فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد ۱۱، شماره ۵۰، مهر و آبان‌ماه ۱۴۰۱ صفحه: ۱۴۵-۱۵۸

مقاله پژوهشی

تشدید فعالیت آلدولاز و گلیکولیز به‌عنوان اثرات اولیه سیانید هیدروژن در طی شکستن خواب دانه‌های گردو (*Juglans regia*)

مریم مصطفی‌لو[۱]، حمیدرضا صادقی‌پور[۱*]، احمد عبدل‌زاده[۱] و مجید عظیم محسنی[۲]

[۱] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان، گرگان،

[۲] گروه آمار، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان، گرگان

(تاریخ دریافت:۱۴۰۰/۰۶/۰۷، تاریخ پذیرش نهایی:۱۴۰۰/۱۱/۱۳)

چکیده

چینه‌سرمایی سبب افزایش ظرفیت گلوکونئوژنزی بذر در طی شکستن خواب می‌شود. سیانیدهیدروژن نیز سبب شکستن خواب بذر بسیاری از گونه‌های علفی شده و در بلند مدت گلوکونئوژنز ذخایر لیپیدی را فعال می‌کند اما از تأثیرات کوتاه مدت این ماده بر متابولیسم کربوهیدرات‌ها اطلاع زیادی در دست نیست. بنابراین، به‌منظور مقایسه اثر چینه‌سرمایی و سیانیدهیدروژن بر شکستن خواب و متابولیسم قند در دانه‌های گردو آزمایشی به‌صورت طرح کاملاً تصادفی انجام شد. دانه‌های آبنوشی‌شده گردو تحت تیمار چینه‌سرمایی قرار گرفته یا با سیانیدهیدروژن پیش‌تیمار شدند و تغییر لیپید، قندکل محلول، قندهای غیراحیایی، نشاسته و فعالیت آنزیم آلدولاز پس از دو و ۱۰ روز از شروع تیمار بررسی و با دانه‌های شاهد تیمار نشده‌ای که در دمای ۲۷ درجه سیلیسیوس و برای همان مدت نگهداری شده بودند مقایسه گردید. درصد رویش دانه‌های گردو در تیمار سیانیدهیدروژن ۸۸٪ بود درحالیکه در دانه‌های شاهد این پارامتر ۵۲٪ بود. دانه‌های تیمارشده با سیانیدهیدروژن قبل از روز دهم دارای سطوح پایین‌تر قند محلول‌کل، قندهای غیراحیایی و نشاسته بودند ولی در روز دهم مقدار نشاسته بیشتر و قند محلول کمتر داشتند. بیشترین فعالیت آنزیم آلدولاز نیز در دانه‌های تیمار سیانیدهیدروژن مشاهده شد. شکستن ذخایر لیپیدی در دانه‌های شاهد و تیمار سیانیدهیدروژن بوقوع پیوست ولی در تیمار چینه‌سرمایی تا زمان ۱۰ روز قابل تشخیص نبود. احتمالاً سیانیدهیدروژن در گام اول سبب تشدید گلیکولیز شده که نشانه آن فعالیت بیشتر آلدولاز و کاهش اولیه کربوهیدرات‌هاست و در گام بعدی با فعال‌سازی گلوکونئوژنز لیپیدها سبب بیوسنتز نشاسته و توان افزوده رویش دانه گردو می‌شود.

کلمات کلیدی: تجزیه لیپید، چینه‌سرمایی، رویش دانه، سیانید، متابولیسم قند، گردو

مقدمه

خواب بذر نوعی ویژگی برای بقاء و سازگاری با محیط است که از رویش زودهنگام آن در شرایط مساعد جلوگیری می‌کند. خواب بسیاری از بذرها با قرارگرفتن آن‌ها در شرایط سرد و مرطوب که اصطلاحاً چینه‌سرمایی گفته می‌شود، شکسته می‌شود. چینه‌سرمایی در محدوده حرارتی ۱۰-۱ درجه سیلیسیوس سبب شکستن خواب اکثر دانه‌ها می‌شود (Bewley *et al.*, 2013). براساس نظریه بازدارندگی متابولیکی، دانه‌های در حال خواب به‌دلیل وجود موانع متابولیکی توانایی استفاده از اندوخته‌های غذایی خود را ندارند و تیمار سرما با از بین‌بردن

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: h.r.sadeghipour@gmail.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-16]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.9.4]

این موانع متابولیکی رویش بذر در شرایط مساعد را امکان پذیر می‌سازد (Lewak, 2011). چینه‌سرمایی نه تنها سبب برداشتن بازدارنده‌های متابولیکی رویش می‌شود بلکه از طرفی سبب فعال‌شدن سازوکارهای آنتی‌اکسیدان شده و از پیری دانه‌ها جلوگیری می‌کند (Nezamdoost *et al*., 2009; Ciacka *et al*., 2019).

علاوه بر چینه‌سرمایی، عوامل محیطی مثل نور، بعضی هورمون‌ها مانند جیبرلین و اتیلن، برخی ترکیبات طبیعی از قبیل نیترات و نیتریت و مواد گازی مثل بوتنولید (Butenolide)، نیتریک اکسید و سیانید هیدروژن به‌طور قابل توجهی سبب شکستن خواب دانه می‌شوند (Bewley *et al*., 2013). بیشتر از ۳۰۰۰ گونه گیاهی از جمله سرخس‌ها، بازدانگان و نهاندانگان توانایی تولید سیانیدهیدروژن را دارند. سیانیدهیدروژن در گونه‌های گیاهی بر اثر تجزیه گلیکوزیدهای سیانوژنیک تولید می‌شود. این ماده مولکولی سمی است و در غلظت‌های زیاد به بافت‌های گیاهی آسیب می‌رساند. از این‌رو بیشتر سیانیدهیدروژن تولیدشده در گیاهان به‌وسیله آنزیم بتا-سیانوآلانین سنتاز سمیت‌زدایی می‌شود (Siegien and Bogatek, 2006). در هر حال این ماده در غلظت‌های کم خاصیت سمی نداشته و به‌عنوان مولکولی پیام‌رسان در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی ایفای نقش می‌کند.

در سال‌های اخیر اثر محلول سیانید پتاسیم یا گاز سیانید هیدروژن در شکستن خواب بذر بسیاری از گونه‌های علفی و دو گونه درختی به اثبات رسیده است (Oracz *et al*., 2007, 2008; Lewak, 2011; Gerivani *et al*., 2016). اثر سیانید در شکستن خواب دانه به‌دلیل بازدارندگی تنفس سلولی یا القاء مسیر پنتوز فسفات اکسیداتیو نبوده بلکه درنتیجه تجمع گونه‌های فعال اکسیژن است زیرا فعالیت بسیاری از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را مهار می‌کند (Gerivani *et al*., 2019). تیمار دانه‌های سیب و گردو با گاز سیانیدهیدروژن منجر به افزایش پراکسیدهیدروژن و افزایش آنیون سوپراکسید می‌شود (Gniazdowska *et al*., 2010; Gerivani *et al*., 2019). سیانیدهیدروژن شکستن خواب و رویش دانه را احتمالاً از طریق هورمون اتیلن نیز تنظیم می‌کند (Oracz *et al*., 2008; Gniazdowska *et al*., 2010).

دانه‌های گردو دارای خواب فیزیولوژیک بوده و برای رویش مطلوب به ۱ الی ۲ ماه چینه‌سرمایی نیاز دارند (Einali and Sadeghipour, 2007). مواد ذخیره‌ای دانه‌های گردو به‌طور عمده شامل روغن‌های ذخیره‌ای و پروتئین‌ها هستند. در طی چینه‌سرمایی، روغن‌های ذخیره‌ای به اسیدهای چرب تبدیل شده و میزان کربوهیدرات‌های نامحلول همچون نشاسته و فعالیت آنزیم ایزوسیترات لیاز افزایش می‌یابد که حاکی از عملکرد فرآیندهای گلوکونئوژنزی است (Nezamdoost *et al*., 2009). اسیدهای آمینه تولیدی ناشی از هیدرولیز پروتئین‌های ذخیره‌ای نیز در طی شکستن خواب دانه‌های گردو توسط چینه‌سرمایی (Einali and Sadeghipour, 2007) به اسیدهای آمینه قابل انتقال به محور جنینی تبدیل شده، در صورتیکه در شرایط گرما این تغییر و تبدیلات مختل می‌گردد (Zarei-Ghadikolaee *et al*., 2010). در کل شکسته‌شدن ذخایر شان‌دهنده تغییراتی در الگوی متابولیکی در طی چینه‌سرمایی است و راه‌کار مهمی در رفع خواب به حساب می‌آید.

به موازات افزایش توان رویش دانه‌های گردو در طی تیمار چینه‌سرمایی، ظرفیت گلوکونئوژنزی ذخایر لیپیدی نیز افزایش می‌یابد (Keshavarzian *et al*., 2013). در دانه‌های فندق و سیب نیز اگر چه چینه‌سرمایی سبب افزایش گلوکونئوژنز ذخایر لیپیدی می‌گردد، اما گلیکولیز برای کاتابولیسم قندها در روزهای اولیه آبنوشی دانه‌های در حال خواب از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Bewley *et al*., 2013). تیمار دانه‌های سیب با گاز سیانیدهیدروژن سبب تسریع گلیکولیز شده و همچنین آنزیم‌هایی را که در کاتابولیسم ذخایر لیپیدی نقش دارند (لیپاز قلیایی و ایزو سیترات لیاز) فعال می‌کند (Lewak, 2011). تیمار دانه‌های کمون (dormant) گردو با گاز سیانید هیدروژن در بلند مدت سبب تشدید گلوکونئوژنز ذخایر لیپیدی و تشدید انتقال ساکاروز به محور جنینی می‌شود (Gerivani *et al*., 2016). همین گروه از پژوهشگران همچنین فرضیه‌ای ارائه دادند مبنی بر اینکه سیانید هیدروژن سبب فعال

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-16]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.9.4]

شدن گلیکولیز ذخایر کربوهیدراتی در دانه‌های در حال خواب گردو در کوتاه مدت می‌شود. براساس این فرضیه، تیمار دانه‌های در حال خواب با سیانیدهیدروژن، در ابتدا شرایطی مشابه شرایط بی‌هوازی را به جنین تحمیل کرده که به‌تدریج و در طولانی مدت با سمیت‌زدایی سیانید، متابولیسم گلوکونئوژنزی فعال شده و رویش دانه اتفاق می‌افتد. تأیید این فرضیه مستلزم ارائه شواهد بیشتری از جمله فعال‌شدن مسیر گلیکولیزی در دانه‌ها بلافاصله پس از تیمار سیانید هیدروژن است. نشان‌دادن سطوح پائین‌تر قندهای محلول و نشاسته در کنار فعالیت افزوده آنزیم‌های گلیکولیزی در دانه‌های تیمارشده با سیانید هیدروژن، می‌تواند تأییدی بر این فرضیه باشد. از این رو در مطالعه حاضر تأثیر سیانیدهیدروژن بر فعالیت گلیکولیزی دانه‌های گردو در طی شکست خواب مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: در این تحقیق از دانه‌های گردو (*Juglans regia* L.) رقم ناشناس که در باغات روستای گریوان از توابع شهرستان بیرجند واقع در خراسان شمالی در مهرماه ۱۳۸۹ برداشت شده بود استفاده شد. کلیه آزمایش‌ها از آذرماه همان سال بر روی دانه‌هایی که محتوای رطوبتی در حدود ۶٪ (بر مبنای وزن تر) داشتند در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشگاه گلستان انجام شد. هچنین با توجه به‌وقوع زوال طبیعی در دانه‌ها، کلیه آزمایش‌ها بر روی دانه‌هایی انجام شد که کمتر از ۸ ماه (پس از برداشت) در دمای ۲۵ درجه سیلیسیوس نگهداری شده بودند.

تیمار دانه‌های گردو با گاز سیانیدهیدروژن (HCN): تیمار دانه‌های گردو با گاز سیانیدهیدروژن به روش Gerivani و همکاران (۲۰۱۶) انجام شد. ابتدا با استفاده از سوزن ته‌گرد سوراخ ظریفی درناحیه دمگل (Pedicel) از اندوکارپ چوبی دانه‌های گردو ایجاد گردید و سپس دانه‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سیلیسیوس آبنوشی (imbibition) شدند. پس از آبنوشی ۷۲ دانه به ظرف درپوش‌دار پیرکس به حجم ۳/۶ لیتر منتقل شده و در بازه‌های زمانی ۴، ۸، ۱۲ و ۲۴ ساعت در معرض گاز سیانیدهیدروژن ۱ میلی‌مولار قرار گرفتند. گاز سیانیدهیدروژن از افزودن ۳۶ میلی‌لیتر اسید لاکتیک ۱۰٪ توسط یک سرنگ به یک بشر حاوی ۳۶ میلی‌لیتر محلول سیانید پتاسیم ۰/۱ مولار که در همان ظرف پیرکس حاوی دانه‌ها جاسازی شده بود متصاعد می‌شود. هر بازه زمانی در سه تکرار انجام گرفت و هر تکرار شامل ۲۴ عدد دانه بود. سپس درپوش ظرف حاوی دانه‌ها در زیر هود برداشته شد تا گاز سیانیدهیدروژن خارج گردد. ضدعفونی دانه‌ها با محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به‌مدت ۱۵ دقیقه انجام شد و چهار مرتبه با حجم زیادی از آب به خوبی شست‌وشو شدند تا هیپوکلریت به جا مانده نیز به‌طور کامل از سطح دانه‌ها زدوده شود. دانه‌ها به‌منظور رویش در محیط‌کشت شنی به‌مدت ۳۶ روز در دمای ۲۷ درجه سیلیسیوس قرار گرفتند و رویش آنها هر دو روز یک مرتبه ثبت شد.

تیمار دانه‌های گردو به‌منظور مقایسه پارامترهای بیوشیمیایی مرتبط با متابولیسم کربن: دانه‌های گردو که اندوکارپ آنها مطابق روش گفته‌شده سوراخ شده بود پس از آبنوشی (۲۴ ساعت) و سپس ضدعفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم تحت تیمار چینه‌سرمایی قرار گرفتند. در این تیمار، دانه‌های گردو در پوششی از دو لایه پارچه مرطوب قرار گرفتند و سپس این مجموعه به درون کیسه‌های نایلونی با امکان تبادلات گازی انتقال یافت و به‌مدت ۲ و ۱۰ روز در یخچال در دمای ۵ درجه سیلیسیوس نگهداری شد. دانه‌های آبنوشی شده‌ای نیز که ۴ ساعت در معرض گاز سیانیدهیدروژن قرار گرفته بودند نیز به محیط‌کشت شنی با دمای ۲۷ درجه سیلیسیوس منتقل شده و به‌مدت ۲ و۱۰ روز در آن محیط نگهداری شدند. دانه‌های آبنوشی شده‌ای که هیچ تیماری دریافت نکرده بودند (شاهد) نیز در محیط‌کشت شنی به‌مدت ۲ و ۱۰ روز قرار گرفتند و با دانه‌هایی که تیمار چینه‌سرمایی و سیانیدهیدروژن دریافت کرده بودند مقایسه شدند. در کلیه تیمارها پارامترهایی همچون لیپید کل، قندهای محلول شامل

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-16]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.9.4]

قند کل و قندهای غیراحیایی، نشاسته و میزان فعالیت آنزیم آلدولاز اندازه‌گیری شد.

برای استخراج لیپید کل (Hara and Radin, 1978)، ۰/۵ گرم بافت با ۲۵ میلی‌لیتر حلال ان- هگزان (۳ حجم): ایزوپروپانول (۲ حجم) بطور کامل خرد و همژنیزه شد و فاز آلی صاف شده حاوی لیپیدهای استخراج‌شده در بشری نگهداری شد. عمل استخراج مجدداً بر روی رسوب بجا مانده از مرحله اول انجام شد. فازهای آلی بدست آمده از دو مرحله، تجمیع و سپس تحت جریانی از گاز ازت قرار گرفت تا حلال آلی بطور کامل تبخیر شود. بقایای بدست آمده پس از تبخیر حلال معرف لیپید کل بود که با ترازو (Sartorius) با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم توزین شد.

برای استخراج قندهای محلول (قند کل و قند غیر احیایی)، رسوب بجا مانده پس از استخراج لیپید با الکل ۷۰٪ استخراج شد و پس از تبخیر الکل از عصاره بجا مانده برای اندازه‌گیری قندها استفاده شد. اندازه‌گیری قند کل با استفاده از معرف آنترون و با استفاده از اسپکتروفوتومتر (Shimadzu-UV160A; Japan) با خوانش جذب نور در طول‌موج ۶۲۰ نانومتر انجام شد (McCready *et al.*, 1950). برای سنجش قندهای غیراحیایی در عصاره، ابتدا کلیه قندهای احیایی با استفاده از محلول هیدروکسید پتاسیم (۳۰٪) در دمای ۹۰ درجه سیلیسیوس تخریب شدند و سپس با استفاده از معرف آنترون و در طول‌موج ۶۲۰ نانومتر میزان جذب نور با دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد (Handel, 1968). از محلول‌های گلوکز و ساکاروز (۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به‌ترتیب برای رسم نمودارهای استاندارد قند کل و قند غیراحیایی استفاده شد.

نشاسته از رسوب بجا مانده پس از استخراج قند کل، با اسید هیپوکلریک (۵۲٪) در دمای ۵ درجه سیلیسیوس استخراج شد و میزان گلوکز موجود در آن با استفاده از معرف آنترون در طول‌موج ۶۲۰ نانومتر مطابق روش سنجش قند کل تعیین گردید (McCready *et al.*, 1950).

استخراج و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آلدولاز: برای استخراج این آنزیم از دانه‌های گردو روش زیر اتخاذ گردید. ابتدا یک گرم از بافت لپه در ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج خرد و هموژنیزه گردید. غلظت نهایی مواد بکاررفته در بافر استخراج شامل تریس بازی ۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۸، فنیل متیل سولفونیل فلوراید (PMSF) ۱ میلی‌مولار، پلی‌وینیل پلی‌پیرولیدون (PVPP) ۰/۶ درصد و ۲- مرکاپتواتانول ۰/۱ درصد بود. عمل استخراج در هاون سرد انجام شد و عصاره حاصل پس از صاف‌شدن توسط دو لایه پارچه ململ به‌مدت ۲۵ دقیقه در ۱۶۰۰۰×g و در دمای ۵ درجه سیلیسیوس سانتریفیوژ (Hettich Universal 320R; Germany) شد.

فعالیت آنزیم آلدولاز به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد (Fukao *et al.*, 2003). مخلوط واکنش به حجم نهایی ۱ میلی‌لیتر شامل بافر تریس ۶۰ میلی‌مولار (با اسیدیته ۸)، فنیل هیدرازین هیدروکلرید ۳/۳ میلی‌مولار (۱۰۰ میکرولیتر از محلول پایه ۳۳ میلی‌مولار)، فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات ۱ میلی‌مولار (به‌عنوان سوبسترا؛ ۱۰۰ میکرولیتر از محلول پایه ۱۰ میلی‌مولار) و عصاره آنزیمی (۵۰ میکرولیتر) است. با افزودن سوبسترا، واکنش آنزیم آلدولاز آغاز شد و تریوز فسفات تولیدی با فنیل‌هیدرازین هیدروکلرید کمپلکسی تولید می‌کند که از طریق افزایش جذب نور در طول‌موج ۳۲۴ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر (Shimadzu-UV160A; Japan) در مد سینتیک قابل ردیابی است. میزان تغییرات جذب نور برای بازه زمانی ۱۵۰ ثانیه اندازه‌گیری شد و برای محاسبه فعالیت آنزیم به‌کار رفت. برای محاسبه فعالیت آنزیم از رابطه تغییریافته زیر استفاده شد:

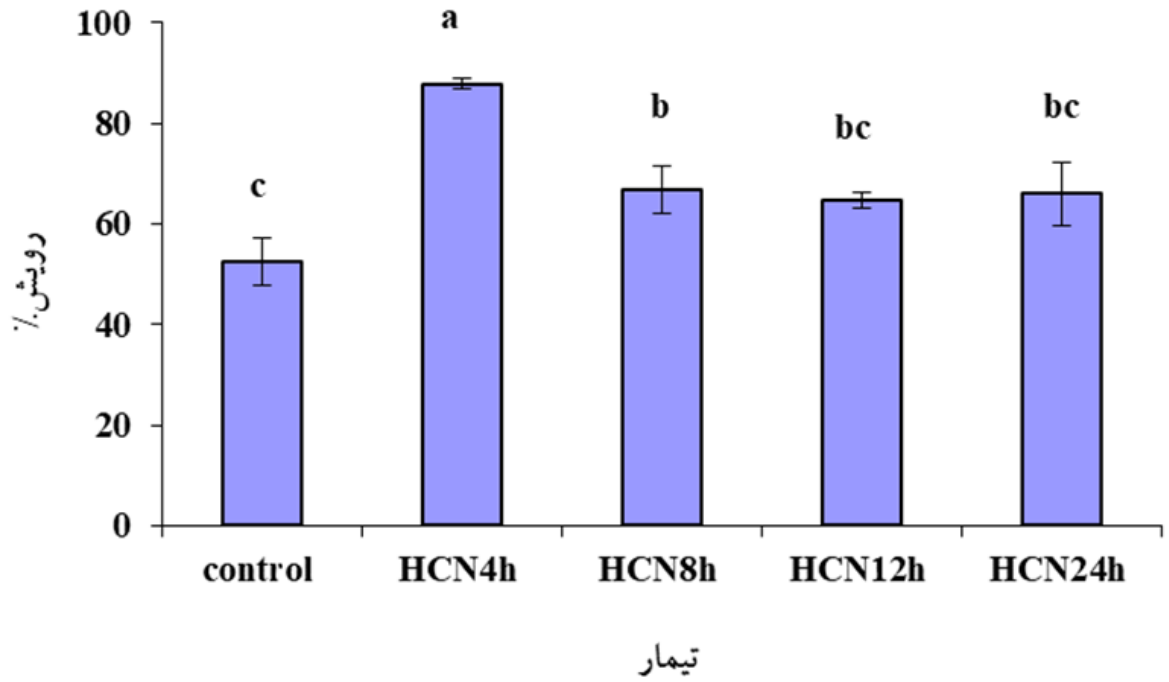
$$\text{فعالیت آنزیم} = \frac{\Delta OD}{\Delta t} \times \frac{V_1 \times V_3}{V_2} \times \frac{1}{W}$$

که در رابطه فوق فعالیت براساس تغییر جذب نور بر دقیقه ($\Delta OD/\Delta t$) بر گرم وزن تر بافت، V_1 حجم کل عصاره آنزیمی (میلی‌لیتر)، V_2 حجم عصاره آنزیمی در مخلوط واکنش (میلی‌لیتر)، V_3 حجم مخلوط واکنش (میلی‌لیتر) و W نشان‌دهنده وزن تر بافت (گرم) است.

برای مقایسه مقادیر اندازه‌گیری‌شده هر یک از پارامترهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بین تیمارهای مختلف از آنالیز

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-16]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.9.4]



شکل ۱- اثر تیمار با گاز سیانید (HCN) هیدروژن ۱ میلی‌مولار برای زمان‌های متفاوت بر درصد رویش تجمعی دانه‌های منفذگذاری شده گردو. حروف ناهمسان روی هر هیستوگرام نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها پس از آزمون LSD است.

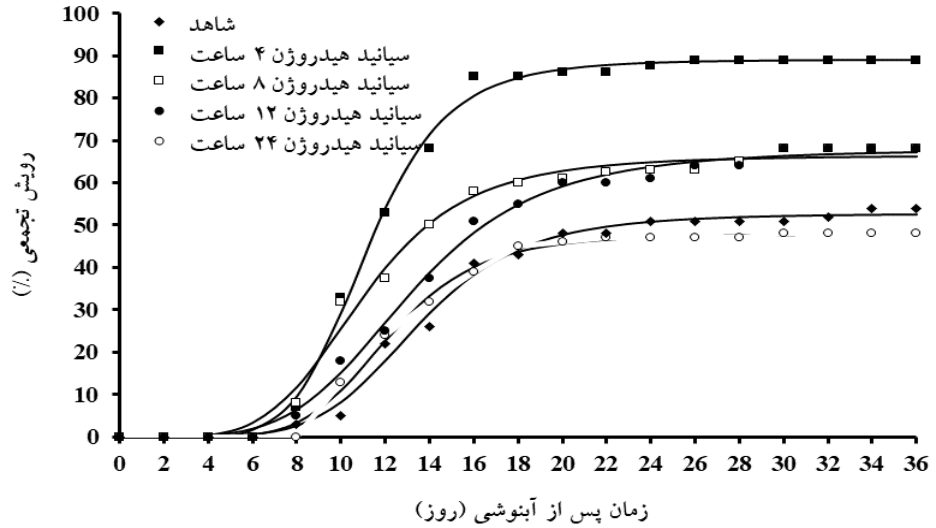
واریانس یک طرفه استفاده شد. میزان معنی‌دار بودن داده‌ها با آزمون LSD در سطح $P < ۰/۰۵$ مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج

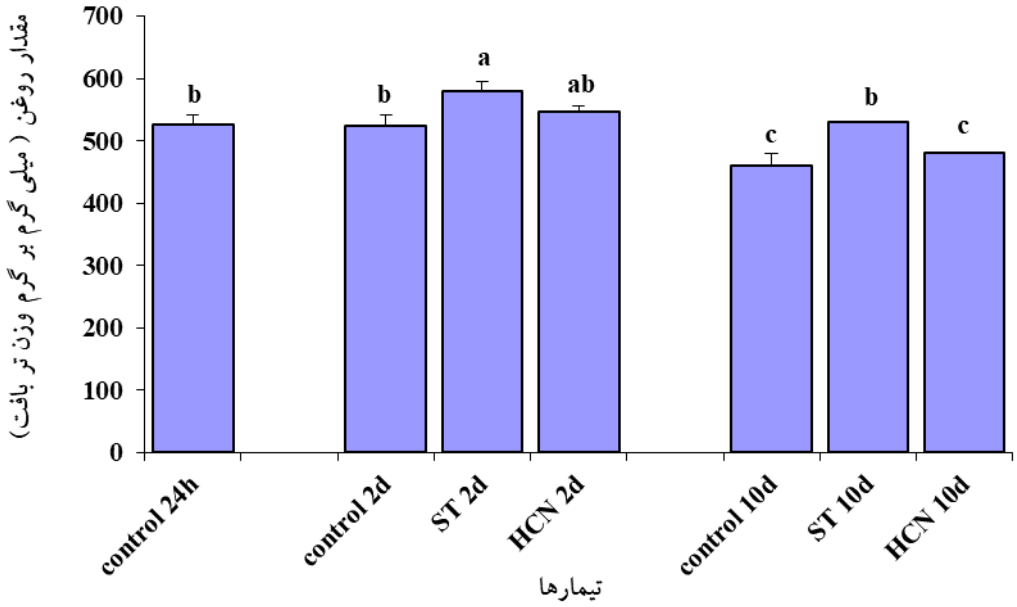
تأثیر گاز سیانیدهیدروژن بر رویش دانه‌های گردو: درصد رویش دانه‌های منفذگذاری‌شده گردو که به‌مدت ۴، ۸، ۱۲ و ۲۴ ساعت در معرض گاز سیانیدهیدروژن ۱ میلی‌مولار قرار داشتند به ترتیب ۸۸٪، ۶۸٪، ۶۸٪ و ۶۷٪ بود در حالیکه دانه‌های شاهد رویشی در حدود ۵۴٪ را نشان دادند (شکل ۱). در دانه‌های شاهد و دانه‌هایی که با سیانیدهیدروژن تیمار شده بودند در طی دوره ۱۰ روزه نگهداری در دمای ۲۷ درجه سیلیسیوس رویش قابل ملاحظه‌ای مشاهده نشد (شکل ۲)؛ اما پس از آن میزان رویش در کلیه تیمارها به‌ویژه در تیمار ۴ ساعت سیانیدهیدروژن به‌سرعت افزایش یافت و در طی یک دوره ۱۰ روزه یعنی تا روز ۲۰ به حداکثر مقدار خود رسید.

تأثیر چینه‌سرمایی و گاز سیانیدهیدروژن بر میزان روغن‌های ذخیره‌ای: میزان روغن‌های ذخیره‌ای در دانه‌هایی که در شرایط چینه‌سرمایی قرار داشتند یا پس از آبنوشی به‌مدت چهار ساعت گاز سیانیدهیدروژن را دریافت کرده بودند، ۲ و ۱۰ روز پس از آغاز تیمار بررسی شد و با دانه‌های شاهد (دانه‌هایی که بعد از آبنوشی در درجه حرارت ۲۷ درجه سیلیسیوس نگهداری شده بودند) مقایسه گردید. میزان روغن‌های ذخیره‌ای در دانه‌های شاهد که فقط ۲۴ ساعت آبنوشی شده بودند ۵۲۷ میلی‌گرم به‌ازای وزن تر بافت بود. پس از گذشت دو روز میزان روغن‌های ذخیره‌ای در دانه‌هایی که در مرحله چینه‌سرمایی قرار داشتند ۵۸۰ میلی‌گرم به‌ازای وزن تر بافت و در دانه‌هایی که با سیانید تیمار شده بودند ۵۴۷ میلی‌گرم به‌ازای وزن تر بافت بود. در دانه‌های شاهد مقدار روغن‌های ذخیره‌ای پس از گذشت دو روز ۵۲۳ میلی‌گرم به‌ازای وزن تر بافت بود. میزان روغن‌های ذخیره‌ای پس از ۱۰ روز در دانه‌های شاهد، تیمار چینه‌سرمایی و تیمار گاز سیانید هیدروژن به‌ترتیب ۴۶۰، ۵۳۰ و ۴۸۰ میلی‌گرم به‌ازای وزن تر بافت بود (شکل ۳). نتایج نشان می‌دهد که پس از ۱۰ روز، در دانه‌های شاهد و همچنین تیمارشده با گاز سیانیدهیدروژن،

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-16]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.9.4]



شکل ۲- تغییر درصد رویش دانه‌های گردوی شاهد (–♦–) و تیمارشده با گاز سیانیدهیدروژن (HCN) به‌مدت ۴ ساعت (–■–)، ۸ ساعت (–□–)، ۱۲ ساعت (–●–) و ۲۴ ساعت (–○–) در طی کشت دانه‌ها به‌مدت ۳۶ روز در دمای ۲۷ درجه سیلیسیوس در بستر شنی.

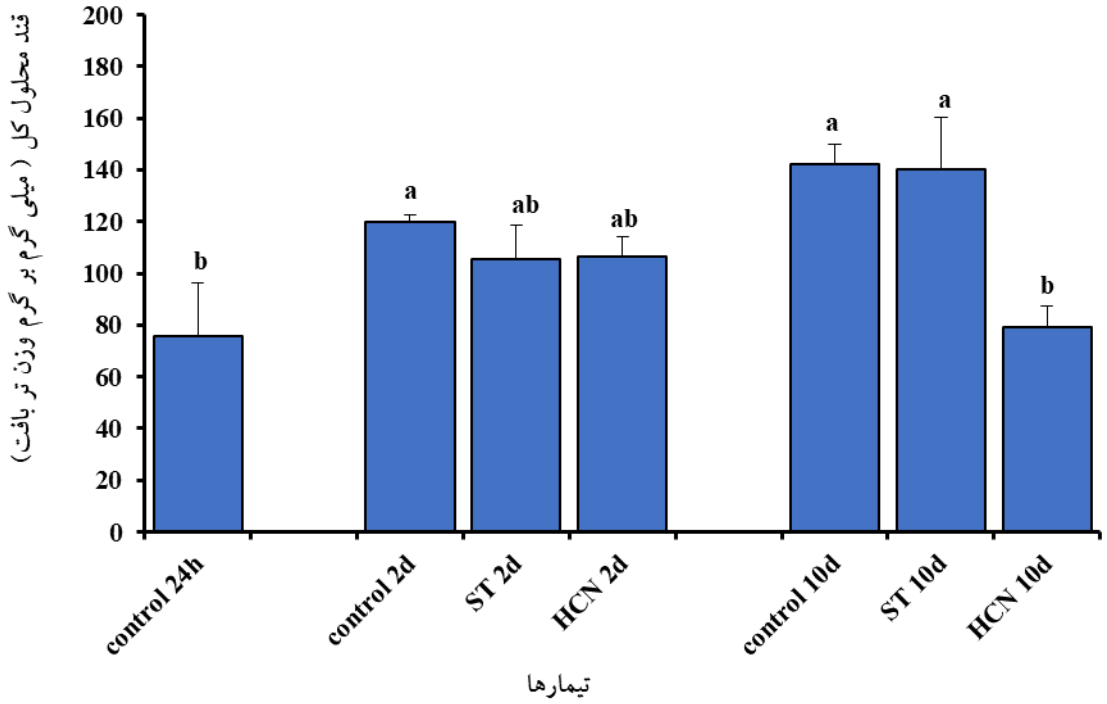


شکل ۳- مقدار روغن‌های ذخیره‌ای پس از ۲ و ۱۰ روز در دانه‌های منفذگذاری شده گردو در حال تیمار چینه‌سرمایی (ST) یا پس از تیمار با گاز سیانیدهیدروژن (HCN). حروف ناهمسان روی هر هیستوگرام نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها پس از آزمون LSD است.

کاهش معنی‌داری در میزان روغن‌های ذخیره‌ای نسبت به دانه‌های تیمار چینه‌سرمایی اتفاق افتاده است.

تأثیر چینه‌سرمایی و گاز سیانیدهیدروژن بر میزان قند محلول کل: مقدار قند محلول کل در دانه‌های تیمارشده به روش چینه‌سرمایی یا دانه‌های تیمارشده با گاز سیانیدهیدروژن پس از ۲ و ۱۰ روز بررسی شد و با دانه‌های شاهد مقایسه گردید (شکل ۴). مقدار قند محلول کل در دانه‌های شاهد که فقط ۲۴ ساعت آبنوشی شده بودند ۷۵/۷ میلی‌گرم به‌ازای وزن تر بافت بود. پس از گذشت دو روز میزان قند محلول کل در دانه‌های شاهد، در حال چینه‌سرمایی و در دانه‌های تیمارشده با گاز سیانیدهیدروژن به‌ترتیب ۱۲۰، ۱۰۵/۷ و ۱۰۶/۷ میلی‌گرم

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-16]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.9.4]



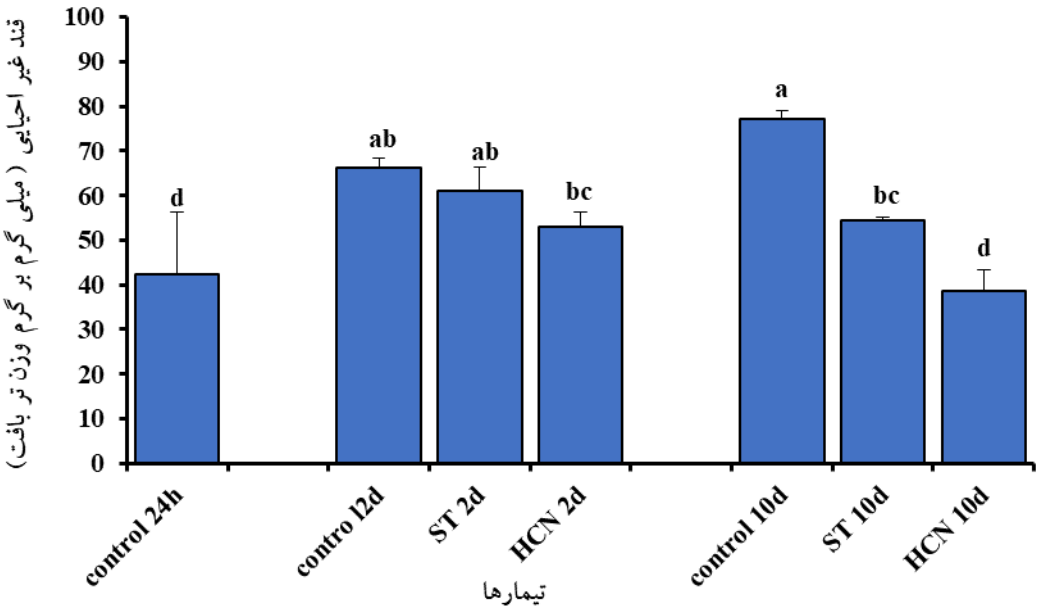
شکل ۴- مقدار قند محلول کل پس از ۲ و ۱۰ روز در دانه‌های منفذگذاری شده گردو در حال چینه‌سرمایی (ST) یا پس از تیمار با گاز سیانیدهیدروژن (HCN). حروف ناهمسان روی هر هیستوگرام نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها پس از آزمون LSD است.

به‌ازای وزن تر بافت بود که به لحاظ آماری تفاوت مقادیر بدست آمده معنی‌دار نبود. مقدار قند محلول کل پس از ۱۰ روز در دانه‌های شاهد، دانه‌های در حال چینه‌سرمایی و دانه‌های تیمارشده با گاز سیانیدهیدروژن به‌ترتیب ۱۴۲/۳، ۱۴۰/۳ و ۷۹/۳ میلی‌گرم به‌ازای وزن تر بافت بود. مقایسه میانگین داده‌ها در سطح ۵ درصد نشان‌دهنده کاهش معنی‌دار قند محلول کل در تیمار سیانید نسبت به سایر تیمارها است و همان‌طور که ملاحظه می‌گردد قند محلول کل دانه‌های ۱۰ روزه در تیمار سیانیدهیدروژن به‌طور معنی‌داری نسبت به دانه‌های شاهد ۱۰ روزه و تیمار چینه‌سرمایی ۱۰ روزه کمتر است.

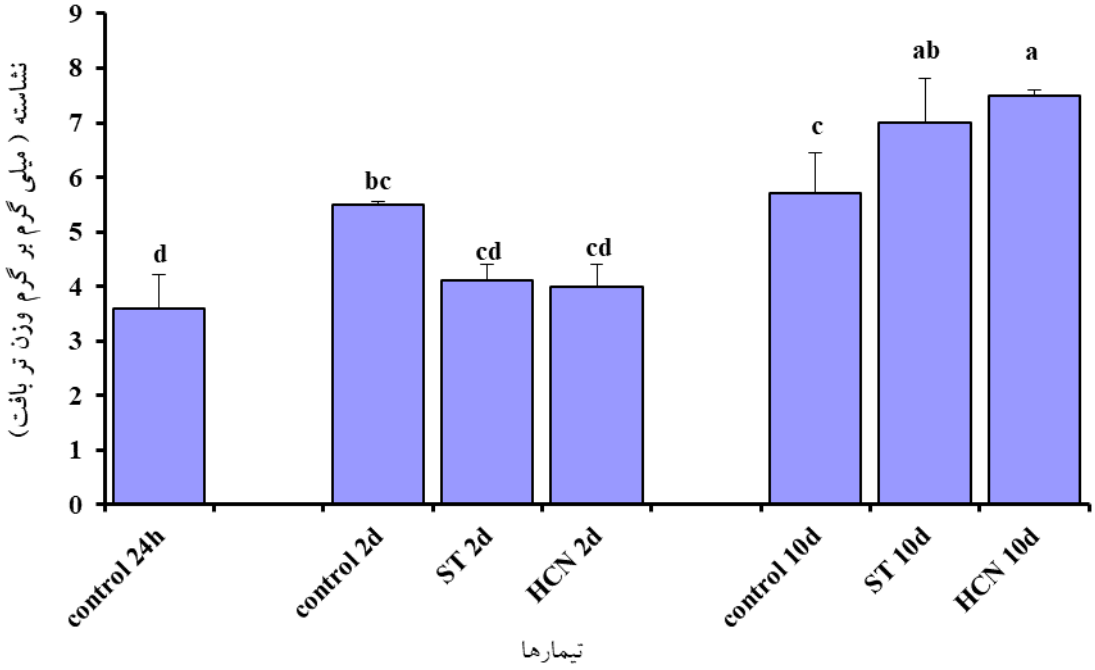
تأثیر چینه‌سرمایی و گاز سیانیدهیدروژن بر میزان قند-های غیراحیایی: مقدار قندهای غیراحیایی در دانه‌های در حال چینه‌سرمایی یا دانه‌هایی که چهار ساعت با گاز سیانیدهیدروژن تیمار شده بودند پس از ۲ و ۱۰ روز بررسی شد و با دانه‌های شاهد مقایسه گردید. مقدار قندهای غیراحیایی در دانه‌های شاهد با ۲۴ ساعت آبنوشی ۴۲/۳ میلی‌گرم به‌ازای وزن تر بافت بود. مقدار این قندها پس از دو روز در دانه‌های شاهد، چینه‌سرمایی و دانه‌های تیمارشده با گاز سیانیدهیدروژن به‌ترتیب ۶۶/۳، ۶۱ و ۵۳ میلی‌گرم به‌ازای وزن تر بافت بود که از نظر آماری با همدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند. مقدار قندهای غیراحیایی پس از گذشت ۱۰ روز در دانه‌های شاهد، چینه‌سرمایی و در دانه‌های تیمارشده با گاز سیانیدهیدروژن به‌ترتیب ۷۷، ۵۴/۳ و ۳۸/۷ میلی‌گرم به‌ازای وزن تر بافت بود (شکل ۵). مقایسه میانگین داده‌ها در سطح ۵ درصد نشان‌دهنده کاهش معنی‌دار قندهای غیراحیایی در تیمار سیانیدهیدروژن ۱۰ روزه نسبت به شاهد ۱۰ روزه و چینه‌سرمایی ۱۰ روزه است.

تأثیر چینه‌سرمایی و گاز سیانیدهیدروژن بر میزان نشاسته: مقدار نشاسته در دانه‌های در حال چینه‌سرمایی یا تیمارشده با گاز سیانیدهیدروژن پس از ۲ و ۱۰ روز بررسی شد و با دانه‌های شاهد مقایسه گردید. مقدار نشاسته در دانه‌های شاهد که

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-16]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.9.4]



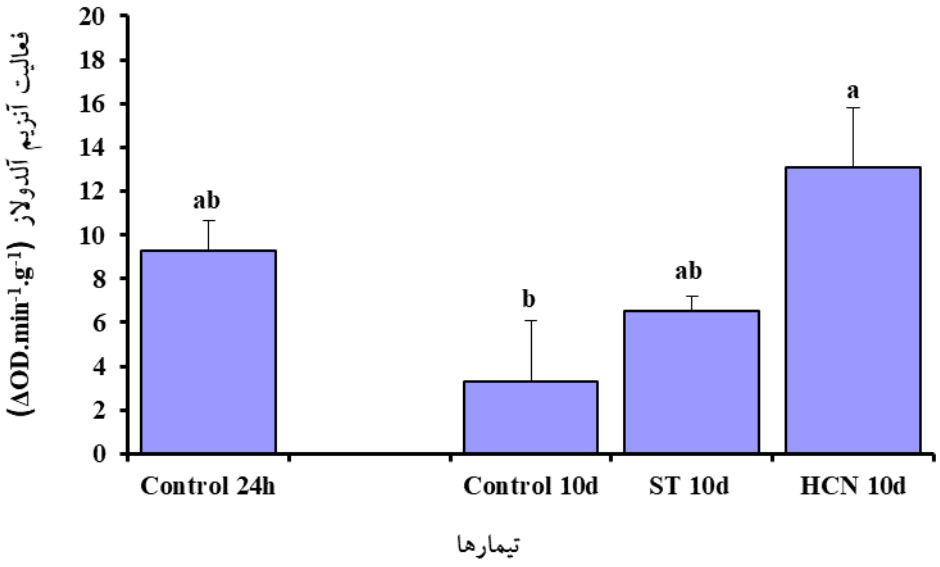
شکل ۵- مقدار قندهای غیر احیایی پس از ۲ و ۱۰ روز در دانه‌های منفذگذاری شده گردو در حال چینه‌سرمایی (ST) یا پس از تیمار با گاز سیانید هیدروژن (HCN). حروف ناهمسان روی هر هیستوگرام نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها پس از آزمون LSD است.



شکل ۶- مقدار نشاسته پس از ۲ و ۱۰ روز در دانه‌های منفذگذاری شده گردو در حال چینه‌سرمایی (ST) یا پس از تیمار با گاز سیانید-هیدروژن (HCN). حروف ناهمسان روی هر هیستوگرام نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها پس از آزمون LSD است.

سیانیدهیدروژن مقدار نشاسته پس از دو روز به‌ترتیب ۵/۵، ۴/۱ و ۴ میلی‌گرم به‌ازای وزن تر بافت بود که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشتند. مقدار نشاسته در دانه‌های شاهد، چینه‌سرمایی و تیمار گاز سیانیدهیدروژن پس از ۱۰ روز به‌ترتیب به ۵/۷، ۷ و ۷/۵ میلی‌گرم به‌ازای وزن تر بافت بود (شکل ۶). مقایسه میانگین داده‌ها در سطح ۵ درصد نشان‌دهنده

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-16]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.9.4]



شکل ۷- فعالیت آنزیم آلدولاز لپه پس از ۱۰ روز در دانه‌های تیمارشده با گاز سیانیدهیدروژن (HCN) یا در حال چینه‌سرمایی (ST). حروف ناهمسان روی هر هیستوگرام نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها پس از آزمون LSD است.

افزایش معنی‌دار نشاسته در تیمار سیانیدهیدروژن و چینه‌سرمایی پس از گذشت ۱۰ روز نسبت به دانه‌های شاهد ۱۰ روزه است.

تأثیر چینه‌سرمایی و گاز سیانیدهیدروژن بر فعالیت آنزیم آلدولاز: میزان فعالیت آنزیم آلدولاز در لپه دانه‌هایی که با گاز سیانیدهیدروژن تیمار شده بودند پس از ۱۰ روز معادل ۱۳/۱ بر دقیقه بر گرم وزن تر بافت بود که در مقایسه با دانه‌های در حال چینه‌سرمایی و دانه‌های شاهد برای مدت مشابه بیشترین میزان را داشت (شکل ۷).

بحث

فرآیند جذب آب بوسیله دانه دارای سه مرحله است. مرحله اول (فاز ۱) جذب آب سریع بوده و مربوط به اختلاف پتانسیل آب (ψ) بین بافت خشکیده جنین و محیط اطراف است و در طی این مرحله محتوای آب جنین به‌سرعت افزایش می‌یابد. در انتهای این مرحله جنین از آب اشباع‌شده و از آن به بعد یعنی شروع مرحله دوم (فاز ۲) میزان آب موجود در جنین کماکان ثابت باقی می‌ماند. مدت زمانی که دانه در فاز ۲ خواهد ماند وابسته به وضعیت فیزیولوژیکی جنین بوده به‌طوریکه در دانه‌هایی که جنین آنها خواب فیزیولوژیکی عمیقی دارد تا چندین ماه به درازا می‌کشد، اما در جنین‌های فاقد خواب، صرفاً در طی چندین ساعت این مرحله اتمام می‌یابد. مرحله سوم یا فاز ۳ با رشد ریشه‌چه و خروج آن از دانه (فرآیند رویش؛ germination) متمایز می‌گردد که در این مرحله جذب آب مجدداً فعال شده و میزان آب جنین افزایش می‌یابد (Bewley *et al.*, 2013). فاز ۲ آبنوشی بسیار مهم است زیرا در طی این مرحله رویدادهای مربوط به شکستن خواب جنین بوقوع می‌پیوندد؛ این در حالی است که تأثیر کلیه عواملی که در شکستن خواب جنین نقش دارند در مرحله ۳ یعنی رویش دانه آشکار می‌گردد. صرف‌نظر از نوع تیمارهای به‌کار رفته برای شکستن خواب، دانه‌های گردو حداقل به‌مدت ۱۰ روز در فاز ۲ آبنوشی توقف کرده (شکل ۲ و همچنین روجوع شود به Nezamdoost *et al.*, 2009) و پس از آن رویش می‌یابند. بنابراین در مطالعه حاضر دانه‌های گردویی که ۲۴ ساعت آبنوشی کرده بودند (شاهد آبنوشی؛ فاز ۱) به سه گروه تقسیم شدند. دسته اول به‌مدت ۱۰ روز در دمای ۵ درجه سیلسیوس

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-16]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.9.4]

چینه‌سرما شدند، دسته دوم ۴ ساعت با سیانیدهیدروژن تیمار و سپس به‌مدت ۱۰ روز در دمای ۲۷ درجه سیلیسیوس قرار گرفتند و بالاخره دسته سوم به‌عنوان شاهد دو تیمار اول مستقیماً در دمای ۲۷ درجه سیلیسیوس نگهداری شدند و ۲ و ۱۰ روز پس از شروع تیمارها آنالیزهای بیوشیمیایی بر روی آنها انجام شد. با انتخاب این طرح آزمایشی در مطالعه حاضر، مقایسه اثرات تیمار چینه‌سرمایی با تیمار سیانیدهیدروژن بر متابولیسم کربوهیدرات در طی فاز ۲ که در آن خواب دانه شکسته می‌شود (اما خروج ریشه‌چه یا رویش دانه هنوز وجود ندارد) انجام گرفت. هر چند ۱۰ روز چینه‌سرمایی برای شکستن کامل خواب دانه‌های گردو کافی نیست، اما با توجه به اثرات تشدیدکنندگی رویش دانه حتی در همین تیمار (Nezamdoost *et al*., 2009) و به‌منظور رعایت یکنواختی زمان تیماردهی با حداقل زمان لازم برای تکمیل فاز ۲، از تیمارهای طولانی‌تر چینه‌سرمایی استفاده نشد.

سیانید سبب تشدید رویش دانه‌های گردو گردید به‌طوریکه درصد رویش دانه‌هایی که در معرض گاز سیانیدهیدروژن قرار گرفته بودند در کلیه تیمارهای زمانی به‌استثنای ۱۲ و ۲۴ ساعت نسبت به دانه‌هایی که هیچ تیماری دریافت نکرده بودند، افزایش یافت (شکل ۱). بذرهای در حال خواب آفتابگردان تحت تیمار گاز سیانیدهیدروژن ۱ میلی‌مولار به مدت ۳ الی ۶ ساعت نیز رویشی در حدود ۹۵٪ را نشان دادند (Oracz *et al*., 2008). البته کارایی گاز سیانیدهیدروژن بر تشدید رویش دانه‌های گردو در مقایسه با برخی هورمون‌ها بیشتر است. میزان رویش دانه‌های گردو که در محیط‌کشت MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر کنتین، ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آمینوپورین و ۲ میلی‌گرم بر لیتر جیبرلین در ۵ درجه سانتی‌گراد تیمار شده بودند، ۶۶/۶٪ بود (Kaur *et al*., 2006). اولین علائم رویش در دانه‌های تیمارشده با سیانیدهیدروژن پس از حدود ۱۰ روز نگهداری در دمای ۲۷ °C مشاهده شد (شکل ۲). این امر نشان می‌دهد که در طی این دوره، تیمار سیانیدهیدروژن سبب شکسته‌شدن خواب دانه‌ها شده است ولی مشخص‌شدن تأثیر قطعی و متفاوت این تیمارها بر رویش دانه‌های گردو نیازمند زمان بیشتری در حدود حداقل ۲۵ روز است. نتایج مشابهی در خصوص دانه‌های گردویی که تیمار استراتیفیکاسیون سرد را دریافت کرده بودند گزارش گردید (Nezamdoost *et al*., 2009; Keshavarzian *et al*., 2013). تیمار چینه‌سرمایی، از طریق تغییر در حساسیت بذر در حال خواب نسبت به آبسیزیک اسید خارجی یا تغییر در سطح آبسیزیک اسید جنین در شکست خواب مؤثر است (Bewley *et al*., 2013). دمای زیاد در مقابل، سبب افزایش بیوسنتز آبسیزیک اسید و درنتیجه ماندگاری خواب بذر می‌شود (Malek *et al*., 2022).

در طی چینه‌سرمایی، گلوکونئوژنز ذخایر لیپیدی دانه‌های گردو فعال می‌گردد (Nezamdoost *et al*., 2009; Keshavarzian *et al*., 2013; Gerivani *et al*., 2016). در یک دوره ۱۰ روزه میزان روغن‌های ذخیره‌ای دانه‌های گردو در دانه‌های آبنوشی‌شده شاهد به میزان ۱۳٪ و در دانه‌های تیمار شده با گاز سیانیدهیدروژن به میزان ۹٪ کاهش یافت که این امر نشان‌دهنده هیدرولیز محسوس ذخایر روغنی در آنهاست (شکل ۳). تیمار چینه‌سرمایی در مدت ۱۰ روز به‌طور معنی‌داری سبب کاهش روغن‌های ذخیره‌ای نشد. فقدان کاهش معنی‌دار روغن‌های ذخیره‌ای پس از ۱۰ روز در دانه‌های در حال چینه‌سرمایی به‌دلیل سرعت پایین این فرآیند در این تیمار است، زیرا سرما سبب مهار تنفس میتوکندریایی ذخایر روغنی شده (Keshavarzian *et al*., 2013) و مسلماً با طولانی‌تر شدن دوره سرما، کاهش میزان روغن ذخیره‌ای دانه وضوح بیشتری می‌یابد. در این راستا کاهش معنی‌دار روغن‌های ذخیره‌ای در طی ۶۰ روز چینه‌سرمایی دانه‌های گردو گزارش شده است (Nezamdoost *et al*., 2009). شکستن ذخایر روغنی در دانه‌های گردو پس از آبنوشی را ناشی از فعالیت آنزیم لیپاز اسیدی مربوط به اجسام روغنی دانسته‌اند (Pournik *et al*., 2019). در چندین گونه درختی مثل سیب و فندق نیز افزایش فعالیت آنزیم لیپاز یا رونوشت آن در طی چینه‌سرمایی دانه گزارش شده است (Kozlowski and Pallardi, 1997; Lewak, 2011; Rosental *et al*., 2014). برخلاف گیاهان فوق شکستن

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-16]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.9.4]

ذخایر روغنی در دانه‌های گردو نه تنها در طی چینه‌سرمایی طولانی (۶۰ روز) بلکه در دانه‌های شاهدی که در دمای ۲۷ درجه سیلیسیوس قرار گرفته بودند نیز اتفاق افتاد (Nezamdoost *et al*., 2009) و سرعت این اضمحلال در این دانه‌ها به مراتب بیشتر از تیمار چینه‌سرمایی بود.

میزان کربوهیدرات‌ها شامل قندهای محلول کل، قندهای غیراحیایی و نشاسته تقریباً در کلیه تیمارها و دانه‌های شاهد که در دمای ۲۷ درجه سیلیسیوس قرار داشتند در طی دوره ۱۰ روزه افزایش یافت (اشکال ۴، ۵ و ۶). اما بسته به تیمار اعمال‌شده، ماهیت کربوهیدرات انباشته‌شده متفاوت بود. در دانه‌های شاهد و همچنین در دانه‌های تیمار چینه‌سرمایی، بیشترین افزایش مربوط به قندهای محلول کل و غیراحیایی بود، در حالیکه در دانه‌های تیمار سیانیدهیدروژن، بیشترین افزایش مربوط به نشاسته بود (اشکال ۴، ۵ و ۶). افزایش میزان کربوهیدرات‌ها در طی دوره ۱۰ روزه در دانه‌های گردو را می‌توان ناشی از گلوکونئوژنز ذخایر روغنی دانست، زیرا روغن‌های ذخیره‌ای در حدود ۷۰٪ وزن خشک دانه را تشکیل می‌دهند (Nezamdoost *et al*., 2009). بعلاوه قراردادن دانه‌های گردو در سرما سبب افزایش فعالیت آنزیم گلوکونئوژنزی فسفواینول پیروات کربوکسی کیناز (phosphoenol pyruvate carboxykinase) می‌گردد (Keshavarzian *et al*., 2013). در هر حال در دانه‌هایی که پیش‌تیمار گاز سیانیدهیدروژن را دریافت کرده بودند، پس از دو روز، میزان قندهای محلول و نشاسته در مقایسه با دانه‌های تیمارشده به روش چینه‌سرمایی یا دانه‌های شاهد به مراتب کمتر بود و فقط انباشتگی نشاسته در آن‌ها پس از آن در روز دهم مشاهده شد. بنابراین در دانه‌های گردو پیش‌تیمارشده با سیانیدهیدروژن، تا قبل از روز دهم کربوهیدرات‌ها به‌طور عمده کاتابولیسم می‌شوند. در این راستا افزایش ظرفیت انتقال قند از لپه به محور جنینی دانه‌های گردو در اواخر دوره ده روزه پس از تیمار با سیانیدهیدروژن گزارش شده است (Gerivani *et al*., 2016).

تیمار دانه‌های در حال خواب سیب با گاز سیانیدهیدروژن سبب افزایش فعالیت آنزیم فروکتوز۶- فسفات ۲-کیناز (F.6.P 2-Kinase) و انباشتگی فروکتوز ۲و۶ بیس فسفات می‌شود که این امر همراه با تشدید گلیکولیز و فعال‌شدن آنزیم پیروات کیناز است (Bogatek, 1995). سطوح نسبتاً پایین‌تر قندهای محلول ونشاسته در دانه‌های گردوی تیمارشده با گاز سیانیدهیدروژن قبل از روز دهم در مقایسه با تیمار چینه‌سرمایی و دانه‌های شاهد، شاید ناشی از اثر این گاز بر سطوح درون سلولی متابولیت پیام‌رسان فروکتوز ۲و۶ بیس فسفات (F 2,6 BP) باشد. در این راستا شاید بتوان فعالیت افزوده آنزیم آلدولاز در دانه‌های گردوی تیمارشده با گاز سیانیدهیدروژن (شکل ۷) را نشان‌دهنده شدت بیشتر گلیکولیز تا این زمان در این دانه‌ها دانست. نقش گلیکولیزی این آنزیم در بافت‌های هتروتروف گیاهان نشان داده شده است (van der Linde *et al*., 2011; Arpad Carrera *et al*., 2021). بعلاوه فعالیت این آنزیم برای رویش دانه در درجه حرارت‌های غیر بهینه (سرد یا گرم) لازم است (Cai *et al*., 2016). تیمار سیانیدهیدروژن از یک طرف مراحل اولیه گلیکولیز قندهای محلول در دانه‌های گردو را تسهیل کرده و در این راستا با افزایش فعالیت آنزیم آلدولاز سبب تبدیل هگزوزهای آزاد یا هگزوزهای مشتق از هیدرولیز ساکاروز به تریوزها می‌گردد. از طرف دیگر این تیمار با القای انباشتگی متابولیت سیگنالی فروکتوز ۲و۶ بیس فسفات مانع فعالیت آنزیم فروکتوز ۱و۶ بیس فسفاتاز (F.1,6 BPase) سیتوزولی و مهار گلوکونئوژنز می‌گردد. در این وضعیت انتقال بخشی از تریوز فسفات‌های تولیدشده (از گلیکولیز ساکارز و هگزوز فسفات‌ها یا گلوکونئوژنز ذخایر لیپیدی) به پلاست‌ها امکان‌پذیر شده و از این طریق سبب انباشتگی نشاسته درنهایت در روز دهم می‌شود. در این حالت سطوح کمتر قندهای محلول (که بخش قابل ملاحظه‌ای از آن قندهای احیایی است) در دانه‌هایی که با سیانیدهیدروژن تیمار شده‌اند در مقایسه با دانه‌های تیمار چینه‌سرمایی یا شاهد مؤید ممانعت فعالیت آنزیم فروکتوز ۱و۶ بیس فسفاتاز سیتوزولی و تشدید گلیکولیز است. لازم به ذکر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-16]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.9.4]

است که آنزیم فروکتوز ۱و۶ بیس فسفاتاز پلاستی برخلاف ایزوفورم سیتوزولی آن توسط فروکتوز ۲و۶ بیس‌فسفات مهار نشده (Nielsen *et al.*, 2004)، بنابراین انباشتگی نشاسته در پلاست، پس از ورود تریوز فسفات‌های ناشی از گلیکولیز محدود قندهای غیراحیایی و هگزوزها به این اندامک مختل نخواهد شد. نتایج حاصل از این مطالعه حاکی از این است که میزان فعالیت آنزیم آلدولاز در انتهای دوره ۱۰ روزه تیمار می‌تواند به‌عنوان نشانگر توان رویش دانه‌های گردو لحاظ گردد، زیرا بین میزان فعالیت آنزیم آلدولاز و درصد رویش نهایی دانه ارتباط مستقیمی وجود داشت. به این صورت که بیشترین و کمترین درصد رویش دانه‌های گردو به‌ترتیب در تیمار سیانیدهیدروژن (۴ ساعت) و شاهد مشاهده گردید و این دانه‌ها به‌ترتیب دارای بیشترین و کمترین فعالیت آلدولاز بودند (شکل ۲ و شکل ۷). دانه‌هایی که ۱۰ روز تیمار چینه‌سرمایی را دریافت کرده بودند نیز نسبت به دانه‌های شاهد رویش افزوده داشتند (Nezamdoost *et al.*, 2009)، هر چند این تیمار به اندازه سیانیدهیدروژن کارآمد نبود و به تناسب، فعالیت آلدولاز در دانه‌های تیمار چینه‌سرمایی ۱۰ روزه از دانه‌های شاهد بیشتر و از دانه‌های سیانیدهیدروژن کمتر بود (شکل ۷). شواهد جدید حاکی از این است که تأثیر سیانیدهیدروژن در متابولیسم تنفسی و به‌ویژه تأثیر آن بر زنجیره انتقال الکترون میتوکندریایی سبب کاهش حساسیت جنین به هورمون آبسیزیک اسید و درنتیجه تشدید رویش دانه می‌شود (Nonogaki, 2019).

در کل نتایج بدست آمده بیانگر این است که سیانیدهیدروژن با تشدید گلیکولیز (افزایش بیشتر فعالیت آنزیم آلدولاز) در ابتدا سبب کاهش کربوهیدرات‌ها شده اما با فعال شدن گلوکونئوژنز ذخایر لیپیدی و پیش از فعال‌شدن سیستم انتقال قند از لپه به محور جنینی هدایت بخشی از تریوز فسفات‌های تولیدشده به مسیر بیوسنتز نشاسته در پلاست را میسر می‌کند و این احتمالاً نشانه‌ای برای افزایش رویش دانه‌های گردو پس از تیمار با گاز سیانیدهیدروژن است.

قدردانی

این مطالعه برگرفته از طرح تحقیقاتی مصوب جلسه ۵۷ مورخ ۱۳۹۰/۱۱/۱۷ است که در قالب پایان‌نامه دانشجویی اجرا شد. از معاونت پژوهشی و مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه گلستان برای حمایت مالی انجام این مطالعه قدردانی می‌گردد. از جناب آقای دکتر فرشید قادری‌فر عضو هیأت علمی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان هم که در امورات گرافیک ما را یاری نمودند بسیار سپاسگزاریم.

منابع

Arpad Carrera, D., George, G. M., Fischer-Stettler, M., Galbier, F., Eicke, S., Truernit, E., Streb, S. and Zeeman, S. C. (2021) Distinct plastid fructose bisphosphate aldolases function in photosynthetic and non-photosynthetic metabolism in Arabidopsis. Journal of Experimental Botany 72: 3739-3755.

Bewley, J. D., Bradford, K., Hillhorst, H. and Nonogaki, H. (2013) Seeds: Physiology of development, germination and dormancy. Springer, New York.

Bogatek, R. (1995) The possible role of fructose 2,6-bisphosphate in the cyanide-mediated removal of embryonic in apple. Physiologia Plantarum 94: 460-464.

Cai, B., Li, Q., Xu, Y., Yang, L., Bi, H. and Ai, X. (2016) Genome-wide analysis of the fructose 1,6-bisphosphate aldolase (FBA) gene family and functional characterization of *FBA7* in tomato. Plant Physiology and Biochemistry 108: 251-265.

Ciacka, K., Krasuska, U., Otulak-Koziel, K. and Gniazdowska, A. (2019) Dormancy removal by cold stratification increases glutathione and S-nitrosoglutathione content in apple seeds. Plant Physiology and Biochemistry 138: 112-120.

Einali and Sadeghipour. 2007. Alleviation of dormancy in walnut kernels by moist chilling is in dependent from storage protein mobilization. Tree Physiology. 27:519-525. Fukao, T., Kennedy, R. A., Yamasue, Y. and Rumpho, M. E. (2003) Genetic and biochemical analysis of anaerobically-induced enzymes during seed germination of *Echinochloa crus-galli* varieties tolerant and intolerant of anoxia. Journal of Experimental Botany 54: 1421-1429.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-16]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.9.4]

Gerivani, Z., Sadeghipour, H. R., Aghdasi, M. and Azimmohseni, M. (2019) Redox metabolism and cell wall modifications as global and local targets respectively, of cyanide induced dormancy release of walnut kernels. Journal of Plant Physiology 240: 153013.

Gerivani, Z., Vashaeea, E., Sadeghipour, H. R., Aghdasi, M., Shobbar, Z. S. and Azimmohseni, M. (2016) Short versus long term effects of cyanide on sugar metabolism and transport in dormant walnut kernels. Plant Science 252: 193-204.

Gniazdowska, A., Krasuska, U. and Bogatek, R. (2010) Dormancy removal in apple embryos by nitric oxide or cyanide involves modifications in ethylene biosynthetic pathway. Planta 232: 1397-1407.

Handel, E. V. (1968) Direct microdetermination of sucrose. Analytical Biochemistry 22: 280-283.

Hara, A. and Radin, N. S. (1978) Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. Analytical Biochemistry 90: 420-426.

Kaur, R., Nirmal, Sh., Kumar, K., Sharma, D. R. and Sharma, S. D. (2006) In vitro germination of walnut (*Juglans regia* L.) embryos. Scientia Horticulturae 109: 385-388.

Keshavarzian, M., Gerivani, Z., Sadeghipour, H. R., Aghdasi, M. and Azimmohseni, M. (2013) Suppression of mitochondrial dehydrogenase accompanying post-glyoxylate cycle activation of gluconeogenesis and reduced lipid peroxidation events during dormancy breakage of *Walnut kernels* by moist chilling. Scientia Horticulturae 161: 314-323.

Kozlowski, T. T. and Pallardi, S. G. (1997) Seed germination and seedling growth. In: Growth Control in Woody Plants (ed. Mooney, H. A.) Pp. 14-72. Academic Press, Sandiego, CA, USA.

Lewak, S. (2011) Metabolic control of embryonic dormancy in apple seed: seven decades of research. Acta Physiologia Plantarum 33: 1-24.

Malek, M., Ghaderi-Far, F., Torabi, B. and Sadeghipour, H. R. (2022) Dynamics of seed dormancy and germination at high temperature stress is affected by priming and phytohormones in rapeseed (*Brassica napus* L.). Journal of Plant Physiology 269: 153614.

McCready, R. M., Guggolz, J., Silviera, V. and Owens, H. S. (1950) Determination of starch and amylose in vegtables. Analytical Chemistry 22: 1156-1158.

Nezamdoost, T., Tamaskani, F., Abdolzadeh, A. and Sadeghipour, H. R. (2009) Lipid mobilization, gluconeogenesis and ageing-related processes in dirmant walnut kernels during moist chilling and warm incubation. Seed Science Research 19: 91-101.

Nielsen, T., Hamborg, J., Hendrik, R. and Dorthe, V. (2004) Fructose 2,6-bisphosphatase: A traffic signal in plant metabolism. Plant Science 9: 556-563.

Nonogaki, H. (2019) The long-standing paradox of seed dormancy unfolded?. Trends in Plant Science 24: 989-998.

Oracz, K., Bailly, C., El-Maarouf-Bouteau, H., Bogatek, R. and Corbineau, F. (2008) Release of sunflower seed dormancy by cyanide: Cross-talk with ethylene signalling pathway. Journal of Experimental Botany 59: 2241-2251.

Oracz, K., Bailly, C., El-Maarouf-Bouteau, H., Farrant, J. M., Cooper, K., Belghazi, M., Job. C., Job, D. and Corbineau, F. (2007) ROS production and protien oxidation as a novel mechanism for seed dormancy alleviation. The Plant Journal 50: 452-465.

Pournik, S., Abbasi-Rostami, M., Sadeghipour, H. R. and Ghaderi-Far, F. (2019) True lipases beside phospholipases contribute to walnut kernel viability loss during controlled deterioration and natural aging. Environmental and Experimental Botany 164: 71-83.

Rosental, L., Nonogaki, H. and Fait, A. (2014) Activation and regulation of primary metabolism during seed germination. Seed Science Research 24: 1-15.

Siegien, I. and Bogatek, R. (2006) Cyanide action in plant – from toxic to regulatory. Acta Physiologia Plantarum 28: 483-497.

van der Linde, K., Gutsche, N., Leffers, H. M., Lindermayr, C., Muller, B., Holtgrefe, S. and Scheibe, R. (2011) Regulation of plant cytosolic aldolase functions by redox-modifications. Plant Physiology and Biochemistry 49: 946-957.

Zarei-Ghadikolaee, M., Abdolzadeh, A. and Sadeghipour, H. R. (2010) Arginase, glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase activities in moist chilled and warm-incubated walnut kernels. Trees 24: 425-433.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-16]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.9.4]

Enhanced aldolase activity and glycolysis as short term effects of hydrogen cyanide for the release of dormancy in walnut kernels

Maryam Mostafaloo[1], Hamid Reza Sadeghipour[1]*, Ahmad Abdolzadeh[1] and Majid Azim-Mohseni [2]

[1] Department of Biology, Faculty of Sciences, Golestan University, Gorgan
[2] Department of Statistics, Faculty of Sciences, Golestan University, Gorgan
(Received: 29/08/2021, Accepted: 02/02/2022)

Abstract

Seed dormancy removal by cold stratification is accompanied by the development of gluconeogenic competence. Although hydrogen cyanide can stimulate the germination of many herbaceous dormant seeds and increase gluconeogenesis in long term, its short-term effects on sugar metabolism require further investigation. Accordingly, an experiment in the form of complete randomized design was carried out to compare the effects of cold stratification and hydrogen cyanide on walnut (*Juglans regia* L.) kernel dormancy release and sugar metabolism. Imbibed walnut kernels were either cold stratified or pre-treated with hydrogen cyanide and changes in lipids, total soluble sugars, non-reducing sugars, starch as well as the activity of aldolase were assessed at two and 10 days after imbibition and compared to those of warm (27 °C) incubated kernels at the corresponding days. Walnut kernels pre-treated with hydrogen cyanide showed germination of about 88%, whereas the figure for warm incubated kernels was 52%. The cyanide-treated seeds before 10 days had lower levels of soluble sugars and starch but on the 10^{th} day, had the greatest starch and highest aldolase activity compared to the cold-stratified and warm-incubated kernels. Lipid mobilization occurred in both warm incubated and cyanide pre-treated seeds but it was undetectable in cold stratified kernels. It was assumed that cyanide stimulates sugar glycolysis in the short term as evidenced by greater aldolase activity and decreased carbohydrate levels and in the next step through the activation of lipid gluconeogenesis leads to starch biosynthesis and the greater germination potential of walnut kernels.

Keywords: Cold stratification, Hydrogen cyanide, *Juglans regia*, Lipid mobilization, Seed germination, Sugar metabolism

Corresponding author, Email: h.r.sadeghipour@gmail.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-16]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.9.4]