Iranian Journal of Field Crop Science
Vol 49, No 3, Autumn 2018 (185-201)
DOI: 10.22059/ijfcs.2018.249877.654433

علوم گیاهان زراعی ایران
دورهٔ ۴۹، شمارهٔ ۳، پائیز۱۳۹۷ (ص۲۰۱-۱۸۵)

بررسی مقاومت بذر ارقام مختلف برنج به جوانه‌زنی بذر قبل از برداشت

فاطمه منصورپور[۱]، سید محمدرضا احتشامی[۲*]، المیرا محمدوند[۳] و حمید درستی[۴]
۱.دانشجوی کارشناسی‌ارشد علوم و تکنولوژی بذر دانشگاه گیلان، ۲و۳ .اعضای هیأت علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان
۴ . مربی پژوهشی مؤسسه تحقیقات برنج کشور
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۰/۲۵ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۷/۰۱)

چکیده

به منظور ارزیابی و شناسایی ارقام مقاوم به جوانه‌زنی قبل از برداشت، ۲۰ رقم برنج شامل ۱۶ رقم بومی و چهار رقم اصلاح شده، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه شخصی واقع در روستای لله‌وجه‌سر در بندرکیاشهر استان گیلان، در بهار سال ۱۳۹۳ کشت شدند. صفات تاریخ خوشه‌دهی، گلدهی و مرحله رسیدگی فیزیولوژیک بذرها یادداشت‌برداری شد و خوشه‌ها در مرحله رسیدگی فیزیولوژیک برداشت شدند. در شرایط آزمایشگاهی، جوانه‌زنی روی خوشه، توسط دو روش غربال، شامل نمره جوانه‌زنی (Sprouting Score) و شاخص جوانه‌زنی (Sprouting Index)، ارزیابی شد و صفات خواب بذر، طول دوره پس‌رسی و فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز مورد مطالعه قرار گرفت. هم‌چنین پروتئین رقم دارای خواب و فاقد خواب، در مراحل اولیه جذب آب و طی دو شرایط دمایی (۱۵و ۲۵درجه سانتی‌گراد) ارزیابی شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که ارقام مورد مطالعه از نظر کلیه صفات مورد بررسی، تفاوت معنی‌داری داشتند. در هر دو روش غربال، ارقام دارای سطوح بالای خواب بذر، نسبت به جوانه‌زنی روی خوشه، مقاومت بالایی نشان دادند. اکثر ارقام بومی مورد بررسی در این پژوهش، نمره و شاخص جوانه‌زنی پایینی داشتند که نشان‌دهنده مقاومت آن‌ها به جوانه‌زنی قبل از برداشت است. نتایج تجزیه همبستگی نشان داد که بین نمره جوانه‌زنی و شاخص جوانه‌زنی با فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز، همبستگی مثبت و میان این دو صفت با شاخص خواب بذر (شدت خواب) و ضریب رگرسیون دوره پس‌رسی (دوام خواب)، همبستگی منفی وجود داشت. در این پژوهش مشاهده شد که شدت و دوام خواب بذر و اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز را می‌توان به‌عنوان صفاتی مهم، در ارزیابی مقاومت به جوانه‌زنی قبل از برداشت، در ارقام به‌کار گرفت. هم‌چنین اختلاف معنی‌داری بین میزان پروتئین جنین بذر رقم دارای خواب و بدون خواب مشاهده شد. در مجموع نتایج نشان داد که ارقام اصلاح شده درفک و خزر، حساس‌ترین و رقم بومی هاشمی، مقاوم‌ترین رقم به جوانه‌زنی قبل از برداشت می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: آلفاآمیلاز، پروتئین، خواب بذر، شاخص جوانه‌زنی، نمره جوانه‌زنی.

Resistance to pre-harvest seed sprouting in different rice cultivars (*Oryza sativa* L.)

Fatemeh Mansourpour 1, Seyyed Mohammad Reza Ehteshami 2 *, Elmira Mohammadand 3 and Hamid Dorati 4
1. Master of Science in Seed Science and Technology, Guilan University, 2nd and 3rd Faculty Members of the Faculty of Agriculture, University of Guilan
4. Research Institute of Rice Research Institute of Iran
(Received: January 15, 2018- Accepted: September 23, 2018)

ABSTRACT

In order to evaluate and identify the pre-harvest resistant rice cultivars (*Oryza sativa* L.), an experiment was conducted using 20 cultivars included 16 local and 4 improved cultivars in a randomized complete block design with three replications in a personal farm located at the lalevajesar village, Bandar Kiashahr, Guilan, Iran in 2014. . Heading and flowering dates and seedling growth stage of BBCH 89 were recorded on the field. The spikes were harvested at Zadoks stage 92 and the seeds moisture contents were measured immediately after harvesting. Two methods were used to evaluate pre-harvest sprouting including sprouting score and sprouting index under laboratory condition. The studied traits were seed dormancy, after ripening period, α-amylase activity and embryo protein levels under laboratory conditions. In both methods, high resistance to sprouting on the spike was observed in local Hashemi and Anbarbou cultivars with high levels of seed dormancy. Significant differences among studied cultivars were observed for phenological and biochemical characteristics of rice grain. Mean while, there were significant positive correlations between sprouting score and sprouting index with α-amylase activity and there were significant negative correlation between these two traits with seed dormancy index (dormancy severity) and after-ripening regression coefficient (dormancy duration). Protein content of seed embryo was significantly different between dormant and non-dormant seeds in the earliest stages of water absorption under heat treatments. In this study, it was observed that seed dormancy severity, dormancy duration and measurement of α-amylase activity can be used as important traits for evaluation of resistant cultivars to pre-harvest sprouting. Cultivars classified into three groups based on cluster analysis. Overall, the results showed that Dorfak and Khazar improved cultivars and the Hashemi local cultivar were the most sensitive and resistant cultivars to pre-harvest sprouting. These findings provide further evidence of appropriate genetic diversity among cultivars in the case of studied traits that underscore the importance to use in breeding programs for resistance to pre-harvest sprouting.

Keywords: α-Amylase, Protein, Seed dormancy, Sprouting Index, Sprouting Score.

* Corresponding author E-mail: smrehteshami@guilan.ac.ir

مقدمه

بعد از گندم، برنج مهم‌ترین گیاه زراعی دنیا و غذای اصلی بیش از نیمی از مردم جهان است که سالیانه تقریباً ۳۵ تا ۷۰ درصد از کالری مورد نیاز سه میلیارد نفر از جمعیت دنیا را تأمین می‌کند (FAO, 2011). اغلب برنامه‌های به‌نژادی گیاهان زراعی، به‌ویژه برنج، با گزینش ژنوتیپ‌های دارای قابلیت جوانه‌زنی سریع بذر و زودرسی همراه است.اما چنین ویژگی می‌تواند منجر به جوانه‌زنی زودهنگام بذرها در مرحله پس از رسیدگی فیزیولوژیکی و قبل از مرحله برداشت برنج شود. این پدیده اصطلاحاً جوانه‌زنی قبل از برداشت[1] () نامیده می‌شود (Nouri nia, 2002). پدیده‌ی جوانه‌زنی قبل از برداشت، در رطوبت بالا و هنگام رسیدن بذر اتفاق می‌افتد (Simsek *et al*., 2014). در چند سال اخیر، جوانه‌زنی قبل از برداشتف یکی از مهم‌ترین عوامل کاهش عملکرد و کیفیت محصولات کشاورزی، در مناطق دارای شرایط آب و هوایی مرطوب و با بارندگی مداوم در فصل برداشت بوده است و خسارات زیادی به صنعت کشاورزی وارد نموده است (Gao *et al*., 2013; Sasaki *et al*., 2013). این پدیده، منجر به از دست‌دادن وزن دانه و کاهش کیفیت بذر در غلات، حبوبات، گندم و برنج می‌شود (Bewley *et al*., 2013). جوانه‌زنی قبل از برداشت، توسط شرایط محیطی، عوامل درونی و تعامل بین این عوامل تعیین می‌شود. از جمله عوامل مؤثر بر مقاومت به جوانه‌زنی قبل از برداشت می‌توان به خواب بذر، نفوذپذیری پوسته بذر و رنگ، فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز، سطح هورمون‌های درون‌زاد، ژن‌ها و جایگاه صفات کمی[2] اشاره نمود (DePauw et al., 2012; Gao et al., 2013; Wu et al., 2016). علاوه‌بر موارد فوق، عوامل محیطی از قبیل رطوبت، درجه حرارت و میزان بارندگی می‌توانند بر روی تحمل ارقام به جوانه‌زنی قبل از برداشت تأثیر بگذارند. عوامل بالقوه‌ی دیگری نیز در مقاومت به جوانه‌زدن قبل از برداشت در شرایط مزرعه‌ای دخیل هستند؛ مواد بازدارنده در پوسته، موانع فیزیکی به نفوذ آب در سنبله و مورفولوژی سنبله مانند ساختار و ایستادگی سنبله گندم، باز بودن گلچه و سختی پوشینه از جمله این عوامل هستند (Liu *et al*., 2013). خواب بذر[3] ، یکی از صفات مهم در مقاومت به جوانه‌زنی قبل از برداشت است (Liu *et al*., 2013; Wu *et al*., 2016). خواب، عامل سازگاری گیاه با محیط است. همبستگی مثبت و معنی‌داری بین مقاومت به جوانه‌زنی قبل از برداشت و خواب بذر در غلات مشاهده شده است (Gao *et al*., 2013). علت اصلی بروز پدیده جوانه‌زنی قبل از برداشت در ارقام برنج، کوتاه شدن دوره خواب ژنوتیپ‌های اصلاح شده می‌باشد (Wan *et al*., 2006). اگرچه مکانیزم‌های مکانیکی و فیزیکی مرتبط با ساختار خوشه و پوسته بذر می‌تواند در ممانعت از جوانه‌زنی قبل از برداشت مؤثر باشد، اما خواب بذر، عامل اصلی و اولیه پیشگیری از این پدیده است (Strand, 1980).

بسته به گونه‌های گیاهی، شرایط محیطی (درجه حرارت و یا رژیم‌های حرارتی متفاوت) که دوره پس‌رسی را تحت تأثیر قرار می‌دهند متغیر است. طول مدت دوره پس‌رسی نیز به شدت متغیر است و از چندین روز تا چندین ماه و یا حتی طولانی‌تر در بین واریته‌ها امکان‌پذیر می‌باشد. در گونه‌های مختلف غلات، دوره پس‌رسی در شرایط خشک و گرم صورت می‌گیرد (Etezadijam *et al*., 2005). در طول دوره پس‌رسی، هم در پوشش بذر و هم در جنین، تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی روی می‌دهد که سبب افزایش توانایی جوانه‌زنی می‌شود (Gomez & Zentella., 2001).

برخی از آنزیم‌ها در حذف خواب و جوانه‌زنی بذر، نقش اساسی دارند (Xie *et al*., 2007). ارتباط مهمی میان آنزیم آلفاآمیلاز و مقاومت به جوانه‌زنی قبل از برداشت وجود دارد. در صورت جذب آب کافی، فعالیت آلفاآمیلاز، به سرعت افزایش می‌یابدو به جوانه‌زدن بذر منجر می‌شود (Gao *et al*., 2013). در شرایط مرطوب و زمانی که بذر در حالت استراحت است، ممکن است میزان آنزیم آلفاآمیلاز ، بدون تغییر در وضعیت ظاهری بذر، افزایش یابد. این پدیده، در مراحل ابتدایی اتفاق می‌افتد (Muralikrishna & Nirmala, 2005). مشخص شده است که فعالیت آلفاآمیلاز، در بین ارقام گندم مقاوم و حساس به جوانه‌زنی قبل از برداشت، تفاوت معنی‌داری دارد. براین اساس، هنگام جوانه‌زنی بذر، فعالیت آلفاآمیلاز بیش‌تر شده و در هنگام خواب، در کم‌ترین مقدار خود می‌باشد (Yuan *et al*., 2005). در برنج نیز آمیلاز و اینورتاز، دو آنزیم تجزیه‌کننده مهم هستند که میزان قند

1. Pre-harvest Sprouting
2. Quantitative trait locus
3. Seed dormancy

را در بذرهای در حال جوانه‌زنی، افزایش می‌دهند (Mitra *et al.*, 1976). متابولیسم کربوهیدرات‌ها در چرخه گلیکولیز و کربس، وابسته به انرژی مربوط به متابولیسم پروتئین‌ها است (He *et al.*, 2011). بر اساس نتایج تحقیقات، اثر جوانه‌زنی قبل از برداشت بر روی محصول نهایی، به مقدار آنزیم‌های موجود در بذر و شکسته شدن مقدار کم پروتئین، نشاسته و چربی بستگی دارد (Simsek *et al.*, 2014). این پژوهش، به‌منظور مطالعه‌ی میزان حساسیت ارقام مختلف برنج به جوانه‌زنی قبل از برداشت انجام شد. هم‌چنین، مطالعه صفات مرتبط با مقاومت به جوانه‌زنی قبل از برداشت و گروه‌بندی ارقام برنج براساس این صفات، جهت انتخاب مؤثرتر ارقام مقاوم، از دیگر اهداف این پژوهش بود.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، ۲۰ رقم برنج رایج منطقه شامل ارقام بومی (بینام، چمپابودار، حسنی، حسن‌سرایی، دم‌سرخ، دم‌سفید، دیلمانی، دم‌سیاه، سالاری، سنگ‌جو، شاه‌پسند، عنبربو، علی‌کاظمی، غریب، میرطارم، هاشمی) و اصلاح‌شده (خزر، درفک، سپیدرود، گوهر)، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و با سه تکرار، در مزرعه‌ای شخصی، واقع در روستای لله‌وجه‌سر در بندرکیاشهر استان گیلان کشت شدند. این مزرعه، با طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۳ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۲۳ دقیقه شمالی، در ارتفاع ۹- متر از سطح دریاهای آزاد قرار دارد. بافت خاک زمین زراعی محل انجام آزمایش، از نوع رسی بود. پس از آماده‌کردن زمین اصلی آزمایش، مزرعه آزمایشی بلوک‌بندی شد و شماره تیمارها در هر بلوک، به‌صورت تصادفی و بر اساس قرعه‌کشی، مشخص شد. پس از مشخص شدن شماره هر تیمار در بلوک‌ها، گیاهچه‌های برنجدر تاریخ ۹۳/۲/۲۱، به زمین اصلی انتقال یافتند. هر رقم (هر تیمار)، در چهار ردیف سه متری کاشته شد و فاصله بین و روی ردیف‌ها، ۲۵ سانتی‌متر و فاصله بین تکرارها، یک متر و فاصله بین ارقام، نیم متر در نظر گرفته شد. کلیه عملیات زراعی از قبیل وجین، مبارزه با آفات و بیماری‌ها و سایر عملیات‌های داشت مزرعه، به‌طور هم‌زمان در کلیه کرت‌ها و در طی فصل رشد انجام شد. در طول فصل رشد، تاریخ ۵۰ درصد خوشه‌دهی، گلدهی و زمان رسیدگی فیزیولوژیک بذرها، از زمان بذرپاشی در خزانه یادداشت‌برداری شد. در مرحله رسیدگی فیزیولوژیک، بوته‌های مزرعه زرد می‌شوند و از نظر فیزیولوژیک هیچ تبادلی بین بذر و گیاه مادری انجام نمی‌شود و دانه به بیشینه وزن خشک خود رسیده است (Bewley *et al.*, 2013). در این مرحله، تعداد ۲۵ خوشه سالم از هر تیمار انتخاب و بلافاصله پس از برداشت، درصد رطوبت بذر اندازه‌گیری شد. خوشه‌های برداشت شده به‌مدت ۴۸ ساعت، در دمای اتاق و در معرض هوا نگهداری شدند تا این رطوبت بذر به حدود ۱۴ درصد برسد و برای حفظ خواب بذر و عدم تغییرات متابولیکی آن‌ها، تا زمان آزمایش، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Tavakol Afshari and Yazdi Samadi, 2000). برای اندازه‌گیری صفت جوانه‌زنی روی خوشه، ده خوشه سالم از هر واحد آزمایشی انتخاب شدند و به مدت سه ساعت در داخل آب مقطر خیسانده شدند. سپس خوشه‌های خیسانده شده در داخل کیسه پلاستیکی قرار داده شدند و در آن چند سوراخ برای تبادل اکسیژن مورد نیاز برای تنفس بذر ایجاد شد. هم‌چنین، برای ایجاد محیطی کاملاً مرطوب، ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر درون هر کیسه پلاستیکی پاشیده شد. کیسه‌های حاوی خوشه‌ها، در انکوباتور با رطوبت نسبی ۱۰۰ درصد قرار داده شدند. طول دوره روشنایی و تاریکی، به‌ترتیب ۱۶ و ۸ ساعت بود و درجه حرارت، بر روی ۲۵ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد (به‌ترتیب برای ۱۶ و ۸ ساعت) تنظیم شد (Ren *et al.*, 2009). پس از یک هفته، خوشه‌ها از داخل انکوباتور خارج شدند و جوانه‌زنی روی خوشه، به دو روش تعیین نمره جوانه‌زنی براساس روش Clark *et al.* (1994) و شاخص جوانه‌زنی براساس روش Hucl (1995) اندازه‌گیری شد. در تعیین نمره‌جوانه‌زنی براساس روش کلارک، به خوشه‌ها نمره یک تا نه داده شد به‌طوری‌که، یک (جوانه‌نزده)، دو (کم‌تر از چهار درصد)، سه (پنج تا ۱۵ درصد)، چهار (۱۶ تا ۲۵ درصد)، پنج (۲۶ تا ۴۵ درصد)، شش (۴۶ تا ۶۵ درصد)، هفت (۶۶ تا ۸۵ درصد)، هشت (۸۶ تا ۹۵ درصد) و نه (بیش از ۹۵ درصد) بود. در تعیین شاخص جوانه‌زنی، به هر یک از خوشه‌ها از صفر تا پنج نمره داده شد که در آن، صفر به‌عنوان خوشه‌های جوانه‌نزده و پنج به‌عنوان خوشه‌های صد درصد جوانه‌زده در نظر گرفته شد. شاخص جوانه‌زنی از رابطه (۱) محاسبه شد:

$$\text{شاخص جوانه‌زنی} = (\Sigma(0-5)/n \times 5) \times 100 \quad \text{رابطه (۱)}$$

در این رابطه، n تعداد خوشه را نشان می‌دهد.

جهت انجام آزمون خواب بذر، به‌دلیل اختلاف بذر در قسمت ابتدایی و انتهایی خوشه، فقط قسمت وسط خوشه‌های سالم برای آزمایش انتخاب شدند. برای ضدعفونی، بذرهای برنج به مدت ۳۰ ثانیه در محلول وایتکس۱۰ درصد غوطه‌ور شدند و بلافاصله با آب مقطر شستشو داده شدند. سپس ۵۰ بذر هر ژنوتیپ، در یک ظرف پتری، با قطر ۱۰سانتی‌متر و دارای یک لایه کاغذ صافی، قرار داده شدند. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. سپس ظرف‌های پتری در داخل انکوباتور (D-38678 Clausthal-Zellerfeld, Binder, USA) و در درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از یک هفته، ظرف‌های پتری از داخل انکوباتور خارج شدند و تعداد بذرهای جوانه‌زده شمارش شد و در پایان، درصد خواب بذر با استفاده از رابطه (۲) (Tavakol Afshari & Yazdi Samadi, 2000) و شاخص خواب بذر با استفاده از رابطه (۳) (Schuurink et al.,1992) محاسبه شد. برای برآورد اثر درجه حرارت بر جوانه‌زنی و خواب بذر، آزمایش بالا، دوباره و در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد تکرار شد و داده‌های حاصل از جوانه‌زنی بذر در دو درجه حرارت، طبق فرمول، جهت برآورد ضریب خواب در دمای مربوطه مورد استفاده قرار گرفت (Roozeboom *et al*., 1999).

رابطه (۲)

$$\text{درصد خواب بذر} = \frac{((50-n)\times 2)}{100}$$

در این رابطه، n برابراست با تعداد بذرهای جوانه‌زده

رابطه (۳)

$$\text{شاخص خواب بذر} = \frac{[(DI15\times 2)+(DI25)]}{3}$$

در این رابطه: DI15، درصد بذرهای خواب در ۱۵درجه سانتی‌گراد و DI25، درصد بذرهای خواب در ۲۵درجه سانتی‌گراد است. برای اندازه‌گیری دوره پس‌رسی (After ripening)، ۳۰۰ بذر از هر ژنوتیپ جدا شد و از فریزر خارج گردید. به‌دلیل اختلاف بذر در قسمت ابتدایی و انتهایی خوشه، فقط قسمت وسط خوشه‌های سالم برای آزمایش انتخاب شدند و تحت شرایط کنترل‌شده تاریکی، در انکوباتوری با درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۵ درصد نگهداری شدند. در اولین روز خروج از فریزر، ۵۰ بذردر داخل ظرف پتری قرار گرفت و در هفته‌های بعد (تا هفته پنجم)، هر هفته، ۵۰ بذر جدا شد و آزمایش تکرار شد و داده‌های مربوط به هر هفته، به‌طور جداگانه ثبت شدند و در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار تجزیه شدند (ISTA, 2008).

فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز (Alpha amylase activity)، به روش سنجش آنزیمی و با استفاده از معرف DNS (3, 5 dinitro Salicylic acid) اندازه‌گیری شد.

جهت شناخت هر چه بیش‌تر اساس بیوشیمیایی حفظ یا شکستن خواب بذر، الگوی پروتئینی جنین بذرهای برنج خواب و فاقد خواب، در مراحل اولیه جذب آب، به روش برادفورد (Bradford, 1976) مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور دو آزمایش انجام شد؛ در آزمایش اولف دو ژنوتیپ فاقد خواب و دارای خواب عمیق انتخاب شدند. دو رقم مورد نظر، با دو تکرار، تحت دو تیمار جذب آب (۲۴ و ۳۶ ساعت) و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. در آزمایش دوم، مدت زمان تیمارهای جذب آب، ۱۸ و ۳۶ ساعت بود؛ ضمن این که تیمار حرارتی در آزمایش دوم، ۱۵ درجه سانتی‌گراد بود. بعد از اعمال تیمار ، جنین از داخل بذر بیرون آورده شد و سپس با قرار دادن جنین‌ها در نیتروژن مایع، فعالیت‌های حیاتی جنین‌ها کاملاً متوقف شد و پروتئین جنین‌ها مورد بررسی قرار گرفت. تمامی آزمایش‌ها در آزمایشگاه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان انجام شد. از آن‌جا که درصد جوانه‌زنی در تمام آزمون‌ها، طیف وسیعی از اختلافات را نشان می‌داد، ابتدا داده‌ها به‌صورت زاویه‌ای تبدیل شدند و سپس تجزیه واریانس انجام شد. پس از کنترل فرضیات مورد نیاز برای تجزیه واریانس (نرمال بودن توزیع داده‌ها و یکنواختی واریانس‌ها)، داده‌های مربوطه در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی تجزیه شدند. مقایسات میانگین صفات، با استفاده از آزمون توکی صورت گرفت. نیز تجزیه واریانس داده‌های دوره پس از رسیدگی، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و برای هر هفتهT به‌طور جداگانه انجام شد. هم‌چنین، تمامی داده‌های مربوط به آزمون دوره پس‌رسی، در قالب طرح کرت‌های خرد شده در زمان نیز تجزیه شدند. در این طرح، فاکتور هفته‌های پس‌رسی، به‌عنوان فاکتور فرعی و رقم، به‌عنوان فاکتور

اصلی در نظر گرفته شد. علاوه بر این، بین هفته‌های پس‌رسی و درصدجوانه‌زنی دانه‌ها، معادله رگرسیونی برای هر یک از ژنوتیپ‌ها در هر تکرار برازش داده شد. ضرایب رگرسیون معادلات که پس از این، تحت عنوان "ضرایب رگرسیون دوره پس‌رسی" مطرح می‌باشند، از معادلات رگرسیونی استخراج شدند و برای آن‌ها، تجزیه واریانس انجام شد. ضرایب همبستگی ساده، بین تمامی صفات به دست آمد. برای گروه‌بندی ارقام، از تجزیه کلاستر (خوشه‌ای) استفاده شد. تجزیه آماری با استفاده از نرم افزار SAS و رسم جداول و نمودارها، با نرم افزار Excelانجام شد.

نتایج و بحث

صفات فنولوژیک

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین صفات فنولوژیک ارقام، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که رقم اصلاح شده گوهر و رقم بومی حسنی، به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین تعداد روز تا ۵۰ درصد خوشه‌دهی، گلدهی و رسیدگی فیزیولوژیک را داشتند (جدول ۲). در پژوهشی روی ۲۵ رقم برنج ایرانی و خارجی، با مطالعه تنوع وراثتی و همبستگی صفات مهم زراعی ، مشاهده شد که اختلاف بین ارقام مورد بررسی در ۱۴ صفت (مدت زمان تا خوشه‌دهی، مدت زمان رسیدن و تعداد دانه در خوشه و ...)، ، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (Agahi *et al.*, 2012).

جدول۱- تجزیه واریانس صفات فنولوژیک در ۲۰ رقم برنج

Table 1. Analysis of variance of fenologic traits of 20 rice cultivars

S.O.V	df	Mean Squares			
		Number of days from seeding to ear emergence	Number of days from seeding to flowering	Number of days from seeding to ripening	Seed Moisture content
Block	2	25.35**	27.65**	12.11 ns	0.45 ns
Cultivar	19	109.38**	105.77**	138.75**	0.46**
Error	38	4.43	4.93	5.06	0.43
CV(%)	-	2.26	2.35	1.83	3.91

*، ** و ns ؛ به ترتیب نشان دهنده‌ی معنی‌دار بودن در سطح احتمال پنج و یک درصد و غیر معنی‌دار بودن است.

*, ** and ns indicate significancant at 5% and 1% probability levels and not significant, respectively.

جدول۲- مقایسه میانگین صفات فنولوژیک در ۲۰ رقم برنج

Table2- Mean comparsion of fenologic traits of 20 rice cultivars

Rice Cultivars	Number of days from seeding to ear emergence	Number of days from seeding to flowering	Number of days from seeding to ripening
Binam	92.6 cg	92.66 df	126.33 bd
Champa boudar	94 bd	95.33 bf	120 df
Hasansaraie	91.6 ch	91.66 dh	123 ce
Hasani	84 i	84 h	113 f
Khazar	97 bd	98.66 bd	127 ad
Dorfak	96 be	98 bd	127 ad
Doumsorkh	90 di	91.33 dh	119 df
Doumsiyah	92.66 cg	94.33 cf	127 ad
Doumsefid	101.33 ab	102.66 ab	132 ab
Deylamani	85.33 gi	87.33 gh	115 ef
Salari	88.6 ei	90 eh	117 ef
Sepidroud	96.33 bd	97.66 be	127 ad
Sangjou	84.66 hi	86.66 gh	113 f
Shahpasand	101 ab	101.66 ac	131 ac
Anbarbou	97.66 bc	99 bd	131 ac
Alikazemi	88 gi	90 eh	120 df
Gharib	96.66 bd	98.66 bd	123 ce
Gouhar	107 a	107 a	135 a
Mirtarom	91.3 ci	92 df	115 ef
Hashemi	88 gi	89.33 gh	115 ef

میانگین‌هایی که در هر ستون، حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، فاقد اختلاف معنی‌دار با آزمون توکی و در سطح یک درصد نداشتند.

Means with the same letter in in the same coulumn had no significant diffrence based on touky test at 1% probability level.

هم‌چنین تجزیه واریانس نشان دهنده معنی‌داری اختلاف درصد رطوبت بذر در سطح یک درصد بود (جدول۱). بنابراین، میزان رطوبت بذر در مرحله رشدی زادکس ۹۲ در میان ارقام متفاوت بود و این احتمال وجود

دارد که در مطالعه صفت جوانه‌زنی قبل از برداشت و خواب بذر، تفاوت بین میانگین تیمارها، علاوه بر اینکه تابع صفت مورد بررسی است، تحت تأثیر مقدار رطوبت بذر نیز باشد. نتایج تجزیه کواریانس در جدول۳ آمده است. نتایج نشان می‌دهد که متغیر رطوبت، به‌عنوان کواریت در هیچ یک از موارد، معنی‌دار نشد و بنابراین، هیچ گونه تأثیری در اریبی برآورد صفات مورد بررسی، نداشته است؛ بنابراین، هیچ گونه تصحیحی در داده‌های مربوط به آزمایش صورت نگرفت. در پژوهشی که به‌منظور بررسی تأثیر زمان برداشت بر جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه چهار رقم کلزا انجام شد، نتایج حاکی از آن بود که بین گیاهچه‌های ارقام کلزا، از نظر کلیه صفات مورد مطالعه و در زمان‌های مختلف برداشت، اختلاف معنی‌داری وجود داشت. هم‌چنین گزارش شد که تأخیر در زمان برداشت و کاهش رطوبت بذر تا حد کم‌تر از ۲۰ درصد، باعث بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه می‌شود (Sadeghi *et al*., 2008).

جدول ۳- تجزیه کوواریانس صفات مرتبط با جوانه‌زنی قبل از برداشت در ۲۰ رقم برنج

Table3- covariance analysis of pre-harvest sprouting traits of 20 rice cultivars

S.O.V	df	Mean Squares					
		present of Seed Dormancy in 15°c	present of Seed Dormancy in 25°c	Dormancy Index	Sprouting Score	Sprouting Index	α-Amylase activity
Block	2	0.000065 ns	0.0019 ns	1.64 ns	0.30 ns	1.47 ns	0.00004 ns
Cultivar	19	0.0020 **	0.060 **	121.58 **	18.97 **	1739.24 **	0.0003 **
Moisture present	1	0.000004 ns	0.0004 ns	0.76 ns	0.22 ns	1.87 ns	0.00007 ns
Error	37	0.00007	0.0009	2.14	0.22	8.21	0.00002

ns،** ، به ترتیب نشان دهنده‌ی معنی‌دار بودن در سطح احتمال پنج و یک درصد و غیر معنی‌دار بودن است.

*, ** and ns indicate significancant at 5% and 1% probability levels and not significant, respectively.

نمره جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تفاوت بین ارقام در نمره جوانه‌زنی، در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول۴). هم‌چنین مقایسه میانگین برای نمره جوانه‌زنی نشان داد که از بین ارقام بومی و اصلاح شده، ارقام اصلاح شده درفک و خزر، با اختلاف بسیار معنی‌داری با سایر ارقام، دارای بیش‌ترین نمره جوانه‌زنی (جدول۵) و به‌عبارتی دارای کم‌ترین مقاومت به جوانه‌زنی قبل از برداشت بودند. هم‌چنین ارقام بومی هاشمی و عنبربوف کم‌ترین نمره جوانه‌زنی را به خود اختصاص دادند که نشان‌دهنده مقاومت خوب این ارقام به جوانه‌زنی قبل از برداشت می‌باشد. اکثر ارقام بومی موجود در این آزمایش، از نمره جوانه‌زنی پایینی برخوردار بودند که نشان‌دهنده مقاومت آن‌ها به جوانه‌زنی قبل از برداشت است. در پژوهشی، با بررسی صفت نمره جوانه‌زنی ۲۳ رقم برنج رایج منطقه گیلان، اعم از ارقام بومی و اصلاح شده، گزارش شد که ارقام اصلاح شده خزر و دیلم، کم‌ترین مقاومت به جوانه‌زنی قبل از برداشت را داشتند و اکثر ارقام بومی مانند بینام، دم‌زرد، غریب و موسی‌طارم، از مقاومت خوبی برخوردار بودند (Dorosti *et al*., 2012). در پژوهشی دیگر، صفت نمره جوانه‌زنی ۵۰ رقم برنج رایج منطقه مازندران، اعم از ارقام بومی و اصلاح شده مورد بررسی قرار گرفت؛ طبق نتایج این تحقیق، رقم بومی بینام، کم‌ترین نمره جوانه‌زنی را به خود اختصاص داد و به‌عبارتی، دارای بیش‌ترین مقاومت به جوانه‌زنی قبل از برداشت بود و رقم اصلاح شده نعمت، بیش‌ترین نمره جوانه‌زنی را داشت (Karbalaie & Soudaimashaie, 1998).

شاخص جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس شاخص جوانه‌زنی، تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال یک درصد نشان داد (جدول۴) که این تفاوت، گویای این مطلب است که ژنوتیپ‌ها، پاسخ‌های متفاوتی در مقاومت به جوانه‌زنی روی خوشه از خود نشان داده‌اند. مقایسه میانگین شاخص جوانه‌زنی، مشابه نتایج حاصل از مقایسه میانگین نمره جوانه‌زنی بود به‌طوری‌که، از میان ارقام بومی و اصلاح شده، ارقام اصلاح شده درفک و خزر، با اختلاف بسیار معنی‌داری با سایر ارقام، دارای بیش‌ترین شاخص جوانه‌زنی بودند (جدول۵). هم‌چنین ارقام بومی هاشمی و عنبربو، کم‌ترین شاخص جوانه‌زنی را به خود اختصاص دادند که نشان‌دهنده مقاومت خوب این ارقام به جوانه‌زنی قبل از برداشت می‌باشد. اکثر ارقام بومی

موجود در این آزمایش، از شاخص جوانه‌زنی پایینی برخوردار بودند که نشان‌دهنده مقاومت آن‌ها به جوانه‌زنی قبل از برداشت است ؛ در این راستا، نتایج مشابهی از دیگر پژوهشگران نیز گزارش شده است (Dorosti *et al*.,2012). اندازه‌گیری شاخص جوانه‌زنی، روش دیگری برای اندازه‌گیری مقاومت به جوانه‌زنی روی خوشه می‌باشد. این روش، نسبت به روش تعیین نمره جوانه‌زنی، اختلافات موجود در میان ژنوتیپ‌ها را با دقت و قدرت بیش‌تری به‌دست می‌آورد. اما با توجه به این‌که روش نمره جوانه‌زنی، روش ساده‌ای است، وقتی که تعداد نمونه‌ها زیاد باشد، از آن برای غربال کردن نمونه‌ها استفاده می‌شود. زمانی که تعداد نمونه‌ها کم است و یا به دقت بالایی نیاز است، از روش شاخص جوانه‌زنی استفاده قرار می‌شود (Gomez & Zentella, 2001). در روش تعیین نمره جوانه‌زنی، ملاک جوانه‌زنی روی خوشه، تنها یک بذر جوانه‌زده است (Clark *et al*., 1994)؛ به‌همین دلیل، این روش از دقت بالائی برای اندازه‌گیری جوانه‌زنی روی خوشه برخوردار نیست (Tavakol Afshari & Yazdi Samadi, 2000).

خواب بذر

نتایج تجزیه واریانس درصد خواب بذر در هر دو شرایط حرارتی (۱۵ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد) و شاخص خواب بذر، اختلاف معنی‌داری را در سطح احتمال یک درصد نشان داد (جدول۴). در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد، رقم اصلاح‌شده درفک، کم‌ترین میزان خواب بذر را از خود نشان داد و سایر ارقام، دارای خواب بودند و جوانه‌زنی در آن‌ها دیده نشد. در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نیز رقم اصلاح‌شده درفک، کم‌ترین سطح خواب را داشت و بعد از آن، رقم اصلاح‌شده خزر قرار گرفت (جدول۵). در پژوهشی با بررسی چگونگی اثر دما بر خواب بذر مشاهده شد که درجه حرارت، با تغییر در سیالیت غشای بذر، باعث تغییر در خواب بذر می‌شود (Hilhorst, 2007). به‌طورکلی، بذرها تمایل به خواب در دمای پایین و طول روز طولانی دارند اما گاهی اوقات دمای پایین و رطوبت بالا، باعث شکستن خواب و افزایش جوانه‌زنی بذر می‌شود. واریته‌های مختلف، دوره‌های مختلفی از خواب دارند. ارقام با دوره خواب کوتاه‌تر، به آسانی، قبل از برداشت و در شرایط آب و هوایی نامساعد بعد از بلوغ، جوانه می‌زنند (Gao *et al*., 2013). شاخص خواب بذر، بیان‌کننده شدت خواب بذر می‌باشد (Etezadijam *et al*., 2005a). مقایسه میانگین شاخص خواب بذر نشان داد که رقم اصلاح شده درفک، با اختلاف بسیار معنی‌داری با سایر ارقام، کم‌ترین سطح خواب را داراست و رقم اصلاح‌شده خزر، بعد از آن قرار گرفت (جدول۵)؛ نتایج Dorosti *et al.* (2012) نیز تایید کننده نتایج این تحقیق می‌باشد. گزارش شده است که شدت خواب بذر، صفت مهم مرتبط با مقاومت به جوانه‌زنی قبل از برداشت است (Etezadijam *et al*., 2005a). محققان گزارش کردند که جوانه‌زنی، در نتیجه شکستن خواب بذر رخ می‌دهد که یک فرآیند فیزیولوژیک است (Bainotti *et al*., 2009). خواب بذر، یکی از صفات مهم در مقاومت به جوانه‌زنی قبل از برداشت است. هرچه خواب بذر بیش‌تر باشد، مقاومت به جوانه‌زنی قبل از برداشت نیز بیش‌تر می‌شود (Wu *et al*., 2016)

فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز

تفاوت فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز در بین ارقام مختلف، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیش‌ترین فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز را ارقام اصلاح شده درفک و خزر و رقم بومی حسنی و کم‌ترین فعالیت آنزیم را ارقام بومی هاشمی، دیلمانی و دم‌سیاه به خود اختصاص داده‌اند (جدول۳). مقدار آنزیم آلفاآمیلاز در غلات، به وضعیت طبیعی بذر یعنی رسیده بودن، در حال استراحت بودن و یا جوانه‌زنی وابسته است (Muralikrishna & Nirmala, 2005). بین فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز و مقاومت به جوانه‌زنی قبل از برداشت، ارتباط مهمی وجود دارد (Gao *et al*., 2013). هنگامی که بذر جوانه می‌زند، فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز بیش‌تر می‌شود و هنگام خواب، در کم‌ترین مقدار خود می‌باشد (Yuan *et al*., 2005). طبق بررسی‌های انجام شده، مشاهده شد که ارقام اصلاح شده درفک و خزر، فاقد خواب بودند و فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز در آن‌ها بالا بود که منجر به جوانه‌زنی این ارقام شد. بنابراین، می‌توان بیان داشت که این ارقام، حساس‌ترین ارقام به جوانه‌زنی قبل از برداشت می‌باشند. در مقابل، ارقام هاشمی، دم‌سیاه و دیلمانی، با دارا بودن سطح خواب بالا و فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز پایین، مقاوم‌ترین ارقام به جوانه‌زنی قبل از برداشت می‌باشند. نتایج پژوهشی که به‌منظور بررسی

فعالیت آنزیم‌های آلفاآمیلاز، لیپاز و لیپواکسیژناز و تغییر فعالیت آن‌ها در قبل و بعد از دوره جوانه‌زنی، در سه رقم گندم (مهدوی، کویر و M ۷۳۱۸) منطقه اصفهان انجام شد، حاکی از آن بود که در اثر جوانه‌زنی، فعالیت آنزیمی آلفاآمیلاز و لیپاز افزایش یافت و روند افزایش آن ادامه یلافت ، در صورتی‌که، فعالیت آنزیمی لیپواکسیژناز، از یک روند افزایشی پیروی نمی‌کرد و تغییرات فعالیت لیپواکسیژناز نیز بسیار کم بود. هم‌چنین طی جوانه‌زنی، فعالیت آلفاآمیلازی، از یک روند بسیار تند برخوردار بود و فعالیت آن ، افزایش زیادی یافت (Muharrami *et al.*, 2009).

جدول۴- تجزیه واریانس صفات مرتبط با جوانه‌زنی قبل از برداشت در ۲۰ رقم برنج

Table 4. Analysis of variance of pre-harvest sprouting traits of 20 rice cultivars

S.O.V	df	Mean Squares					
		Percent of seed dormancy in 15˚c	Percent of seed dormancy in 25˚c	Dormancy Index	Sprouting Score	Sprouting Index	α-Amylase activity
Block	2	0.00007 ns	0.001 ns	1.88 ns	0.28 ns	1.66 ns	0.00006 ns
Cultivar	19	0.002**	0.06**	121.76*	18.97**	1740.08**	0.0003**
Error	38	0.00007	0.00001	2.10	0.22	8.05	0.00002
CV(%)	-	0.85	3.27	1.48	26.01	16.18	18.04

*، ** وns، به ترتیب نشان دهنده‌ی معنی‌دار بودن در سطح احتمال پنج , یک درصد و غیر معنی‌دار بودن است.

*, ** and ns indicate significancant at 5% and 1% probability levels and not significant, respectively.

جدول۵- مقایسه میانگین صفات در ۲۰ رقم برنج

Table5- Mean comparsion of traits of 20 rice cultivars

Rice Cultivars	Seed Dormancy present at 15°C	Seed Dormancy present at 25°C	Dormancy Index	Sprouting Score	Sprouting Index	α-Amylase activity (µ/gFw)
Binam	1[a]	1[a]	100[a]	0.63[bd]	5.33 [de]	0.036 [ac]
Champa boudar	1[a]	0.97[a]	99.17[a]	1.43[bd]	12.66 [ce]	0.037 [a]
Hasansaraie	1[a]	1[a]	100[a]	0.96 [bd]	10.0 [de]	0.032 [ad]
Hasani	1[a]	0.95[a]	98.6[a]	2.20 [b]	22.0 [bc]	0.37 [ab]
Khazar	1[a]	0.76[b]	92.22[b]	9.0 [a]	85.33 [a]	0.038 [a]
Dorfak	1[a]	0.7[c]	71.94[c]	9.0 [a]	86.66 [a]	0.038 [a]
Doumsorkh	1[a]	1[a]	100[a]	1.16 [bd]	10.66 [de]	0.02 [bf]
Doumsiyah	1[a]	1[a]	100[a]	0.50 [cd]	4.66 [de]	0.008 [f]
Doumsefid	1[a]	1[a]	100[a]	0.80 [bd]	8.66 [de]	0.02 [cf]
Deylamani	1[a]	1[a]	100[a]	1.06 [bd]	10.0 [de]	0.009 [f]
Salari	1[a]	1[a]	100[a]	2.06 [bc]	24.66 [b]	0.02 [af]
Sepidroud	1[a]	0.93[a]	97.78[a]	0.60 [bd]	6.0 [de]	0.02 [bf]
Sangjou	1[a]	1[a]	100[a]	1.26 [bd]	12.66 [ce]	0.019 [df]
Shahpasand	1[a]	1[a]	100[a]	0.60 [bd]	6.0 [de]	0.028 [ae]
Anbarbou	1[a]	1[a]	100[a]	0.33 [d]	3.33 [e]	0.014 [ef]
Alikazemi	1[a]	1[a]	100[a]	0.60 [bd]	5.33 [de]	0.026 [ae]
Gharib	1[a]	1[a]	100[a]	0.66 [bd]	6.66 [de]	0.03 [ae]
Gouhar	1[a]	0.90[a]	96.6[ab]	1.33 [bd]	12.66 [ce]	0.034 [ad]
Mirtarom	1[a]	1[a]	100[a]	1.63 [bd]	14.0 [cd]	0.019 [df]
Hashemi	1[a]	1[a]	100[a]	0.33 [d]	3.33 [e]	0.0105 [f]

میانگین‌هایی که در هر ستون، حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، فاقد اختلاف معنی‌دار با آزمون توکی و در سطح یک درصد نداشتند.

Means with the same letter in the coulumn had no significant diffrence based on touky test at 1% probability level.

اندازه‌گیری دوره پس‌رسی

تفاوت میان ارقام، از نظر درصد جوانه‌زنی در تمامی هفته‌های پس‌رسی، در سطح احتمال یک درصد، معنی‌دار بود (جدول ۶). ضریب تغییرات، یکی از معیارهای پراکندگی می‌باشد که برای این صفت بالا بود. این امر نشان‌دهنده وجود تنوع بالا بین ارقام مورد مطالعه از نظر این صفت می‌باشد. مقایسه میانگین هفته‌های پس‌رسی نشان داد که درصد جوانه‌زنی اکثر ارقام مورد مطالعه، پس

از طی هفته‌های پس‌رسی افزایش یافت (جدول ۸). رقم اصلاح شده درفک، از همان ابتدا، جوانه‌زنی بالایی نشان داد که بیان کننده عدم خواب بذر این رقم می‌باشد؛ همان‌طور که در بررسی صفت شاخص خواب بذر نیز این رقم فاقد خواب بود و جوانه‌زنی بالایی از خود نشان داده بود. سه رقم اصلاح شده خزر، سپیدرود و گوهر و رقم بومی حسنی، پس از سه هفته پس‌رسی و ارقام بومی چمپابودار، حسنی، دم‌سرخ، دم‌سفید و دیلمانی، پس از طی هفته‌های پس‌رسی، به طور تقریبی، بالای ۶۰ درصد جوانه‌زنی داشتند که نشان‌دهنده کاهش خواب این ارقام در این مدت می‌باشد. ارقام بومی سالاری، سنگ‌جو، شاه‌پسند، عنبربو و میرطارم، پس از طی هفته‌های پس‌رسی، بیش از ۴۰ درصد جوانه‌زنی از خود نشان دادند و ارقام بینام، حسن‌سرایی، دم‌سیاه، علی‌کاظمی و غریب، طی شش هفته، بین ۱۰ تا ۲۰ درصد جوانه‌زنی داشتند که نشان‌دهنده خواب عمیق‌تر، در بذرهای این ارقام می‌باشد. رقم بومی هاشمی، با داشتن تنها چهار درصد جوانه‌زنی طی هفته‌های پس‌رسی، کم‌ترین میزان جوانه‌زنی را به‌خود اختصاص داد که بیان کننده خواب عمیق‌تر این رقم نسبت سایر ارقام بود. به‌نظر می‌رسد که رقم هاشمی، نیاز به طی کردن دوره پس‌رسی طولانی‌تری برای کاهش خواب دارد. در پژوهشی، با بررسی میزان و مدت زمان خواب در ۵۰ رقم برنج گزارش شد که ارقامدارای خواب ، در مرحله اول، بیش‌ترین میزان خواب را داشتند که پس از پانزده روز، خواب آن‌ها کاهش یافت و پس از سی روز، تقریباً به‌طور کامل از بین رفت و جوانه‌زنی طبیعی اتفاق افتاد (Karbalaie & Soudaimashaie, 1998). در پژوهشی دیگر، اثر زمان برداشت بر خواب بذر و شاخص بنیه گیاهچه، در ده ژنوتیپ برنج در شش محیط مختلف در هند، مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که ژنوتیپ‌ها، از لحاظ خواب بذر و بنیه گیاهچه، در فواصل زمانی مختلف پس از برداشت و در محیط‌های مختلف کشت، تفاوت معنی‌داری داشتند و هم‌چنین، درصد جوانه‌زنی ژنوتیپ‌ها در هفته‌های ابتدایی پس از برداشت، کم بود و به‌تدریج، با افزایش تعداد روز پس از برداشت (صفر، ۱۵، ۳۰، ۴۵ روز)، افزایش یافت (Arumugam *et al*., 2008).

ضرایب رگرسیون دوره پس‌رسی، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد دتشتند (جدول۶). ضریب رگرسیون دوره پس‌رسی، بیان‌کننده دوام خواب بذر است (Etezadijam *et al*., 2005a)؛ هرچه این ضریب در ژنوتیپ‌ها بیش‌تر باشد، دوره پس‌رسی لازم برای شکست خواب و جوانه‌زنی بذر نیز طولانی‌تر می‌شود. مقایسه میانگین ضریب رگرسیون دوره پس‌رسی نشان دهنده تنوع زیاد بین ارقام بود (جدول ۸)؛ این امر،بیان کننده تفاوت معنی‌دار در طول دوره خواب بذر و یکسان نبودن سرعت از دست دادن خواب بذر، در ارقام برنج می‌باشد. (***این جمله در بخش مواد و روش ها آمده است و نیازی به تکرار آن نیست***)نتایج تجزیه واریانس طرح کرت‌های خرد شده در زمان، نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داریمیان فاکتور اصلی (رقم)، فاکتور فرعی (هفته‌های پس‌رسی) و اثر متقابل این دو فاکتور می‌باشد (جدول ۷). هم‌چنین مقایسه میانگین فاکتور اصلی و فاکتور فرعی، تفاوت‌های معنی‌داری را در سطح احتمال یک درصد نشان داد که کامل کننده نتایج قبلی می‌باشد.

بین بردن خواب بذر بسیاری از گونه‌ها، به دوره‌های پس‌رسی متفاوتی نیاز است که طول این دوره‌ها می‌تواند از چند هفته تا ۶۰ ماه باشد. هم‌چنین، میزان دوره پس‌رسی و کاهش خواب، با توجه به شرایط محیطی در طول بلوغ و انبارداری بذر و شرایط جوانه‌زنی، متفاوت است (Bewley *et al*., 2013). معمولاً بذر بیش‌تر واریته‌های برنج، بلافاصله بعد از برداشت، دارای خوابی کوتاه هستند که این مدت حدود یک ماه طول می‌کشد؛ البته درصد و شدت آن در ارقام مختلف، متفاوت است (Mew & Misra, 1994). اکثر تحقیقات نشان می‌دهند که در طول دوره پس از رسیدگی، هم در پوشش بذر و هم در جنین، تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی روی می‌دهد که سبب افزایش توانایی جوانه‌زنی می‌شود (Gomez & zentella., 2001). در طول دوره پس‌رسی، محتوای آبسیزیک‌اسید کاهش می‌یابد که یک مهارکننده قوی جوانه‌زنی بذر می‌باشد (Bewley *et al*., 2013). در بسیاری از گونه‌ها، در طول دوره پس‌رسی، با تغییر حالت خواب بذر به بذر بدون‌خواب، کاهش بیش‌تر در محتوای آبسیزیک اسید، کاهش حساسیت به آبسیزیک اسید و افزایش حساسیت به جیبرلیک اسید رخ می‌دهد (Leubner-Metzger, 2003).

جدول۶- تجزیه واریانس درصد جوانه‌زنی در هر یک از هفته‌های پس‌رسی در ۲۰ رقم برنج

Table 6- Analysis of variance of germination percentage of 20 rice cultivars at weeks of after-ripening

S.O.V	df	Mean Squares						
		Germination present at week begining	Germination present at first week	Germination present at second week	Germination present at third week	Germination present at fourth week	Germination present at fifth week	After-ripening regression coefficient
Block	2	3.25 ns	10.11 ns	9.47 ns	9.47 ns	65.11 ns	13.85 ns	3.38 ns
Cultivar	19	655.17**	1744.18**	3525.06**	3525.06**	3284.70**	3295.70**	104.63**
Error	38	2.46	9.77	16.49	22.19	28.26	31.17	5.02
CV %		27.68	24.12	18.49	16.41	11.56	9.65	21.26

*، ** و ns :به ترتیب نشان دهنده معنی‌دار بودن در سطح احتمال پنج , یک درصد و غیر معنی‌دار بودن است.

*, ** and ns indicate significancant at 5% and 1% probability levels and not significant, respectively.

جدول۷-تجزیه واریانس آزمون دوره پس‌رسی ارقام برنج در قالب طرح کرت‌های خرد شده در زمان

Table 7- Split-plot design in time analysis of variance of after- ripening test of rice cultivars

S.O.V	df	Mean Squares
Block	2	65.22 ns
Cultivar (Main factor)	19	12805.47**
Main error	38	36.77**
After-ripening (Sub-factor)	5	23490.47**
Cultivar × After-ripening	95	560.62**
Sub-error	190	12.72
CV (%)		12.39

*، ** وns :به ترتیب نشان دهنده‌ی معنی‌دار بودن در سطح احتمال پنج و یک درصد و غیر معنی‌دار بودن است.

*, ** and ns indicate significancant at 5% ad 1% probability levels and not significant, respectively.

جدول ۸-مقایسه میانگین دوره‌های مختلف و ضریب رگرسیون دوره پس‌رسی در ۲۰ رقم برنج

Table 8- Mean comparsion of different periods and regression coefficients of after-ripeninig period of 20 cultivars of rice

Rice Cultivars	Germination present at begining	Germination present at first week	Germination present at second week	Germination present at third week	Germination present at fourth week	Germination present at fifth week	After-ripening regression coefficient
Binam	0 d	0 e	1.66 d	1.66 e	15.83 hi	20.83 gi	4.33 eh
Champa boudar	2.5 d	5.83 e	7.5 cd	16.66 ce	37.5 eg	61.66 de	11.43 bf
Hasansaraie	0 d	0 e	1.66 d	5.83 de	19.16 hi	35 gh	6.76 dh
Hasani	3.33 d	20 d	60.83 b	80 a	96.66 ab	100 a	20.69 a
Khazar	23.33 b	62.5 b	79.16 a	89.16 a	98.33 a	100 a	14.31 ad
Dorfak	63.33 a	85.83 a	90.83 a	91.66 a	98.33 a	100 a	6.69 dh
Doumsorkh	0.83 d	4.16 e	15.83 c	43.66 b	69.16 c	82.5 ab	17.83 ab
Doumsiyah	0 d	0.83 e	0.83 d	5.83 de	19.16 hi	23.33 gh	5.04 eh
Doumsefid	2.5 d	5.83 e	9.16 cd	23.33 c	46.66 df	73.33 bd	14.02 ad
Deylamani	0 d	0 e	6.66 cd	20 cd	53.33 cd	81.66 bc	16.62 ac
Salari	0 d	0 e	5 cd	5.83 de	26.66 gh	40.83 fg	8.14 dh
Sepidroud	3.33 d	29.16 c	65 b	80 a	84.16 b	100 a	18.71 ab
Sangjou	0 d	0 e	6.66 cd	9.16 ce	34.16 fg	56.66 de	11.10 bf
Shahpasand	0 d	0 e	0 d	1.66 e	28.33 gh	49.16 ef	9.5 cf
Anbarbou	0 d	1.66 e	5.83 cd	20 cd	40 de	56.66 ce	11.79 be
Alikazemi	0 d	0 e	0 d	0.83 e	6.66 ij	12.5 hi	2.38 gh
Gharib	0 d	0 e	0 d	1.66 e	11.66 ij	16.66 hi	3.42 fh
Gouhar	14.16 c	28.33 c	79.16 a	67.5 a	84.16 ab	100 a	17.88 ab
Mirtarom	0 d	0 e	0.83 d	6.66 de	27.5 gh	47.5 e	9.31 cf
Hashemi	0 d	0 e	0 d	0 e	0 j	4.16 i	0.71 h

میانگین‌هایی که در هر ستون، حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، فاقد اختلاف معنی‌دار با آزمون توکی در سطح یک درصد می‌باشند.

Means with the same letter in the coulumn had no significant diffrences based on touky test at 1% probability level.

همبستگی صفات مورد مطالعه

ضرایب همبستگی ساده بین صفات مورد بررسی در جدول ۹ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که بیش‌ترین همبستگی بین دو روش اندازه‌گیری جوانه‌زنی روی خوشه یعنی نمره جوانه‌زنی و شاخص جوانه‌زنی (r=۰/۹۹**) وجود دارد. هم‌چنین نتایج نشان داد که

هیچ‌گونه همبستگی معنی‌داری بین نمره‌جوانه‌زنی و صفات فنولوژیکی (تعداد روز از زمان بذرپاشی تا خوشه‌دهی، گلدهی و رسیدگی فیزیولوژیک) وجود نداشت. بنابراین، می‌توان بیان داشت که مقاومت به‌جوانه‌زنی قبل از برداشت، تحت تأثیر طول دوره رسیدگی نمی‌باشد. هم‌چنین، همبستگی منفی و معنی‌داری بین نمره جوانه‌زنی و خواب بذر، در هر دو شرایط دمایی ۱۵ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد و شاخص خواب بذر (r = -۰/۶۴**)، (r = -۰/۸۶**) و (r = -۰/۸۱**) وجود داشت که مشابه نتایج Tavakol Afshari & Yazdi Samadi (2002) و Etezadijam *et al* (2005) می‌باشد. برخی پژوهشگران گزارش کردند که خواب بذر، صفت بسیار مهم مرتبط با جوانه‌زنی زودهنگام روی خوشه می‌باشد؛ هرچه خواب بذر بیش‌تر باشد، مقاومت به جوانه‌زنی قبل از برداشت نیز بیش‌تر می‌شود (Liu *et al*., 2013; Wu *et al*., 2016). هم‌چنین، همبستگی متوسط مثبت و معنی‌داری میان نمره‌جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز (r = ۰/۵۱**) وجود داشت. بنابراین، می‌توان بیان داشت که میزان فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز، صفتی مرتبط با جوانه‌زنی روی خوشه می‌باشد. به‌عبارتی، بیشترین درصد جوانه‌زنی قبل از برداشت، در ژنوتیپ‌هایی مشاهده می‌شود که فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز در آن‌ها بالاست، . نتایج مشابهی نیز توسط دیگر پژوهشگران گزارش شده است (Tavakol Afshari, 2009; & Dastaran Tavakkol Afshari & Hucl, 2002 Mameghani). در پژوهشی دیگر گزارش شد بین فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز و مقاومت به جوانه‌زنی قبل از برداشت و خواب بذر ارتباط مهمی وجود دارد (Gao *et al*., 2013).

ضرایب همبستگی بین شاخص جوانه‌زنی با صفات تعداد روز از زمان بذرپاشی تا خوشه‌دهی، گلدهی و رسیدگی فیزیولوژیک، معنی‌دار نبود(جدول۹). همبستگی‌های منفی و معنی‌داری نیز میان شاخص جوانه‌زنی با درصد خواب بذر در ۱۵ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد و شاخص خواب بذر (r = -۰/۶۴**)، (r = -۰/۸۵**) و (r = -۰/۸۱**) وجود داشت. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت شدت خواب بذر، صفت مهم مرتبط با جوانه‌زنی قبل از برداشت می‌باشد. در تحقیق دیگری مشاهده شد که همبستگی مثبت و معنی‌داری میان مقاومت به جوانه‌زنی قبل از برداشت و خواب بذر در غلات وجود دارد (Gao *et al*., 2013). هم‌چنین، بین شاخص جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز، همبستگی متوسط مثبت و معنی‌داری مشاهده شد(r= ۰/۵۰**). مقایسه ضرایب همبستگی صفات نشان داد که فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز، با هر سه صفت اندازه‌گیری شده (درصد خواب بذر در دمای ۱۵ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد و شاخص خواب بذر) همبستگی منفی معنی‌داری داشت (جدول ۹). در این راستا گزارش شد که خواب بذر با افزایش فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز، به‌طور قابل توجهی کاهش یافت (Huang & Brule-Babel, 2012). در بررسی مقاومت ۱۴ رقم جو به جوانه‌زنی قبل از برداشت مشاهده شد که فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز، همبستگی متوسط و معنی‌داری با خواب بذر دارد به‌طوری‌که، با افزایش فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز، تمایل به خواب در بذرها کاهش یافت و امکان جوانه‌زنی قبل از برداشت در آن‌ها، افزایش یافت (Li *et al*., 2008). بین خواب بذر در دمای ۱۵ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد، همبستگی معنی‌داری وجود داشت (r= ۰/۸۹۷**) ؛ هم‌چنین همبستگی بین شاخص خواب و خواب بذر در دمای ۱۵ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد، معنی‌دار بود (به‌ترتیب r= ۰/۹۹۴**، r= ۰/۹۹۲**). مقایسه ضرایب همبستگی صفات نشان داد که صفت ضریب رگرسیون دوره پس‌رسی، با هیچ یک از صفات دیگر مورد مطالعه ،همبستگی معنی‌داری نشان نداد(جدول۹)؛ این نتیجه با نتایج تحقیقات برخی پژوهشگران تفاوت داشت (Etezadijam & Tavakol Afshari, 2005; Dastaran Mameghani & Tavakol Afshari, 2009).

در این پژوهش، خواب بعضی از ارقام مورد بررسی با سپری کردن هفته‌های پس‌رسی برطرف نشد و واکنشی نسبت به هفته‌های پس‌رسی نشان ندادند. شاید بتوان گفت که ارقامی مانند هاشمی، علی‌کاظمی، غریب، دم‌سیاه، بینام، حسن‌سرایی، سالاری، میرطارم و شاه‌پسند، به مدت زمان بیش‌تری برای برطرف شدن خواب نیاز داشته باشند. از این جهت، برای بررسی هبستگی بین صفت ضریب رگرسیون دوره پس‌رسی با سایر صفات مورد بررسی، از ارقامی استفاده شد که پس از طی هفته‌های پس‌رسی، بالای ۵۰ درصد جوانه‌زنی از خود نشان دادند و ارقامی که حساسیت کم‌تر به دوره پس‌رسی داشتند، کنار گذاشته شدند. نتایج مقایسه ضرایب همبستگی (جدول ۱۰)نشان داد که ضریب رگرسیون دوره پس‌رسی با نمره

جوانه‌زنی و شاخص جوانه‌زنی، همبستگی منفی و معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد دارد (به ترتیب r= -۰/۳۷* و r= -۰/۳۸*)؛ به‌عبارتی، با افزایش طول دوره پس‌رسی، جوانه‌زنی روی خوشه کاهش می‌یابد که با نتایج تحقیقات برخی محققین هم راستا می‌باشد (Etezadijam & Tavakol Afshari, 2005; Dastaran & Mameghani & Tavakol Afshari, 2009).

جدول ۹- ضرایب همبستگی ساده صفات مربوط به جوانه‌زنی در ارقام برنج

Table9- Correlation coefficients of rice cultivars germination

Measured Traits	PSD in 15˚C	PSD in 25˚C	DI	SS	SI	α-AmylaseA	SM	ARC	DSE	DSF	DSR
PSD in 15ċ	1										
PSD in 25ċ	0.89**	1									
DI	0.99**	0.99**	1								
SS	-0.64**	-0.86**	-0.81**	1							
SI	-0.64**	-0.85**	-0.81**	0.99**	1						
α-AmylaseA	-0.26*	-0.44**	-0.41**	0.51**	0.51**	1					
MS	0.06ns	0.03ns	0.04ns	-0.02ns	-0.02ns	0.01ns	1				
ARC	0.14ns	0.003ns	0.04ns	0.09ns	0.09ns	0.06ns	0.16ns	1			
DSE	-0.11ns	-0.21ns	-0.19ns	0.08ns	0.08ns	0.24ns	-0.34**	0.08ns	1		
DSF	-0.14ns	-0.24ns	-0.22ns	0.11ns	0.11ns	0.21ns	-0.36**	0.06ns	0.98**	1	
DSR	-0.13ns	-0.23ns	-0.21ns	0.09ns	0.08ns	0.17ns	-0.55**	0.04ns	0.88**	0.88**	1

*، ** وns :، به ترتیب نشان دهنده معنی‌دار بودن در سطح احتمال پنج و یک درصد و غیر معنی‌دار بودن است.

*, ** and ns indicate significancant at 5% and 1% probability levels and not significant, respectively.

PSD in 15ċ: Percentage of seed dormancy in 15ċ, PSD in 25ċ: Percentage of seed dormancy in 25ċ, DI: Dormancy index, SS: Sprouting score, SI: Sprouting index, α-AmylaseA: α-Amylase activity, SM: Seed moisture, ARC: After-ripening regression coefficient, DSE: Number of days from seeding to ear emergence, DSF: Number of days from seeding to flowering, DSR: Number of days from seeding to ripening

جدول ۱۰- ضرایب همبستگی ساده صفات مربوط به جوانه‌زنی در ۱۱ رقم برنج (ارقامی که بالای ۵۰ درصد جوانه‌زنی پس از طی هفته‌های پس‌رسی داشتند)

Table10- Correlation coefficients of germination traits of 11 rice cultivars (cultivars had more than 50%germination at weeks of after-ripening period)

Measured Traits	PSD in 15˚C	PSD in 25˚C	DI	SS	SI	α-AmylaseA	MS	ARC	DSE	DSF	DSR
PSD in 15ċ	1										
PSD in 25ċ	0.90**	1									
DI	0.94**	0.99**	1								
SS	-0.63**	-0.85**	-0.81**	1							
SI	-0.64**	-0.85**	-0.81**	0.99**	1						
α-AmylaseA	-0.32*	-0.54**	-0.49**	0.63**	0.64**	1					
MS	0.15ns	0.15ns	0.15ns	-0.13ns	-0.12ns	0.076ns	1				
ARC	0.55**	0.49**	0.52**	-0.37*	-0.38*	-0.14ns	0.34*	1			
DSE	-0.11ns	-0.22ns	-0.18ns	0.091ns	0.09ns	0.25ns	-0.14ns	-0.12ns	1		
DSF	-0.14ns	-0.24ns	-0.22ns	0.12ns	0.12ns	0.22ns	-0.37*	-0.16ns	-0.14ns	1	
DSR	-0.14ns	-0.25ns	-0.23ns	0.12ns	0.12ns	0.14ns	-0.49**	-0.13ns	-0.18ns	-0.16ns	1

*، ** و ns :، به ترتیب نشان دهنده معنی‌دار بودن در سطح احتمال پنج، یک درصد و غیر معنی‌دار بودن است.

*, ** and ns indicate significancant at 5% and 1% probability levels and not significant, respectively.

PSD in 15ċ: Percentage of seed dormancy in 15ċ, PSD in 25ċ: Percentage of seed dormancy in 25ċ, DI: Dormancy index, SS: Sprouting score, SI: Sprouting index, α-AmylaseA: α-Amylase activity, SM: Seed moisture, ARC: After-ripening regression coefficient, DSE: Number of days from seeding to ear emergence, DSF: Number of days from seeding to flowering, DSR: Number of days from seeding to ripening

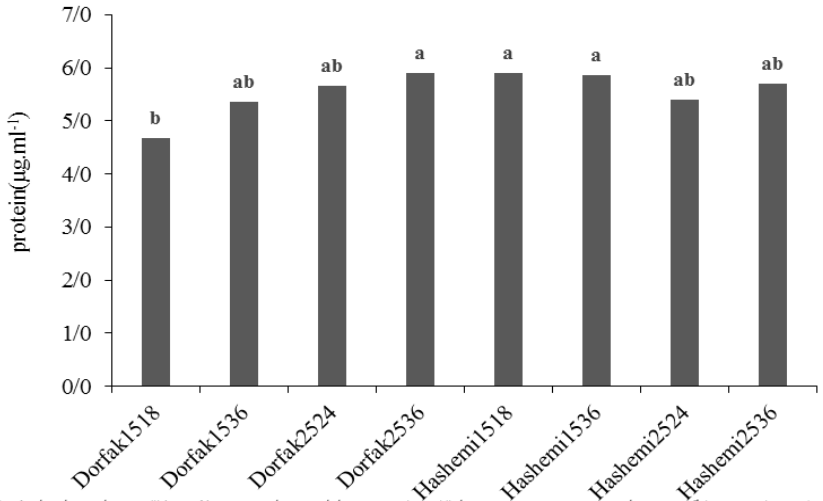
جدول ۱۱-تجزیه واریانس پروتئین جنین دو رقم برنج دارای‌خواب و بدون‌خواب

Table11- Analysis of variance of embryo protein of two dormant and non-dormant rice cultivars

S.O.V	df	Mean Squares
Block	2	0.53*
Treat	7	0.51**
Error	14	0.11
CV (%)		5.91

*، ** و، ns ، به ترتیب نشان دهنده‌ی معنی‌دار بودن در سطح احتمال پنج و یک درصد و غیر معنی‌دار بودن است.

*, ** and ns indicate significancant at 5% and 1% probability levels and not significant, respectively.



شکل ۱- مقایسه میانگین میزان پروتئین جنین در ارقام هاشمی (دارای خواب) و درفک (فاقد خواب). اعداد کنار ارقام، نشان‌دهنده شرایط قرارگیری بذرها در انکوباتور می‌باشد: درفک۲۵۲۴، هاشمی۲۵۲۴ (دمای ۲۵درجه سانتی‌گراد و ۲۴ ساعت آبنوشی)، درفک ۲۵۳۶، هاشمی ۲۵۳۶ (دمای ۲۵درجه سانتی‌گراد و ۳۶ ساعت آبنوشی)، درفک ۱۵۱۸، هاشمی ۱۵۱۸ (دمای ۱۵درجه سانتی‌گراد و ۱۸ ساعت آبنوشی)، درفک۱۵۳۶، هاشمی۱۵۳۶ (دمای ۱۵درجه سانتی‌گراد و ۳۶ ساعت آبنوشی). میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، فاقد اختلاف معنی‌دار با آزمون توکی در سطح یک درصد می‌باشند

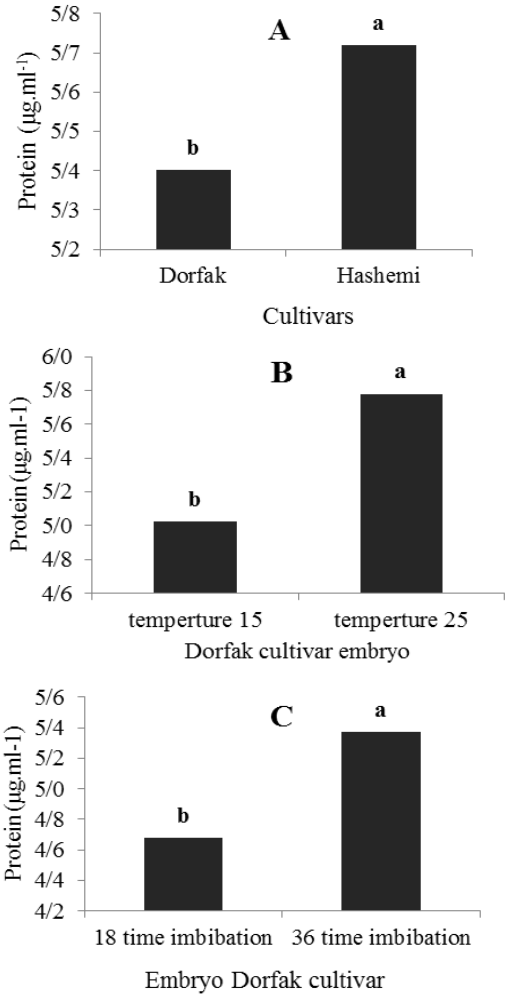
Figure1- Mean comparsion of embryo protein content in Hashemi (dormant) and Dorfak (non-dormant) cultivars. Numbers next to cultivars are representing the conditions of incubator; first tow numbers are the tempeature of incubator and second tow numbers are the time of seed imbibation. Means with the same letter had no significant diffrences based on touky test at 1% probability level.

میان ضریب رگرسیون دوره پس‌رسی با درصد خواب بذر در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد، درصد خواب بذر در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و شاخص خواب بذر (به ترتیب r= ۰/۵۵** ،r= ۰/۴۹** و r= ۰/۵۲**) نیز همبستگی مثبت و بسیار معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۱۰). این همبستگی نشان‌دهنده آن است که با افزایش خواب بذر، طول دوره پس‌رسی نیز افزایش می‌یابد.

پروتئین جنین رقم دارای خواب و بدون خواب

نتایج تجزیه واریانس پروتئین جنین تیمارها، تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال یک درصد نشان داد (جدول۱۱). بالاترین میزان پروتئین در جنین رقم درفک (بدون خواب)، در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و ۳۶ ساعت آبنوشی و جنین رقم هاشمی (دارای خواب) در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد و زمان آبنوشی ۱۸ و ۳۶ ساعت و کم‌ترین میزان پروتئین، در جنین رقم درفک در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد با ۱۸ ساعت آبنوشی مشاهده شد (شکل۱). نتایج نشان داد که رقم درفک، در دمای پایین (۱۵ درجه سانتی‌گراد) و مدت زمان آبنوشی کم‌تر (۱۸ ساعت)، میزان پروتئین کمی دارد و با افزایش دما و مدت زمان آبنوشی، میزان پروتئین جنین افزایش می‌یابد؛ به‌عبارتی نشان‌دهنده شروع فعالیت متابولیکی برای جوانه‌زنی در این رقم می‌باشد اما در جنین رقم هاشمی، با افزایش دما و مدت زمان آبنوشی، تغییر معنی‌داری در میزان پروتئین آن ایجاد نشد. برخی پژوهشگران بیان کرده‌اند که در طول دوره جوانه‌زنی، محتوای پروتئین به‌طور قابل توجهی افزایش می‌یابد (Kashem *et al.*, 1995). مقایسات گروهی نشان داد که از نظر میزان پروتئین، بین دو رقم اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد وجود داشت (شکل۲ الف). هم‌چنین مشاهده شد میزان پروتئین، جنین رقم هاشمی بالاتر از جنین رقم درفک می‌باشد. به‌نظر می‌رسد که این اختلاف، به دلیل انباشت بیش‌تر پروتئین‌های ذخیره‌ای در جنین رقم هاشمی در مرحله بلوغ و رسیدگی باشد. میزان نسبی مواد ذخیره‌ای بذر مانند پروتئین در گونه‌های مختلف، متفاوت است (Yang *et al.*, 2007). هم‌چنین مقایسات گروهی نشان داد که با افزایش دما، میزان پروتئین در رقم درفک افزایش یافت به‌طوری که، در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، میزان پروتئین در جنین رقم درفک، بیش‌تر بود (شکل ۲ب). بر اساس مقایسات گروهی، با افزایش مدت زمان

آبنوشی در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد، میزان پروتئین جنین درفک افزایش یافت (شکل۲ج). بررسی درصد خواب ارقام در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد در این پژوهش نشان داد که رقم درفک، پایین‌ترین سطح خواب را داشت و تنها رقمی بود که جوانه‌زنی در بذرهای آن اتفاق افتاد. مقایسات گروهی نشان داد که بین تیمارهای مربوط به رقم هاشمی، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. با توجه به نتایج به‌دست آمده، به‌نظر می‌رسد که خواب بذر در رقم هاشمی از نوع خواب ارثی باشد **که** به دلیل وجود بازدارنده‌های رشد در درون جنین بذر این رقم می‌باشد. با حذف پوسته و برداشت جنین بذر برای اندازه‌گیری میزان پروتئین، یکی از عوامل خواب که پوسته بذر می‌باشد، حذف شد اما در میزان غلظت پروتئین جنین تیمارهای رقم هاشمی، هیچ تغییری مشاهده نشد. گزارش شده است که در جوانه‌زنی بذر برنج، ۱۴۸ پروتئین مختلف نقش دارند که ۶۹ پروتئین در تنظیم افزایش (آلفاآمیلاز، فروکتوکیناز و پیرووات دکربوکسیلاز) و ۶۳ پروتئین در کاهش (پروتئین‌های ذخیره‌ای، پروتئین‌های مرتبط با بلوغ و پسابش بذر) خود را نشان می‌دهند. هم‌چنین، در اواخر مرحله دوم جذب آب، مقدار فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز تا حد زیادی افزایش می‌یابد که این افزایش تحت تأثیر جیبرلین می‌باشد (Yang *et al*., 2007).



شکل۲- مقایسات گروهی بین جنین رقم درفک (فاقد خواب) و هاشمی (دارای خواب): (A) مقایسه میزان پروتئین جنین دو رقم درفک و هاشمی، (B) اثر افزایش دما بر میزان پروتئین جنین رقم درفک و (C) اثر مدت زمان آبنوشی بر میزان پروتئین جنین رقم درفک.

***(در محور افقی نمودار C، عنوان محور افقی باید time of imbibtion و بجای 18 time imbibtion **و** 36 time imbibtion، باید از 18 hours **و** 36 hours باشد). امکان اصلاح نمودار برای اینجانب فراهم نبود.

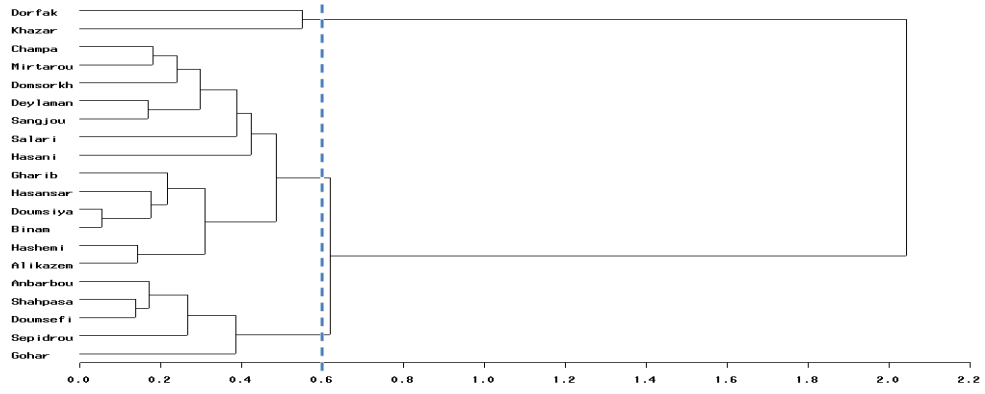
Figure2. Group comparsion of Dorfak (dormant) and Hashemi (non-dormant) cultivar embryos : (A): comparsion of embryo protein content of Hashemi and Dorfak; (B): effect of increasing temperature on the embryo protein content of Dorfak cultivar and (C): effect of imbibation time on embryo protein content of Dorfak cultivar.

تجزیه خوشه‌ای صفات مورد بررسی

تجزیه خوشه‌ای، روشی ریاضی است که جهت پیدا نمودن شباهت بین مواد در یک مجموعه به‌کار می‌رود. در این تحقیق، برای طبقه‌بندی ارقام، روش‌های مختلف تجزیه خوشه‌ای، از جمله متوسط فاصله‌ی بین گروه‌ها (Average)، روش وارد (Wards minimum variance method)، دورترین همسایه‌ها (Complete Linkage) و نزدیکترین همسایه‌ها (Single Linkage) انجام شد و از بین آن‌ها، روش متوسط فاصلهف به دلیل گروه‌بندی بهتر انتخاب شد (شکل۳).

با برش دندوگرام از ناحیه‌ی۰/۶، ژنوتیپ‌ها به سه گروه تقسیم شدند که در هر کدام دو، ۱۳ و پنج ژنوتیپ قرار داشت. در گروه اول، دو رقم اصلاح شده درفک و خزر قرار داشتند که مشابه با نتایج به‌دست آمده قبلی، دارای ضعیف‌ترین مقاومت به جوانه‌زنی روی خوشه و خواب بذر بودند. در گروه دوم، ۱۳ رقم بومی قرار داشتند که این گروه، نسبت به گروه اول، نمره جوانه‌زنی، شاخص جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز کمتری داشت که نشان‌دهنده مقاومت این ارقام به جوانه‌زنی قبل از برداشت می‌باشد. هم‌چنین، گروه دوم رقم هاشمی را در خود جای داد که از نظر کلیه صفات مورد بررسی، وضعیت بهتری به سایر ارقام به لحاظ مقاومت به جوانه‌زنی قبل از برداشت را دارا بود. گروه دوم، بیش‌ترین مقاومت به جوانه‌زنی قبل از برداشت را داشتند. گروه سوم شامل سه رقم بومی و دو رقم اصلاح شده بود. به‌نظر می‌رسد که دلیل قرارگرفتن ژنوتیپ‌ها در این گروه، بیش‌تر با صفات تعداد روز از زمان بذرپاشی تا خوشه‌دهی، تعداد روز از زمان بذرپاشی تا گلدهی و تعداد روز از زمان بذرپاشی تا رسیدگی فیزیولوژیک مرتبط بود. هم‌چنین طول دوره رشد گروه دوم نسبت به گروه سوم، کوتاه‌تربود.

در استان‌های شمالی ایران به‌ویژه گیلان، وقوع بارندگی در اواسط شهریور ماه، منجر به جوانه‌زنی روی خوشه قبل از برداشت در برنج می‌شود، بنابراین، با کاهش طول دوره رشد، شاید بتوان از وقوع این خسارت جلوگیری نمود. با نتایج به‌دست آمده از این پژوهش، می‌توان از ارقام گروه دوم برای اصلاح مقاومت به جوانه‌زنی قبل از برداشت بهره جست. هم‌چنین می‌توان در صورت دارا بودن دیگر فاکتورهای زراعی مطلوب برای کشت، از این ارقام را در مناطق مرطوب استفاده کرد.



شکل ۳. گروه‌بندی ارقام برنج براساس صفات مرتبط با مقاومت به جوانه‌زنی قبل از برداشت به روش متوسط فاصله بین گروه‌ها
Figure3. Rice cultivars grouping based on resistance to pre-harvest sprouting traits using UPGMA

نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد که میان ژنوتیپ‌های برنج، تنوع ژنتیکی نسبتاً بالایی، از نظر مقاومت به جوانه‌زنی قبل از برداشت و صفات مرتبط با آن، وجود داشت. بر اساس نتایج ضرایب همبستگی، مقاومت به جوانه‌زنی قبل از برداشت، با صفات خواب بذر و ضریب رگرسیون دوره پس‌رسی، همبستگی مثبت و معنی‌دار و با فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز، همبستگی منفی و معنی‌داری نشان داد. در این پژوهش، مشاهده شد که شدت خواب بذر، دوام خواب بذر و اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز را می‌توان به عنوان صفاتی مهم، در ارزیابی مقاومت به جوانه‌زنی قبل از برداشت در ارقام به‌کار گرفت. در یک مقایسه کلی بین ارقام بومی و اصلاح شده، ارقام بومی از نظر مقاومت به جوانه‌زنی قبل از برداشت، وضعیت بهتری نسبت به ارقام اصلاح شده

موجود در این پژوهش داشتند. ارقام اصلاح شده درفک و خزر، با طول دوره رشد تقریباً یکسان، با سطوح خواب کم و دارا بودن بیش‌ترین نمره جوانه‌زنی، شاخص‌جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز بالا و دوره پس‌رسی کوتاه، حساس‌ترین ارقام به جوانه‌زنی قبل از برداشت معرفی می‌شوند و رقم بومی هاشمی، با دارا بودن صفاتی مانند خواب بالا، نمره جوانه‌زنی و شاخص‌جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز پایین، رقمی مقاوم به جوانه‌زنی قبل از برداشت در مزرعه شناخته شد. در مجموع، نتایج این پژوهش نشان داد که رقم هاشمی، مقاوم‌ترین رقم به جوانه‌زنی قبل از برداشت می‌باشد؛ البته این رقم، رقم غالب استان و دارای کیفیت و بازار پسندی خوب است.

REFERENCES

1. Agahi K., Fotokian M. H. & Younesi Z. (2012). Study of genetic diversity and important correlations of agronomic traits in rice genotypes (*Oryza sativa* L.). *Iranian Journal Of Biology*, 25(1): 97-110.
2. Arumugam, M., & Rajanna, M. (2008). Seed dormancy and seedling vigour as influenced by planting time environment and date of harvest in rice (*Oryza sativa* L.). *Caspian Journal of Environmental Sciences, 6*(1): 1-9.
3. Bainotti, C., Cuniberti, M., Masiero, B., Donaire, G., Gómez, D., Reartes, F., Salines, J., Formica, M., Fraschina, J., & Nisi, J. (2009). Characterization of wheat cultivars for pre-harvest sprouting. *Agriscientia*, 26(1): 29-33.
4. Bewley, J. D., Bradford, K., & Hilhorst, H. (2012). *Seeds: physiology of development, germination and dormancy*. Springer Science & Business Media.
5. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2): 248-254.
6. Clarke, J. M., DePauw, R. M., Mcleod, J. G., & McCraig, T. N. (1994). Variation for preharvest sprouting resistance in durum wheat. *Crop science*, 34(6): 1632-1635.
7. DePauw, R., Knox, R., Singh, A., Fox, S., Humphreys, D., & Hucl, P. (2012). Developing standardized methods for breeding preharvest sprouting resistant wheat, challenges and successes in Canadian wheat. *Euphytica*, 188(1): 7-14.
8. Etezadijam, J., Tavakol Afshari, R., Yazdi Samadi. B. & Hosseinzadeh, A. (2005a). Evaluation of resistance to germination before harvesting and studying correlation and causality analysis and seed traits with bread wheat. *Iranian Journal of Agricultural Science*, 36 (3): 742-733. (In Farsi)
9. Etezadijam, J., Tavakolafshari, R., Yazdisamadi, B. & Shahnejatboshehri, A. A. (2005b). Seed dormancy study, after-ripening period and patterns of protein synthesis in embryos of dormant and non-dormant seeds in wheat (*Triticum aestivum* L.*). Iranian Journal of Agricultural Science*, 36 (4): 867-859. (In Farsi)
10. FAO. (2011). http://www.faistat.fao.org.
11. Gao, X., Hu, C., Li, H., Yao, Y., Meng, M., Dong, J., Zhao, W., Chen, Q., & Li, X. (2013). Factors affecting pre-harvest sprouting resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.): a review. *J. Anim. Plant Sci*, 23: 556-565.
12. Gómez-Cadenas, A., Zentella, R., Walker-Simmons, M. K., & Ho, T.-H. D. (2001). Gibberellin/abscisic acid antagonism in barley aleurone cells: site of action of the protein kinase PKABA1 in relation to gibberellin signaling molecules. *The Plant Cell*, 13(3); 667-679.
13. He, D., Han, C., Yao, J., Shen, S., & Yang, P. (2011). Constructing the metabolic and regulatory pathways in germinating rice seeds through proteomic approach. *Proteomics*, 11(13): 2693-2713.
14. Hilhorst, H. W. (2007). Definitions and hypotheses of seed dormancy. *Annual Plant Reviews: Seed Development, Dormancy and Germination*, 27: 50-71.
15. Huang, X. Q., & Brûlé-Babel, A. (2012). Sequence diversity, haplotype analysis, association mapping and functional marker development in the waxy and starch synthase IIa genes for grain-yield-related traits in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.). *Molecular breeding*, 30(2): 627-645.
16. Hucl, P. (1995). Divergent selection for sprouting resistance in spring wheat. *Plant breeding*, 114(3): 199-204.
17. International Seed Testing Association (ISTA). (2008). Handbook of Vigor test methods,2nd ed. *International Seed Testing Association, Zurich, Switzerland.*
18. Kashem, M., Sultana, N., Samanta, S., & Kamal, A. (1995). Starch, sugar, amylase and invertase activity in the germinating seeds of modern wheat varieties. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, 23(2).
19. Leubner-Metzger, G. (2003). Functions and regulation of β-1, 3-glucanases during seed germination, dormancy release and after-ripening. *Seed Science Research*, 13(1): 17-34.
20. Liu, S., Sehgal, S. K., Li, J., Lin, M., Trick, H. N., Yu, J., Gill, B. S., & Bai, G. (2013). Cloning and characterization of a critical regulator for preharvest sprouting in wheat. *Genetics*, 195(1): 263-273.
21. Mamaghani, F., Afshari, R., & Sharifzadeh, F. (2009). A study of seed dormancy and dormancy breaking factors during after-ripening period of barley genotypes (*Hordeum vulgare* L.). *Iranian Journal of Field Crop Science*, 40(3): 123-135.

22. Mamaghani, F., & Tavakkol-Afshari, R. (2009). A study of seed dormancy, period of after-ripening, and pre-harvest sprouting resistance in barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 40(1).
23. Mew, T. W., & Misra, J. (1994). *A manual of rice seed health testing*: Int. Rice Res. Inst.
24. Mitra S., Ghosh B. & Sircar S. M. (1976). Physiological changes in rice seed during the early stage of germination. *Indian Jourml ofAgricultura1 Sciences* 63(7): 426-428.
25. Muharrami, A., Shahedi, M. And Kadivar, M. (2009). Investigating the Activity of Alpha Amylase, Lipase and Lipoxygenase in Wheat and Their Change in Activity Before and After the Germination Period, *Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 13 (47): 13 -1. (In Farsi)
26. Muralikrishna, G., & Nirmala, M. (2005). Cereal α-amylases—an overview. *Carbohydrate polymers*, 60(2); 163-173.
27. Nouri nia, A.A. (2002), Pre-harvest germination, Past research and future needs. In: *7th Iranian Congress of Plant Breeding*. Karaj, Seed and Plant Improvement Research Institute, 15. (In Farsi)
28. Ren, G., Gao, F., Lu, X., Li, Z., Liu, G., Sun, S., & Li, H. (2009). Development of high-quality cytoplasmic male sterile rice lines. *The responsibility for this publication rests with the International Rice Research Institute. Copyright International Rice Research Institute 2009 This publication is copyrighted by the International Rice Research Institute (IRRI) and is licensed for use under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0*, 117.
29. Roozeboom, K. L., McCluskey, P. J., Shroyer, J. P., & Paulsen, G. M. (1997). Preharvest sprouting of hard red and hard white wheats in Kansas. *Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports* (12); 100.
30. Sadeghi, M., Esfahani, M., Momeni, A., Rabiei, M & Jahandideh, H. (2008). Effect of Seed Moisture Content on Seed Germination Index and Seedling Growth in Four Rapeseed Cultivars. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*. 15 (3): 65. (In Farsi)
31. Sasaki, K., Kazama, Y., Youn, C., & Tadashi, S. (2013). Confirmation of novel quantitative trait loci for seed dormancy at different ripening stages in rice. *Rice Science*, 20(3): 207-212.
32. Schuurink, R., Beckum, J. V., & Heidekamp, F. (1992). Modulation of grain dormancy in barley by variation of plant growth conditions. *Hereditas*, 117(2): 137-143.
33. Simsek, S., Ohm, J. B., Lu, H., Rugg, M., Berzonsky, W., Alamri, M. S., & Mergoum, M. (2014). Effect of pre-harvest sprouting on physicochemical changes of proteins in wheat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(2): 205-212.
34. Strand, E. (1980). A seed dormancy index for selection of cultivars of cereals resistant to pre-harvest sprouting. *Cereal Research Communications*, 219-223.
35. Tavakkol-Afshari, R., & Hucl, P. (2002). Variation of seed dormancy and after-ripening in tetraploid wheat (*Triticum durum*, *T. turgidum*, *T. turanicum*, *T. carthlicum*, *T. polonicum*). *Journal of Agricultural Science and Technology*, 4; 23-36.
36. Tavakol Afshari, R., & B. Yazdi Samadi. (2000). Evaluation of two screening methods for preharvest sprouting methods, *Academy of Science, Islamic Republic of Iran*, 371-381.
37. Tavakol Afshari, R., & Yazdi Samadi, B. (2002). Evaluation of two screening methods for study of resistance to germination before harvest to reduce waste production in bread wheat, *prevention of loss of bread and other foods*, pp. 331 -321.
38. Wan, J., Jiang, L., Tang, J., Wang, C., Hou, M., Jing, W., & Zhang, L. (2006). Genetic dissection of the seed dormancy trait in cultivated rice (*Oryza sativa* L.). *Plant science*, 170(4): 786-792.
39. Wu, T., Yang, C., Ding, B., Feng, Z., Wang, Q., He, J., Tong, J., Xiao, L., Jiang, L., & Wan, J. (2016). Microarray-based gene expression analysis of strong seed dormancy in rice cv. N22 and less dormant mutant derivatives. *Plant Physiology and Biochemistry*, 99: 27-38.
40. Xie, Z., Zhang, Z.-L., Hanzlik, S., Cook, E., & Shen, Q. J. (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(3): 293-303.
41. Yang, P., Li, X., Wang, X., Chen, H., Chen, F., & Shen, S. (2007). Proteomic analysis of rice (*Oryza sativa*) seeds during germination. *Proteomics*, 7(18): 3358-3368.
42. Yuan, Y., Chen, X., Xiao, S., & Zhang, W. (2005). Extraction and identification of barley alpha-amylase/subtilisin inhibitor. *Journal of Triticeae Crops*, 25(1): 40-43.