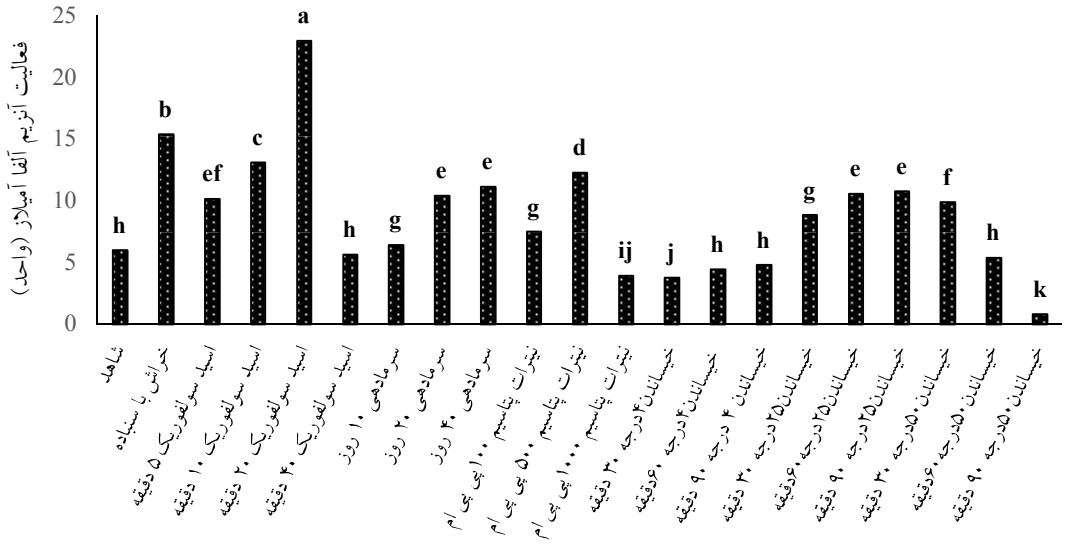
شکل ۵- اثر تیمارهای مکانیکی، شیمیایی و سرمادهی بر شاخص بنیه بذر درختچه مورد (*Myrtus communis* L.)
در هر نمودار، ستون‌های دارای حرف مشترک، از نظر آماری در سطح احتمال ۱ ٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

- فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز: با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) اثر تیمارهای پیش جوانه‌زنی بر فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز در سطح ۵٪ معنی‌دار شد. نتایج مقایسه میانگین (شکل۶) نشان داد که تیمارهای خراش‌دهی با سنباده، خراش‌دهی با اسید سولفوریک در زمان‌های مختلف، سرمادهی در هر ۳ زمان، نیترات پتاسیم در غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰۰ پی پی ام، خیساندن در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در هر ۳ مدت و خیساندن در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه نسبت به تیمار شاهد، سبب افزایش فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز گردید. با این وجود بیشترین فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز در تیمار اسید سولفوریک ۵۰ ٪ به‌مدت ۲۰ دقیقه (۲۲/۹ واحد) مشاهده شد. کمترین فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز در تیمار خیساندن با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ دقیقه (۰/۸۲ واحد) مشاهده گردید.

به نظر می‌رسد بذور در حال جوانه‌زنی از طریق افزایش فعالیت آلفا آمیلاز و هیدرولیز بیشتر نشاسته، میزان کل قندهای محلول را افزایش و انرژی لازم برای جوانه‌زنی را تأمین می‌کند (Demir and Van de Venter, 1999). بر اساس تحقیقات انجام‌شده افزایش آنزیم‌های هیدرولیز کننده نشاسته و کاهش میزان نشاسته ذخیره‌ای یکی از پیامدهایی است، که در هنگام جوانه‌زنی مشاهده شده است. در بررسی میزان فعالیت آلفا آمیلاز ماریتیغال گزارش شد، میزان فعالیت این آنزیم با درصد جوانه‌زنی ارتباط مستقیمی دارد و افزایش آنزیم باعث هیدرولیز بیشتر نشاسته و قندهای قابل‌دسترس بیشتر برای بذر حال جوانه‌زنی شد (Sedghi and Nemati, 2010).

بررسی تغییرات آلفا آمیلاز در مراحل آبنوشی و جوانه زنی نشان داد که پس از مرحله آبنوشی میزان آلفا آمیلاز به‌طور معنی‌داری در بذرهای تیمار شده با تیمارهای نامناسب جوانه‌زنی کاهش یافت. بر اساس تحقیقات انجام‌شده تغییرات فیزیولوژیکی که در هنگام جوانه‌زنی بذر اتفاق می‌افتاد، باعث فعال شدن آنزیم آلفا آمیلاز یا سنتز آن می‌گردد. به‌عبارت‌دیگر در تیمار شکستن خفتگی مناسب، جذب آب صورت گرفته و تا مرحله دوم جوانه‌زنی ادامه می‌یابد. سپس با خشک‌کردن بذر فرایندهای فیزیولوژیکی متوقف می‌گردد. در این مدت نسخه‌برداری اولیه DNA، سنتز RNA و پروتئین و قابلیت دسترسی بیشتر به ATP اتفاق می‌افتد. همچنین سنتز برخی از آنزیم‌ها مانند آلفا آمیلاز و هیدرولیز

اولیه ترکیبات ذخیره‌ای مانند نشاسته نیز اتفاق افتاده و کل قندهای محلول افزایش می‌یابد. در پژوهشی نشان داده شد تغییرات فیزیولویک ایجادشده توسط اسمو پرایمینگ باعث افزایش هیدرولیز نشاسته و تولید قندهای قابل‌دسترس بیشتر برای رشد جنین و تولید گیاهچه قوی‌تر، بهبود عملکرد دانه و کیفیت آن گردید (Farooq et al., 2006). در بذرهای یونجه با درصد جوانه‌زنی بالا، افزایش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در مراحل اولیه مشاهده شد (Zhang et al., 2007).



شکل ٦- اثر تیمارها بر فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز بذر مورد

در هر نمودار، ستون‌های دارای حرف مشترک، از نظر آماری در سطح احتمال ۱ ٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طورکلی نتایج این تحقیق استفاده از سولفوریک اسید برای شکست خواب بذر و تحریک جوانه‌زنی را توصیه می‌کند. با اعمال تیمار اسید سولفوریک ۵۰ درصد به مدت ۲۰ دقیقه بیشترین میزان جوانه‌زنی به مقدار ۶۴/۲۵ درصد و بیشترین سرعت جوانه‌زنی به مقدار ۱۲/۸ عدد در روز و بالاترین بنیه بذر (۲۲/۲۹ واحد) حاصل گردید. اسید سولفوریک دارای این خاصیت است که پوست بذر را نرم کرده و برای آب قابل نفوذ می‌نماید. اسید سولفوریک برای تحریک جوانه‌زنی بذرهای با پوسته‌های سخت و نسبتاً غیر قابل نفوذ به کار می‌رود. احتمالاً اسید سولفوریک از طریق ایجاد رخنه در پوسته بذر سبب کاهش مقاومت مکانیکی پوسته در برابر خروج گیاهچه و نیز باعث بالا رفتن نفوذپذیری پوسته بذر به آب و اکسیژن میشود و به این ترتیب نقش بازدارندگی پوسته در فرآیند جوانه‌زنی کاهش می‌یابد. بنابراین با توجه به نتایج، تیمار اسید سولفوریک تأثیر قابل ملاحظه‌ایی در جوانه‌زنی بذر مورد داشت. پس از این تیمار تیمار خراش‌دهی می‌تواند به‌عنوان جایگزین استفاده گردد و نتایج به‌دست آمده از تیمار خراش‌دهی با سنباده به تقریب در جایگاه دوم قرار داشت. همچنین نتایج نشان داد برخی از تیمارها مانند اسید سولفوریک ۵۰ درصد به مدت ۴۰ دقیقه، نیترات پتاسیم با غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام و خیساندن در آب ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ دقیقه سبب آسیب رسانی به بذر و کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی گردید.

References

Abdulbaki, A.A. and Anderson, J.D. 1975. Vigor determination in Soybean seed by multiple criteria. Crop Science. 13: 630-633.

Aboutalebi, A., Hasanzada, H. and Hosseini Farahi, M. 2012. Effect of Various treatments on seed germination characteristics of wild Ziziphus (*Ziziphus spina-christi*). World Applied Science Journal. 17: 900-904.

Agrawal, R.L. 1992. Seed Technology. Oxford and IBH publishing co. LTD. New Delhi. 430 p.

Allen, P.S. and Meyer, S.E. 2002. Ecology and ecological genetics of seed dormancy in Downy Brome. Weed Science. 50: 241-247.

Baskin, C.C. and Baskin, J.M. 1998. Seed, ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. Academic press. New York. 208 p.

Benech-Arnold, R.L. and Sanchez, R.A. 2004. Hand book of seed physiology application to agriculture. Food Products Press, Inc. New York. 501pp.

Bensch, C.N., Horak, M.J. and Peterson, D. 2003. Interference of redroot Pigweed (*Amaranthus Retroflexus*), *Palmer amaranth* (A. palmeri), and *common waterhemp* (A. rudis) in soybean. Weed Science. 51: 37-43.

Brazandeh, M M. 2001. Identification of essential oil components of Myrtle (*Myrtus communis* L.) Iranian Journal of Medicinal Aromatic. 6: 127-115. (In Persain).

Carleton, A.E., Cooper, C.S. and Wiesner, L.E. 1968. Effect of seed pod and temperature on speed of germination and seedling elongation of Sainfoin. Agronomy Journal. 60:81-84.

Demir, I. and Van de Venter H.A. 1999. The effect of priming treatments on the performance of Watermelon (*Citrullus lanatus*) seeds under temperature and osmotic stress. Seed Science and Technology. 27: 871-875.

Eisavand, H.R., Madah Arefi, H. and Tavakol-Afshari, R. 2006. Effects of various treatments on breaking seed dormancy of *Astragalus siliquosus*. Seed Science and Technology. 34:747-752. (In Persain).

Elias, S., Garay, A., Hanning, S. and Schweitzer, L. 2003. Seed testing services for cereals. Crop Soil News. 17: 1- 4.

Farooq, M., Basra, S.M.A., Khalid, M., Tabassum, R. and Mahmood, T. 2006. Nutrient homeostasis, metabolism of reserves and seedling vigor as affected by seed priming in coarse rice. Canadian Journal of Botany. 84: 1196-1202.

Gib, Z., Grubisi, D., Todorovi, S., Saj, L., Stojakovi, D. and Konjevi, R. 1998. Effects of nitrate-oxide releasing compounds on phytochrome-controlled germination of Empress tree seeds. Plant Growth Regulation. 26: 175-181.

Güleryüz, G., Kırmızı, S., Arslan, H. and Bayrak, M. 2021. Effects of pre-treatments in relation to breaking of dormancy of endemic *Hypericum adenotrichum* Spach. Seeds. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants. 25: https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2021.100344

Hardegree, S.P. and Winstral, A.H. 2006. Predicting of germination response to temperature. Three dimensional regression, statistical girding and iterative-probit optimization using measured and inter plated subpopulation data. Annual Botany. 98: 403-410.

Heidari Sharif Abad, H. 2009. Seed economics. Proc. 1'st Iran National Seed Science Technology. Gorgan, Iran. p: 4. (In Persain).

Jabari, R., Amini-Dehaghi, M. and Ganjiarjangi, F. 2009. Germination and loss of dormancy in Marigold (*Calendula persica* L.) medicinal plant. Tehran: The Scientific Conference on Industrial Development of Medicinal Plants in Iran, p. 276.

MackiZadeh Tafti, M., Farhoodi, R., Naghdi Badi, H. and MahdiZadeh, A. 2006. Determination of Best Treatment for Germination of Medicinal Plant Seed *Rubia tinctorum* L, *Echinacea angustifolia* D.C and *Myrtus communis* L. Iranian Journal of Medicinal Aromatic plants. 23: 105-116. (In Persain).

Schelin, M., Tigabu, M., Eriksson, I., Sawadogo, L. and Oden, P.C., 2003. Effect of scarification, gibberellic acid and dry heat treatments on the germination of *Balanites*

aegyptiaca seeds from the *Sudanian savanna* in Burkina Faso. Seed Science and Technology. 31: 605- 617.

Scott, S.J., Jones, R.A. and Williams, W.A. 1984. Review of data analysis method for seed germination. Crop Science. 24: 1192- 1199.

Sedeghi, M. and Nemati, A. 2010. Influence of Different priming materials on germination and seedling establishment of milk thistle (*Silybum marianum*) under Salinity Stress. World Applied Science Journal. 11: 604-609.

Tigabu, M., 2001. Effect of scarification, gibberellic acid and temperature on seed germination of two multipurpose *albizia* species from Ethiopia. Seed Science and Technology. 29: 11-20.

Xiao, Z., Storms, R. and Tsang, A. 2006. A quantitative starch-iodine method for measuring alphaamylase and glucoamylase activities. Analytical Biochemistry. 351: 146-148.

Yangui, I., Younsi, F., Ghali, W., Boussaid, M. and Messaoud, C. 2021. Phytochemicals, antioxidant and anti-proliferative activities of *Myrtus communis* L. genotypes from Tunisia. South African Journal of Botany. 137: 35-45.

Zargari, A. 1997. Medicinal Plants (Volume 4) . Tehran University press. pp: 4-103. (In Persain).

Zhang, S., Hu, J., Zhang, Y., Xie, X.J. and Knapp, A. 2007. Seed priming with brassinolide improves lucerne (*Medicago sativa* L.) seed germination and seedling growth in relation to physiological changes under salinity stress. Australian Journal of Agricultural Research. 58: 811-815.

Journal of Seed Research, Vol. 11, No. 3, Autumn 2021

Comparison of Stratification, Sulfuric Acid, Scarification, Potassium Nitrate and Hydro-priming Treatments on Germination Characteristics and Alpha Amylase Activity *Myrtus communis* L. Seed

Zeinab Keihanpour[1], Mohamadreza Salehi Salmi[2]*

[1]Master's Degree, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture,
Khuzestan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
[2]Associate Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture,
Khuzestan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Abstract

Myrtus is a tree that has been widely used in land space in recent decades, as well as this medicinal property. The seed of this plant has dormancy and its dormancy should be broken by various treatments to provide germination. In order to investigate seed dormancy breaking treatments, the study was conducted in a complete randomized design with 4 replications in 2015 in the Horticulture Physiology Laboratory of Agricultural Sciences and Natural Resource University of Khuzestan. Treatments included: control, scarification with sandpaper for 2 minutes, soaking in water 4, 25, 50°C by 30, 60 and 90 minutes, application of potassium nitrate in concentration 100, 500, 1000 ppm with immersion time for 24 hours, use 50% sulfuric acid for 5, 10, 20, 40 minutes and then wash 3 times with distilled water, stratification at 4 °C with times of 10, 20, 40 days. The results of comparing the means showed that by applying 50% sulfuric acid treatment for 20 minutes, the highest germination rate was 64.25% and the highest germination rate was 12.8 units per day and the highest seed vigor (22.29 units). Was obtained. After this treatment, sanding was almost in the second place. The results also showed that some treatments such as 50% sulfuric acid for 40 minutes, potassium nitrate at a concentration of 1000 ppm and soaking in water at 50 °C for 90 minutes caused seed damage and reduced germination indices. In general, it was found that the main obstacle to seed germination was the seed coat.

Keywords: Coat, Dormancy, Hormone, Priming, Propagation

*Corresponding author;