

ارزیابی درجه حرارت‌های کاردینال جوانه‌زنی بذر گیاه دارویی و بومی ایران، پونه‌سای انبوه (*Nepeta glomerulosa* Boiss.)

هدی مرادی^{*۱} - مجید عزیزی^۲ - وحید روشن^۳ - حسین آرویی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۳/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۵/۲۴

چکیده

گیاه دارویی پونه‌سای انبوه (*Nepeta glomerulosa* Boiss.) گیاهی است معطر و بومی ایران که متعلق به خانواده نعناعیان می‌باشد. یکی از مشکلات عمده در گیاهان دارویی این است که جوانه‌زنی بذر گیاهان در شرایط محیطی طبیعی مطلوب بوده، ولی تحت شرایط آزمایشگاهی یا زراعی، مناسب نیست. این پژوهش به منظور اطلاع از نحوه جوانه‌زنی بذر جهت استقرار موفق و مطلوب این گیاه، با بررسی خصوصیات مختلف جوانه‌زنی و تعیین درجه حرارت‌های کاردینال بذور، در دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۹۳-۹۲ انجام شد. تیمارها شامل تیمار سرمایی در ۴ سطح (۱، ۲، ۳ و ۴ هفته سرمادهی در دمای ۵ درجه سانتیگراد) و تیمار نیترات پتاسیم در ۴ سطح (صفر، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد) بودند، که به منظور ارزیابی خصوصیات جوانه‌زنی بذور این گیاه مورد استفاده قرار گرفت. همچنین اثر ۸ تیمار درجه حرارت ثابت شامل درجه حرارت‌های ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵ و ۴۰ درجه سانتیگراد و ۳ درجه حرارت متغیر شب و روز شامل درجه حرارت‌های ۵/۱۵، ۱۰/۲۰ و ۲۰/۳۰ درجه سانتیگراد بر درصد، سرعت و میانگین زمان جوانه‌زنی بذور، مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج حاصل از تجزیه‌ی واریانس و مقایسه‌ی میانگین نشان داد که اثر تیمار سرما بر بیشتر صفات اندازه‌گیری شده، معنی‌دار بود. در بین تیمارهای مورد استفاده، ۳ هفته سرمادهی و نیترات پتاسیم ۰/۱ درصد، بیشترین اثر مثبت را بر خصوصیات جوانه‌زنی بذر داشت، اگر چه بر درصد جوانه‌زنی تأثیر معنی‌داری نشان نداد. همچنین نتایج بدست آمده از تأثیر درجه حرارت‌های مختلف بر جوانه‌زنی بذور، نشان داد که، بیشترین درصد، سرعت و میانگین زمان جوانه‌زنی بذور این گونه در دامنه حرارتی ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتیگراد بود. بیشترین درصد و سرعت جوانه‌زنی بذور در درجه حرارت متغیر روز و شب ۲۰/۳۰ و ۱۰/۲۰ درجه سانتیگراد بدست آمد. نتایج حاصل از تجزیه رگرسیون بین سرعت جوانه‌زنی و دما نشان داد که درجه حرارت‌های ۱۵، ۲۲ و ۴۶ درجه سانتیگراد، به ترتیب به عنوان درجه حرارت‌های پایه، بهینه و بیشینه جوانه‌زنی برای گیاه پونه‌سای انبوه می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: درجه حرارت پایه، درجه حرارت بهینه، درجه حرارت بیشینه، سرمادهی، نیترات پتاسیم

مقدمه

ایران شناسایی شده است که ۳۹ گونه از آنان، بومی ایران می‌باشند (۱۸). گونه‌های مختلف این جنس اغلب در قاعده چوبی، دارای فرم‌های رویشی گوناگون و پوشیده از انواع کرک‌ها هستند. برگ‌ها در شکل و اندازه متنوع و اغلب در حاشیه دارای دندانه‌های هلالی می‌باشند. گل‌ها در چرخه‌های فاصله‌دار یا نزدیک به هم قرار دارند (۲۲).

یکی از مهم‌ترین مکانیزم‌های حفظ بقا در گیاهان، توانایی آن‌ها در به تأخیر انداختن جوانه‌زنی و خواب بذر است. خواب، استراحت یا وقفه موقت در رشد گیاه بوده، که در این وضعیت با وجود مناسب بودن شرایط برای جوانه‌زنی، بذر برای مدت نامعلومی در حالت استراحت باقی می‌ماند. معمولاً بذور گونه‌های وحشی، خواب شدیدتری را نشان می‌دهند. یکی از مشکلات اصلی در گیاهان دارویی این است که جوانه‌زنی بذر این گیاهان در شرایط محیطی طبیعی مطلوب بوده، ولی تحت شرایط آزمایشگاهی یا زراعی، مناسب

خانواده نعناعیان (Lamiaceae) یکی از بزرگترین خانواده‌های گیاهی می‌باشد که تنوع زیستی زیادی در سراسر جهان و مخصوصاً نواحی مدیترانه‌ای و مرطوب دارند. گیاهان موجود در این خانواده گیاهی، اهمیت زیادی از نظر کاربرد در صنایع غذایی، دارویی و آرایشی-بهداشتی دارند (۳۳). جنس پونه‌سا (*Nepeta*) نیز جزو این خانواده می‌باشد که دارای ۲۵۰ گونه یک یا چند ساله می‌باشد که در آسیا، اروپا و آفریقا پراکنده‌اند (۲۲). تاکنون ۶۷ گونه از این جنس در

۱، ۲ و ۴- دانش آموخته کارشناسی ارشد، استاد و دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

(*)- نویسنده مسئول: (Email: hodamoradi2719@gmail.com)

۳- استادیار، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی، شیراز

DOI: 10.22067/jhorts4.v31i4.45673

نیست (۲، ۲۷ و ۱۴).

در بحث اهلی سازی و کشت گیاهان دارویی، اطلاع از نحوه جوانه زنی بذر به منظور استقرار موفق و مطلوب گیاهان ضرورت دارد. خصوصاً این که بیشتر گیاهان دارویی که از عرصه های طبیعی برداشت می شوند، نسبت به گونه های زراعی و اصلاح شده به مدت زمان بیشتری برای جوانه زنی نیاز دارند. این امر می تواند ناشی از سرعت جوانه زنی پایین و یا نیازهای اکولوژیکی خاص هر گونه برای جوانه زنی و رشد باشد. با توجه به این که هر گونه گیاهی نیازهای خاص خود را برای جوانه زنی دارد و این امر در نتیجه سازگاری آن ها به محیط های متغیر و ناهمگن می باشد. لذا آگاهی از رفتار جوانه زنی بذور در طی فرآیند اهلی سازی گونه های وحشی که دسترسی به منبع بذری آن ها مشکل و نیازهای جوانه زنی آن ها ناشناخته می باشد، ضروری است. عوامل محیطی مختلف از جمله درجه حرارت و رطوبت، جوانه زنی را تحت تاثیر قرار می دهند (۱۱ و ۲۴).

پاسخ جوانه زنی بذور نسبت به درجه حرارت، به عوامل متعددی از جمله گونه های گیاهی، وارثه، منطقه رویش، کیفیت بذر و مدت زمان پس از برداشت بستگی دارد. درجه حرارت های مختلف با تأخیری که بر جوانه زنی می گذارند، ممکن است برای ارزیابی ویژگی های جوانه زنی و پتانسیل استقرار گونه های گیاهی مفید باشند (۹). برخی از مطالعات حاکی از آن است که به طور معمول افزایش دما در یک دامنه دمایی مناسب، باعث افزایش سرعت جوانه زنی به صورت خطی می شود ولی در دماهای بالاتر، افت شدیدی نشان می دهد. همچنین مشخص شده است که بذور گیاهان اهلی، جوانه زنی سریع و یکنواخت تری دارند. در حالیکه در گیاهان وحشی، به علت خواب بذر و یا پوسته سخت بذر، جوانه زنی با تأخیر بیشتر و غیر یکنواخت تری صورت می پذیرد (۲۳).

نجفی و همکاران (۲۰)، خیرخواه و همکاران (۱۲) و تبریزی و همکاران (۳۱)، با مطالعه روی گونه های دیگری از تیره نعنائیان که به ترتیب شامل پونه سالی بینالودی (*Nepeta binaludensis* Jamzad)، کاکوتی چندساله (*Ziziphora clinopodioides* Lam.) و آویشن خراسانی (*Thymus transcaspicus* Klokov) بودند، اثر منفی درجه حرارت های بالا را بر درصد و سرعت جوانه زنی در این گونه ها گزارش کردند.

سرما دهی بذور و همچنین تیمار بذر با نیترات پتاسیم نیز می تواند دارای اثرات مثبت در خصوصیات جوانه زنی بذور شود. همانگونه که کوچکی و عزیزی (۱۵) در گیاه کلپوره و همچنین ماچیا و همکاران (۱۶) در گیاه *Echinacea angustifolia* گزارش کردند که سرما دهی باعث افزایش سرعت جوانه زنی بذور شد. سعادتیان و همکاران (۲۵) نیز با مطالعه بر جوانه زنی بذور مرزه در شرایط تنش خشکی و بدون تنش، مشاهده کردند که در هر دو شرایط، تیمار بذور با نیترات پتاسیم موجب بهبود ویژگی های جوانه زنی شد. نیترات

پتاسیم، خواب بذر نیازمند به نور را در تاریکی برطرف می سازد و به عنوان یک عامل موثر در کاهش نیاز نوری و افزایش جوانه زنی شناخته شده است. نیترات پتاسیم در پاسخ به فرآیندهای متابولیکی بذور، مفید است. این ترکیب ممکن است موجب بیوستنژ اکسین شده و باعث شروع رویش جنین گردد (۱۰).

با توجه به افزایش تقاضا برای گیاهان دارویی، برداشت از طبیعت جوابگوی نیازها نمی باشد. همچنین بهره برداری ناپایدار و بی رویه از گونه های مختلف این جنس، موجب شده که این گونه ها در معرض خطر انقراض و فرسایش قرار گیرند (۲۵). لذا هدف از این تحقیق بررسی خصوصیات جوانه زنی این گیاه به عنوان اولین قدم در جهت کشت و اهلی کردن آن در سیستم های زراعی می باشد.

مواد و روش ها

بذور رسیده *Nepeta glomerulosa* Boiss در شهریور ماه ۱۳۹۲ از منطقه دشت تاتیه ماهوری در ناحیه قرق ده بید، واقع در شهرستان آباده، استان فارس، جمع آوری شدند. آزمایش اول در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۲ به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۶ تیمار و ۳ تکرار، به منظور بررسی هر دو اثر ساده و متقابل تیمارها، انجام شد. تیمارهای به کار برده شده در این آزمایش شامل تیمار سرما با ۴ سطح (۱، ۲، ۳ و ۴ هفته سرما دهی در دمای ۵ درجه سانتی گراد) و تیمار نیترات پتاسیم با ۴ سطح (صفر، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد) به صورت پیش تیمار بذر به مدت ۷۲ ساعت، بودند. پیش از انجام آزمایش، بذرها با محلول ۵ درصد هیپوکلرید سدیم به مدت ۵ دقیقه ضد عفونی شدند. سپس به تعداد ۲۰ عدد در پتری دیش های شیشه ای حاوی یک لایه کاغذ صافی واتمن قرار داده شدند و به میزان ۵ میلی لیتر آب مقطر به هر پتری اضافه شد. با توجه به نیاز بذور به آبیاری در طول آزمایش، این عمل مجدداً تکرار گردید. سپس پتری ها به دمای ۵ درجه سانتی گراد منتقل شدند. پس از پایان مدت زمان تیمار سرمایی مورد نظر (یعنی پس از طی ۱، ۲، ۳ و ۴ هفته) پتری ها به ژرمیناتور (با نور معمولی ۱۶ ساعت روشنایی/ ۸ ساعت تاریکی) و با دمای معمولی ۲۵ درجه سانتی گراد، منتقل شدند. پس از رشد مطلوب گیاهچه ها (۱۴ روز پس از شروع آزمایش)، درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی، میانگین زمان جوانه زنی، تعداد روزهای لازم برای جوانه زدن ۵۰ درصد از بذرها (T₅₀)، درصد جوانه زنی تجمعی، طول ریشه چه و ساقه چه و همچنین وزن تر و خشک ریشه چه و ساقه چه اندازه گیری شد.

آزمایش دوم در سال ۱۳۹۳ به منظور تعیین دماهای کاردینال بذر طراحی شد. در این بررسی اثر ۸ درجه حرارت ثابت شامل درجه حرارت های ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵ و ۴۰ درجه سانتی گراد و همچنین ۳ درجه حرارت متغیر روز و شب (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲

از معادلات زیر انجام شد. که در آن‌ها درجه حرارت و سرعت جوانه‌زنی به ترتیب به عنوان متغیر مستقل و وابسته در نظر گرفته شدند. مدل خطوط متقاطع^۶ (ISL) با استفاده از معادلات زیر رسم شد (۱۳ و ۲۹):

$$F = \text{if } (T < T_o, \text{ region 1 } (T), \text{ region 2 } (T))$$

$$\text{Region 1}(T) = b * (T - T_b)$$

$$\text{Region 2}(T) = c * (T_m - T)$$

در این معادله‌ها f سرعت جوانه‌زنی (بر روز)، T درجه حرارت بر حسب سانتی‌گراد، T_o، T_b و T_m به ترتیب درجه حرارت‌های پایه، بهینه و بیشینه بر حسب سانتی‌گراد و b و c به عنوان ضرایب رگرسیون در نظر گرفته شدند.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار JMP 8 آنالیز شد، میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی (HSD) در سطح احتمال ۵ درصد، مورد مقایسه قرار گرفتند و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel، انجام گرفت. همچنین به منظور تعیین دماهای کاردینال جوانه‌زنی بذر، از نرم افزار Sigma Plot 12.3 استفاده شد (برای این روش از داده‌های خام بدون انجام تبدیل استفاده شد).

نتایج و بحث

آزمایش اول: تاثیر تیمارهای سرما و نیترا پتاسیم بر خصوصیات جوانه‌زنی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که بین تیمارهای سرما و نیترا پتاسیم جهت تحریک جوانه‌زنی بذر پونه‌سای انبوه از نظر تاثیرگذاری بر ویژگی‌های سرعت جوانه‌زنی، T₅₀، میانگین زمان جوانه‌زنی، طول ساقچه‌چه، طول ریشه‌چه، وزن تر و خشک ساقچه‌چه و وزن خشک ریشه‌چه، در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری وجود داشت، اما درصد جوانه‌زنی و وزن تر ریشه‌چه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱). به منظور بررسی برهمکنش احتمالی بین سرما و نیترا پتاسیم در ارتباط با صفات ارزیابی شده، اطلاعات مربوط به این تیمارها به صورت فاکتوریل دوعاملی تجزیه واریانس شد. به طور کلی، برهمکنش معنی‌داری بین اثرات تیمار سرما و نیترا پتاسیم وجود نداشت. چنین استدلال می‌شود که فرآیند جوانه‌زنی و رشد اولیه این گیاهچه‌ها چندان تحت تاثیر نیترا پتاسیم نمی‌باشند. به عبارتی دیگر، چون نیترا پتاسیم می‌تواند جایگزین نیاز نوری بذر برای جوانه‌زنی باشد، با توجه به عکس‌العمل کم بذر این گیاه به نیترا پتاسیم می‌توان نتیجه گرفت که بذر گیاه پونه‌سای انبوه نیاز چندانی به نور برای جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه ندارند.

ساعت تاریکی) شامل درجه حرارت‌های ۵/۱۵، ۱۰/۲۰ و ۲۰/۳۰ درجه سانتی‌گراد، در ژرمیناتورهای با رطوبت ۶۰ درصد، در یک دوره‌ی ۱۴ روزه (تا زمانی که بذر برای سه روز متوالی جوانه زنی نداشتند)، بدون اعمال سرمادهی، مورد مطالعه قرار گرفتند. ارزیابی درجه حرارت‌های کاردینال بذر، به صورت طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار، مورد مطالعه قرار گرفت. پس از پایان دوره‌ی شمارش بذر در هر جوانه‌زنی، میانگین زمان جوانه‌زنی^۱، سرعت جوانه‌زنی^۲ و همچنین دمای بهینه^۳، دمای پایه^۴ و دمای بیشینه^۵ برای جوانه‌زنی بذر محاسبه شد. در هر دو آزمایش ذکر شده بذر جوانه‌زده در هر ۲۴ ساعت شمارش می‌شدند و بذری جوانه‌زده محسوب شد که ریشه‌چه آن به اندازه ۲ میلی‌متر یا بیشتر از بذر خارج شده باشد. ارزیابی جوانه‌زنی در روز چهاردهم، زمانی که تعداد بذرهای جوانه‌زده برای ۳ روز متوالی ثابت ماند، به اتمام رسید. و این زمان به عنوان پایان جوانه‌زنی در نظر گرفته شد.

جهت تعیین درصد جوانه‌زنی از معادله زیر استفاده شد (۶):
درصد جوانه‌زنی = ۱۰۰ × (تعداد کل بذر ÷ تعداد بذر جوانه زده در پایان شمارش)

سرعت جوانه‌زنی طبق فرمول زیر به دست آمد (۶):

$$RS = \sum_{i=1}^n \frac{S_i}{D_i}$$

RS: سرعت جوانه‌زنی

S_i: تعداد بذر جوانه‌زده در هر شمارش

D_i: تعداد روز تا شمارش n ام

برای محاسبه تعداد روزهای لازم جهت جوانه‌زدن ۵۰ درصد از بذر، از رابطه زیر استفاده شد (۸):

$$t_{50} = t_i + \left[\frac{(N+1)/2 - n_i}{n_j - n_i} \right] \cdot (t_j - t_i)$$

در این رابطه، N تعداد کل بذرهای جوانه‌زده، n_i و n_j، تعداد بذرهای جوانه‌زده در زمان‌های t_i و t_j می‌باشد. به شرطی که n_i < (N+1)/2 < n_j باشد.

و میانگین زمان جوانه‌زنی از رابطه زیر به دست آمد (۴):

$$MGT = \frac{\sum DN}{n}$$

N: تعداد بذرهایی که در روز D ام جوانه زده‌اند

n: تعداد کل بذرهای جوانه‌زده

D: تعداد روز از آغاز جوانه‌زنی

تعیین دماهای کاردینال (پایه، بهینه و بیشینه) با استفاده از مدل رگرسیونی بین سرعت جوانه‌زنی و درجه حرارت‌های مختلف با استفاده

- 1 - Mean Germination Time (MGT)
- 2 - Germination Rate
- 3 - Optimum Temperature
- 4 - Base Temperature
- 5 - Max Temperature

6 - Intersected-lines Model (ISL)

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات جوانه‌زنی بذر گیاه دارویی پونسای‌انبوه (*Nepeta glomerulosa*) در تیمارهای سرما و نیترات پتاسیم
 Table 1- Analysis of variance for seed germination characteristics of *Nepeta glomerulosa* seed under cold period and potassium nitrate treatments

منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی (df)	درصد جوانه زنی Germination Percentage	سرعت جوانه زنی (روز) Germination Rate (day)	T ₅₀	MGT (day)	طول ساقه چه (mm) shoot length	طول ریشه چه (mm) root length	وزن تر ساقه چه (gr) shoot fresh weight	وزن تر ریشه چه (gr) root fresh weight	وزن خشک ساقه چه (gr) shoot dry weight	وزن خشک ریشه چه (gr) root dry weight
سرما Cold	3	457.6 ^{ns}	1.9*	16.1*	9.1*	112.8*	17.0 ^{ns}	0.13*	0.30 ^{ns}	0.0007*	0.00006*
نیترات پتاسیم Potassium Nitrate	3	391.0 ^{ns}	0.3 ^{ns}	14.4*	5.3 ^{ns}	146.4*	118.8**	0.18*	0.10 ^{ns}	0.0004*	0.00004 ^{ns}
سرما* نیترات پتاسیم Cold*Potassium Nitrate	9	129.9 ^{ns}	0.3 ^{ns}	3.3 ^{ns}	1.7 ^{ns}	42.0 ^{ns}	27.4*	0.02 ^{ns}	0.10 ^{ns}	0.00003 ^{ns}	0.00005 ^{ns}
خطا Error	32	447.9	0.6	3.5	2.0	38.3	12.0	0.02	0.10	0.00006	0.00004
ضریب تغییرات (%) CV		27	27	33	23	14	21	25	35	31	32

*، **، ns به ترتیب به تفاوت معنی‌دار و معنی‌داری در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد را نشان می‌دهد. *، ** and ns show significant at the levels of p<0.05, p<0.01 and not significant, respectively

تیمارهای ۳ هفته سرمادهی و نیترات پتاسیم ۰/۱ درصد، بهترین تیمارها از نظر داشتن تاثیرات مثبت بر خصوصیات جوانه‌زنی بذر گیاه دارویی *N. glomerulosa* بودند.

آزمایش دوم: تاثیر تیمارهای مختلف حرارتی بر خصوصیات جوانه‌زنی بذر

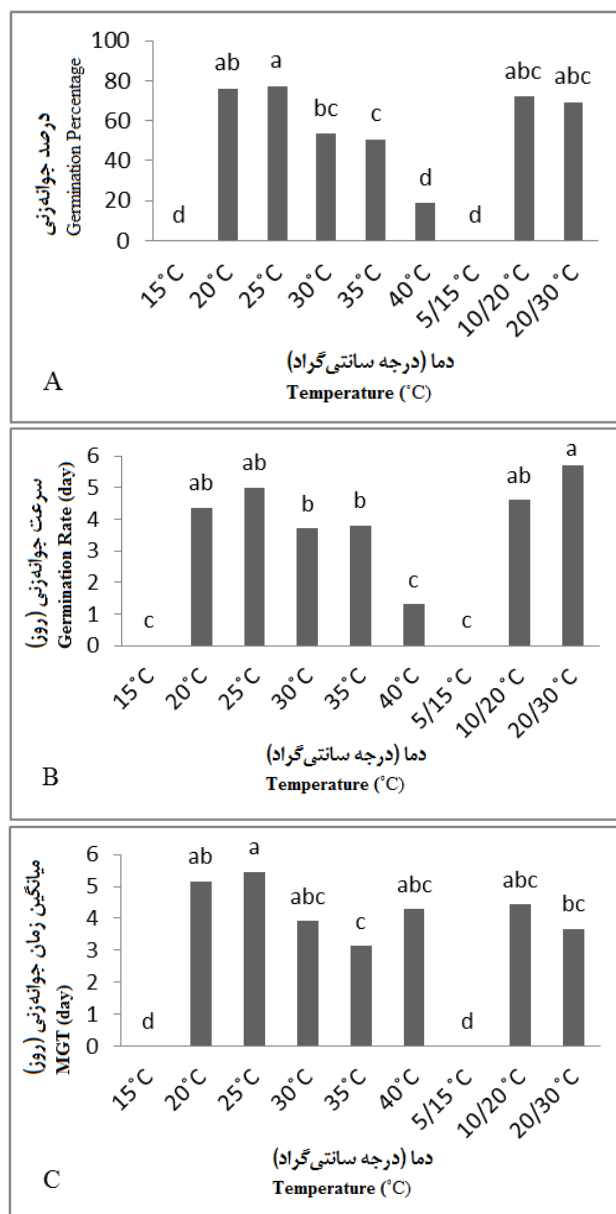
همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، تیمارهای درجه‌حرارت دارای اثرات معنی‌داری ($P \leq 0.01$)، بر درصد، سرعت و میانگین زمان جوانه‌زنی این گونه بود. بیشترین درصد جوانه‌زنی بذر (۷۶ و ۷۷/۳ درصد) و میانگین زمان جوانه‌زنی (۵/۱ و ۵/۴ تعداد در روز) در دامنه حرارتی ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود و بیشترین سرعت جوانه‌زنی (۴/۴ و ۵ روز) نیز در همین دامنه حرارتی به دست آمد (شکل ۱). افزایش درجه حرارت از ۲۵ درجه سانتی‌گراد باعث کاهش معنی‌دار درصد و سرعت جوانه‌زنی شد. اثر منفی درجه حرارت‌های بالا بر درصد و سرعت جوانه‌زنی گونه‌های دیگری از تیره نعنائیان شامل کاکوتی چندساله (۱۲)، پونه‌سای بینالودی (۲۰)، آویشن خراسانی (۳۱) و همچنین پونه‌سای البرزی، پونه‌سای انبوه و آویشن البرزی (۳) نیز گزارش شده است. بنایان و همکاران (۳) گزارش کردند که با افزایش درجه حرارت از ۳۰ درجه سانتی‌گراد، درصد جوانه‌زنی و با افزایش درجه حرارت از ۲۵ درجه سانتی‌گراد، سرعت جوانه‌زنی بذرهای فوق به طور معنی‌داری کاهش یافت. نتایج نشان داد که سرعت جوانه‌زنی در گونه پونه‌سای انبوه شاخص حساس‌تری نسبت به دما در مقایسه با درصد و میانگین زمان جوانه‌زنی می‌باشد. این مسئله در گونه‌های گیاهی دیگر نیز توسط نجفی و رضوانی‌مقدم (۱۹)، تبریزی و همکاران (۳۰) و همچنین شیمف و همکاران (۲۸) نیز گزارش شده است. همچنین با بررسی شکل ۱ می‌توان گفت که تقریباً مقدار MGT (میانگین زمان جوانه‌زنی) در دماهای پایین‌تر، بیشتر بود.

درجه حرارت‌های متغیر روز و شب نیز دارای اثرات معنی‌دار بر درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر پونه‌سای انبوه بود. به طوری که بیشترین درصد (۷۲ و ۶۹/۳ درصد) و سرعت جوانه‌زنی (۴/۶ و ۵/۷ در روز) بذر این گیاه در درجه حرارت متغیر روز و شب ۲۰/۳۰ و ۱۰/۲۰ درجه سانتی‌گراد به دست آمد (شکل ۱). تاثیر درجه حرارت‌های مختلف شب و روز بر درصد و سرعت جوانه‌زنی، در بسیاری از گیاهان دارویی و معطر، گزارش شده است (۲۰ و ۵) که ممکن است به دلیل مشابه بودن این شرایط با شرایطی که در طبیعت برای بذر وجود دارد باشد.

نیترات پتاسیم بر سرعت جوانه‌زنی اثر معنی‌داری نشان نداد، اما افزایش مدت زمان قرار دادن بذر در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی شد به طوری که بیشترین سرعت جوانه‌زنی (۱/۷ در روز) در تیمارهای ۳ و ۴ هفته نگهداری بذر در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. کمترین زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی (۵/۶ و ۶/۲ روز) به ترتیب در تیمار ۱ و ۴ هفته نگهداری در سرما و تیمار ۰/۱ درصد نیترات پتاسیم (۵/۴ روز) مشاهده شد. در مورد میانگین زمان جوانه‌زنی، بهترین تیمارهای سرمایی ۱، ۳ و ۴ هفته قرار دادن بذر در ۵ درجه سانتی‌گراد بود (۶/۱، ۶/۶ و ۶/۶ روز)، اما سطوح مختلف نیترات پتاسیم اثر معنی‌داری بر آن نداشت. بیشترین طول ساقه‌چه (۵۱/۵ میلی‌متر)، وزن تر ساقه‌چه (۳۰ میلی‌گرم)، وزن خشک ساقه‌چه (۱/۳ میلی‌گرم) و وزن خشک ریشه‌چه (۰/۶ میلی‌گرم) در تیمار ۲ هفته در سرما به دست آمد و با افزایش مدت زمان سرمادهی ۲ هفته، این صفات کاهش یافتند، همچنین بهترین تیمار نیترات پتاسیم برای این ۴ صفت، تیمار ۰/۱ درصد بود، کمترین سرعت جوانه‌زنی (۱/۰ در روز) در تیمار ۲ هفته سرمادهی مشاهده شد. نیترات پتاسیم بر سرعت جوانه‌زنی تاثیر معنی‌داری نداشت. تیمار با نیترات پتاسیم ۰/۱ درصد، بهترین تیمار برای زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی بود. با افزایش درصد نیترات پتاسیم، زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی افزایش یافت. کمترین میانگین زمان جوانه‌زنی به تیمار یک هفته سرمادهی تعلق گرفت (جدول ۱).

حسین‌پور و همکاران (۷) با بررسی تیمارهای مختلف بر جوانه‌زنی بذر چند گونه از گیاه مرزه، مشاهده کردند که پیش‌تیمار سرمادهی، بیشترین تاثیر را بر افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر این گیاه داشت. در پژوهش دیگری که توسط امینی و همکاران (۱) بر بذر گیاه مرزه انجام گرفت، مشخص شد که حداکثر جوانه‌زنی بذر در غلظت‌های ۰/۱ درصدی نیترات پتاسیم اتفاق افتاد.

به طور کلی نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد که سرمادهی در دماهای کم که در شرایط طبیعی طی فصل زمستان و اوایل بهار اتفاق می‌افتد، سبب افزایش جوانه‌زنی بذر بسیاری از گیاهان موجود در طبیعت می‌شود. در این پژوهش نیز مشخص شد که افزایش دوره‌ی سرمادهی به طور معنی‌داری باعث بهبود خصوصیات جوانه‌زنی بذر گیاه دارویی *N. glomerulosa* شد. تیمار با نیترات پتاسیم نیز تغییرات معنی‌داری را در خصوصیات جوانه‌زنی این گیاه نشان داد. اگرچه اعمال این تیمارها بر درصد جوانه‌زنی بذر معنی‌دار نبود و اثرات متقابل چندانی را نشان نداد، اما در میان تیمارهای استفاده شده،



شکل ۱- اثر تیمارهای مختلف حرارتی بر روی درصد (A)، سرعت (B) و میانگین زمان جوانه‌زنی (C) بذر گیاه دارویی پونه‌سای انبوه (*Nepeta glomerulosa*)

Figure 1- Effect of different thermal treatments on germination percentage (A), germination rate (B) and mean germination time (C) of *Nepeta glomerulosa* seed

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات اندازه گیری شده مربوط به جوانه‌زنی بذر گیاه دارویی پونه‌سای انبوه (*Nepeta glomerulosa*) تحت تیمارهای مختلف دمایی

Table 2- Analysis of variance of measured characteristics related to seed germination of *Nepeta glomerulosa* under different temperatures

منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی (df)	درصد جوانه‌زنی (Germination percentage)	سرعت جوانه‌زنی (روز) (Germination rate (day))	میانگین زمان جوانه‌زنی (روز) (MGT) (day)
دما (Temperature)	8	3058.37**	14.06**	12.21**
خطا (Error)	18	63.41	0.2316	0.3516

** معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد را نشان می‌دهد
** shows significant at the level of $p < 0.01$

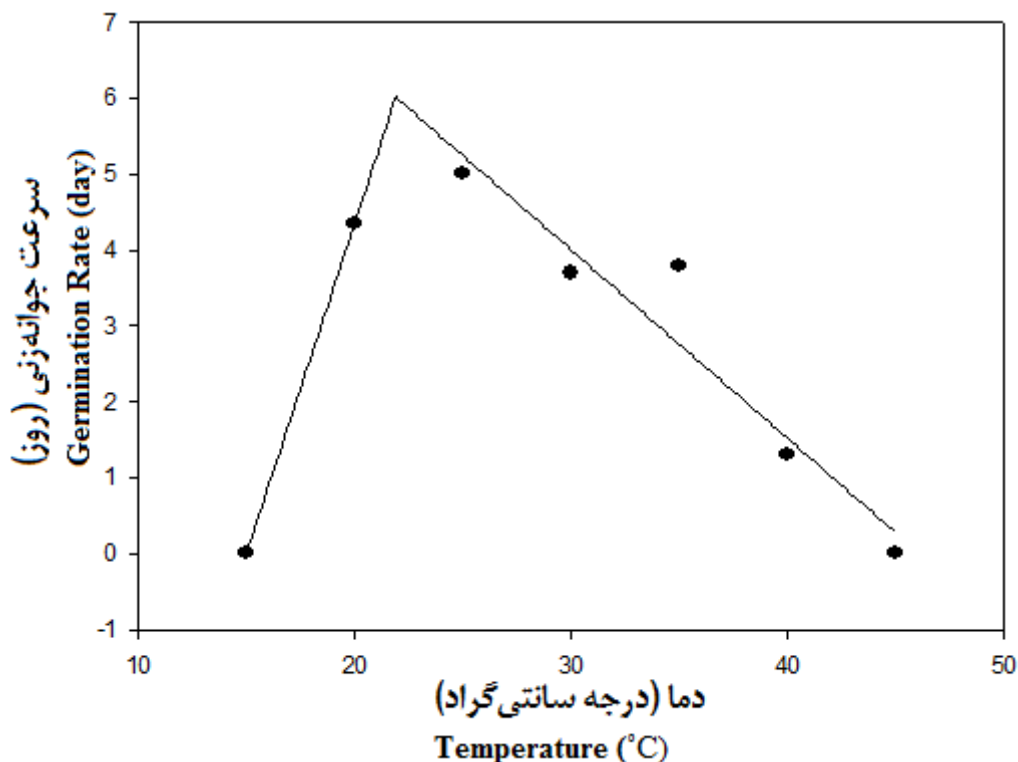
دارای درجه حرارت‌های کاردینال متفاوتی با دو گونه دیگر می‌باشد. بسیاری از محققین (۱۸، ۲۰ و ۲۱) نیز گزارش کرده‌اند که درجه حرارت‌های کاردینال جوانه‌زنی در بین گونه‌ها و ژنوتیپ‌های مختلف یک گونه به طور معنی‌داری متفاوت می‌باشند. با تعیین درجه حرارت‌های کاردینال می‌توان محدوده‌ی پراکنش گونه‌های وحشی در عرصه‌های طبیعی و نیز زمان و منطقه مناسب جهت کشت آن‌ها را تخمین زد (۲۱).

نتایج حاصل از رگرسیون بین سرعت جوانه‌زنی و دما، به طور جداگانه در دامنه‌ی دمایی بالاتر و پایین‌تر از درجه حرارت بهینه، با همبستگی بالا، نشان داد که درجه حرارت‌های ۱۵، ۲۲ و ۴۶ درجه سانتی‌گراد، به ترتیب به عنوان درجه حرارت‌های پایه، بهینه و بیشینه‌ی جوانه‌زنی می‌باشند (شکل ۲) (جدول ۳). مقایسه درجه حرارت‌های کاردینال گیاه پونه‌سای انبوه با درجه حرارت‌های کاردینال گزارش شده برای گیاه پونه‌سای بینالودی (۲۰) و همچنین پونه‌سای البرزی (۳)، نشان داد که گونه پونه‌سای انبوه

جدول ۳- درجه حرارت‌های کاردینال جوانه‌زنی بذور گیاه دارویی پونه‌سای انبوه (*Nepeta glomerulosa*) بر اساس مدل رگرسیون تکه‌ای
Table 3- Estimated of base temperature (T_b), optimum temperature (T_o) and maximum temperature (T_m) for seed germination of *Nepeta glomerulosa* using segmented function

درجه حرارت‌های کاردینال Cardinal Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	رگرسیون تکه‌ای Segmented Function
T_b	15
T_o	22
T_m	46
R^2	0.95

T_b ، T_o و T_m ، به ترتیب درجه حرارت‌های پایه، بهینه و بیشینه‌ی جوانه‌زنی می‌باشند
 T_b , T_o and T_m are base, optimum and maximum temperatures, respectively



شکل ۲- اثر درجه حرارت‌های مختلف بر سرعت جوانه‌زنی بذور گونه دارویی پونه‌سای انبوه (*Nepeta glomerulosa*) به روش خطوط متقاطع
Figure 2- The relationship between germination rate and temperature in *Nepeta glomerulosa*, Intersected-lines Model (ISL)

منابع

- 1- Amini Z., Barmaki M., Alizadeh M.A., Seyedsharifi S.R., and Nasiri M. 2012. Enhancement of seed germination characteristics and vigour of four populations in Savory of *Satureja laxiflora* by using of priming technique and cold treatment. National Conference on Environment and Plant Production, 6–7 Oct. 2012. Semnan, Iran.
- 2- Bannayan M., and Nadjafi F. 2004. Reporting the plan “Seed germination characteristics of some wild medicinal species of Iran. Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian)
- 3- Bannayan M., Nadjafi F., Rastgoo M., and Tabrizi L. 2006. Germination characteristics of some wild medicinal species of Iran. Journal of Seed Technology, 28 (1): 80-86.
- 4- Ellis R.A., and Roberts E.H. 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. Seed Science and Technology, 9: 373-409.
- 5- Han Ch., and Young S. 2013. Ecology of Musk Thistle (*Carduus nutans*) Seed Germination for Grasslands of Temperate Climates. Weed science, 61(4): 549-556.
- 6- Hartman H., Kester D., and Davis F. 1990. Plant Propagation, Principle and Practices. Prentice Hall International Editions, 647pp.
- 7- Hoseinpour H., Alizade M., and Jafari A. 2010. Effect of different treatments on breaking of dormancy, germination and seedling growth of *Satureja spp.* 11th Iranian Crop Science Congress, 24–26 Jul. 2010. Tehran, Iran.
- 8- Jalili Marandi R. 2007. Plant propagation. Jahaad e Daneshgahi Publication. Urmia.
- 9- Jordan G.L., and Haferkamp M.R. 1989. Temperature responses and calculated heat units for germination of several range grasses and shrubs. Journal of Range Management, 42:41-45.
- 10- Khan J., Rauf M., Ali Z., Rashid H., and Khattack M.S. 1999. Different stratification techniques effects on seed germination of Pistachio. Pakistan Journal of Biological Sciences, 2:1412-1414.
- 11- Kharkwal A.Ch., Prakash O., Bhattachaya A., Nagar P.K., and Ahuja P.S. 2002. Method for inducing improved seed germination in *Podophyllum hexandrum*. Council of Scientific and Industrial Research. Pretoria, South Africa.
- 12- Keyrkhah M., Koocheki A., Rezvani Moghaddam P., and Nassiri Mahallati M. 2013. Investigations on the cardinal temperatures for germination of *Ziziphora clinopodioides* Lam. Iranian Journal of Field Crops Research, 11(4): 543-550. (in Persian)
- 13- Kocabas Z., Craigon J., and Azam-Ali S.N. 1999. The germination response of Bambara groundnut (*Vigna subterranean* (L.)Verdo) to temperature. Seed Science and Technology, 27: 303 -313.
- 14- Koocheki A., and Sarmadnia Gh.H. 2000. Crop plants physiology (translation). Jahaad e Daneshgahi Publication. Mashhad.
- 15- Koocheki A., and Azizi G. 2005. Effect of different treatments on breaking dormancy of *Teucrium polium*. Iranian Journal of Field Crops Research, 3(1): 81-88. (in Persian with English abstract)
- 16- Macchia M., Angelini L.G., and Ceccarini L. 2001. Methods to overcome seed dormancy in *Echinacea angustifolia* DC. Scientia Horticulture, 89: 317-324.
- 17- Mojab F., Nickavar B., and Hooshdar Tehrani H. 2009. Essential oil analysis of *Nepeta crispa* and *N. menthoides* from Iran. Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences, 5(1): 43-46.
- 18- Mozaffarian V. 1996. Plants of Iran. Farhang e Moaser Publishers. Tehran, Iran.
- 19- Nadjafi F., and Rezvani –Moghaddam P. 2003. Determination the base temperature and study germination response of Isabgol (*Plantago ovata*) to different temperatures. Journal of Research and Development, 60: 53-55. (in Persian with English abstract)
- 20- Nadjafi F., Koocheki A., Rezvani Moghaddam P., and Rastgoo M. 2006. Evaluation of seed germination characteristics in *Nepeta binaludensis*, a highly endangered medicinal plant of Iran. Iranian Journal of Field Crops Research, 4(2): 1-8. (In Persian with English abstract)
- 21- Ramin A.A. 1997. The influence of temperature on germination of taree Irani (*Allium ampeloparsum* L spp. Iranicum W.). Seed Science and Technology, 25: 419-426.
- 22- Rechinger K.H. 1982. Labiatea. In Flora Iranica. No. 150, Akademische Druck-u. Verlagsanstalt, Gras, Austria.
- 23- Rojas – Arechiaga M., Casas A., and Vazquez-Yanes C. 2001. Seed germination of wild and cultivated *Stenocerevs stellatus* (Cactacea) from the Tehuacan-Cuicatlan Valley, Central Mexico. Journal of Arid Environment, 49:279-287.
- 24- Runham S. 1998. Small Scale Study of Yield and Quality of Oils from Six Herb Species. MAFF project Nf0505. pp. 30.
- 25- Saadatian B., Ahmadvand G., and Soleymani F. 2012. Investigating Effect of seed priming on germination characteristics of *Satureja hortensis* under drought and salt stress. Journal of Seed Science and Technology, 2(2): 35-44. (in Persian)
- 26- Sajjadi S.E. 2005. Analysis of the essential oil of *Nepeta sintenisii* Bornm. from Iran. Daru Journal of Pharmaceutical Sciences, 13(2): 61-64.
- 27- Sarmadnia Gh.H. 1996. Seed technology (translation). Jahaad e Daneshgahi publication. Mashhad. Iran.
- 28- Schimpf D., Flint S.D., and Plamblad J.G. 1997. Representation of germination curves with the logistic function.

Annals of Botany, 41: 1357-1360.

- 29- Summerfield R.J., Roberts R. H., Ellis R. M., and Lawn R. J. 1991. Towards the reliable prediction of time to flowering in six annual crops. I. the development of simple model for fluctuating field environment. *Experimental Agriculture*, 27: 11-31.
- 30- Tabrizi L., Nassiri Mahallati M., and Koocheki A. 2004. Investigations on the cardinal temperatures for germination of *Plantago ovata* and *Plantago psyllium*. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 2(2): 143-149. (in Persian with English abstract)
- 31- Tabrizi L., Koocheki A., Nassiri Mahallati M., and Rezvani Moghaddam P. 2007. Germination behaviour of cultivated and natural stand seeds of Khorasan thyme (*Thymus transcaspicus Klokov*) with application of regression models. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 5(2): 249-257. (in Persian with English abstract)
- 32- Tavili A., Safari B., and Saberi M. 2009. Effect of giberlic acid and potassium nitrate on germination characteristics of *Salsola rigida*. *Scientific Journal of Rangeland*, 3(2): 272-280. (in Persian)
- 33- Zargari A. 1994. Medicinal plants (Vol. IV). Tehran University Publication. Tehran, Iran.



Evaluation of Cardinal Temperatures for Seed Germination of *Nepeta glomerulosa* Boiss., a Native Medicinal Plant of Iran

H. Moradi^{1*}-M. Azizi²- V. Rowshan³- H. Aroiee⁴

Received: 31-05-2015

Accepted: 14-08-2016

Introduction: The genus *Nepeta* with the common Persian name “Pune-Sa” is one of the most important genera of *Lamiaceae* family. It has aromatic plants which are endemic of Iran. Its different species are distributed almost in all parts of Iran. Some of these species are valuable in medicine and used for medicinal purposes. *Nepeta glomerulosa* Boiss. is one of the most medicinal species of this family. This study was conducted to examine seed germination characteristics and to evaluate cardinal temperature of seed germination of *N. glomerulosa*.

Materials and Methods: Seeds of *N. glomerulosa* were collected from Abade region of Fars province in the middle of September 2014. Treatments were including four levels of cold period (1, 2, 3 and 4 weeks at 5°C) and four levels of potassium nitrate (0, 0.1, 0.2 and 0.3 %). Factorial experiment with a completely randomized design in three replications was done, to evaluate seed germination percentage, germination rate, T₅₀, mean germination time, root and shoot length, root and shoot fresh and dry weight. Also, the effects of 8 constant temperatures including 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 and 40 °C and 3 variable temperatures including 5/15, 10/20 and 20/30 °C (12h light/12h dark), was investigated to evaluate germination percentage, germination rate, mean germination time and cardinal temperatures of seed germination.

Results and Discussion: The results showed that cold period and potassium nitrate interaction was significant only on root length. Potassium nitrate had no significant effect on germination rate, but the germination rate was increased by increasing the duration of being at 5 °C, so that the highest germination rate was observed in 3 and 4 weeks at 5 °C (1.7 and 1.2 /day respectively). The lowest germination rate (1.0 /day) was observed in 2 weeks at 5 °C treatment. The maximum shoot length (51.5 mm), shoot fresh weight (30 mg), shoot dry weight (1.3 mg) and root dry weight (0.6 mg) was obtained in 2 weeks at 5 °C treatments and potassium nitrate 0.1% was also the best treatment for abovementioned traits. Among the treatments, 3 weeks cold period and 0.1 % potassium nitrate showed the most positive effect on seed germination characteristics of *N. glomerulosa*, although, had no significant effect on germination percentage.

Based on the results of the second experiment, temperature had significant effect ($P \leq 0.01$) on germination percentage, germination rate and mean germination time. The highest amount of germination percentage (76 and 77.3 %), germination rate (4.4 and 5 /day) and mean germination time (5.1 and 5.4 /day) were recorded in the range of 20 to 25 °C. Germination rate and germination percentage were substantially reduced by increasing temperature above 25 °C. The day and night variable temperatures had significant effect on seed germination percentage and germination rate of *N. glomerulosa* seeds. The highest amount of germination percentage (72 and 69.3 %) and germination rate (4.6 and 5.7 /day) were observed at 10/20 and 20/30 °C. The results of the relationships between temperature and germination rate showed that base, optimum and maximum temperatures for seeds of *N. glomerulosa* were 15 °C, 22 °C and 46 °C, respectively.

Conclusion: The overall results showed that most chilling occurred under natural conditions during winter and early spring which caused increasing in seed germination of lots of plants. This also found that increasing in chilling period significantly improved the seed germination characteristics of *N. glomerulosa*. Also, treating with potassium nitrate had significant effects on germination properties of *N. glomerulosa*. Although applying potassium nitrate and cold period did not show interaction effects on seed germination.

The effects of different day and night temperatures on seed germination rate and percentage have been reported in many medicinal and aromatic plants as may be due to the similarity of these conditions to the natural conditions. Comparing cardinal temperatures of *N. glomerulosa* with the other species of this genus indicated that they have different cardinal temperatures. Many of researchers reported that germination cardinal

1, 2, 4- Graduated MSc, Professor and Associated Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

(*- Corresponding Author Email: hodamoradi2719@gmail.com)

4- Assistant Professor, Department of Natural Resources, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Shiraz, Iran

temperatures are significantly different among species and different genotypes of species. Determining of cardinal temperatures helps us to estimate temperature range of wild species in natural areas, planting time and also suitable areas for cultivation.

Keywords: Base temperature, Cold period, Maximum temperature, Optimum temperature, Potassium nitrate

