

## تأثیر تیمارهای شکست خواب بر جوانهزنی بذر آنفوزه (*Ferula assa-foetida* L.)

احمد نوروزیان<sup>۱</sup>، مجید معصومیان<sup>۲\*</sup>، محمدعلی ابراهیمی<sup>۳</sup>، غلامرضا بخشی خانیکی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد پژوهشی، گروه گیاهان دارویی پژوهشکده کشاورزی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران

<sup>۲</sup> استادیار گروه گیاهان دارویی پژوهشکده کشاورزی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران

<sup>۳</sup> دانشیار و استاد گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه پیام نور تهران

<sup>\*</sup> پست الکترونیک نویسنده مسئول: [masoumian@irost.ir](mailto:masoumian@irost.ir)

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۱/۱۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۵/۰۶)

### چکیده

آنفوزه (*Ferula assa-foetida* L.), از گونه‌های مهم تیره چتریان است که بذرهای آن دوره خواب نسبتاً طولانی دارد. در این تحقیق تیمارهای سرماده‌ی مرطوب، آبشویی، اسید جیبرلیک، غلظت نمک‌های معدنی محیط کشت و زمان برداشت بذر و همچنین تأثیر متقابل این عوامل بهمنظور دستیابی به شرایط بهینه جوانهزنی، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد سرماده‌ی مرطوب به مدت ۲ هفته در دمای ۴-۵ درجه سانتی‌گراد به میزان ۵۰ درصد میانگین جوانهزنی را در مقایسه با شاهد افزایش داد. در تیمار آبشویی، بیشینه جوانهزنی در مدت زمان ۶ ساعت (۴۲ درصد) و کمینه آن در زمان ۲ ساعت (۲۰/۴۷ درصد) حاصل شد. اسید جیبرلیک با غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، توانست میانگین جوانهزنی را ۴۱/۵ درصد در مقایسه با شاهد افزایش دهد. تغییر در غلظت نمک‌های معدنی محیط کشت نیز نشان داد که محیط MS ۱/۲، می‌تواند در مقایسه با محیط MS کامل، میانگین جوانهزنی را به میزان ۲۵ درصد افزایش دهد. همچنین میانگین جوانهزنی در نتیجه اعمال تیمارهای مذکور بر روی بذرهای یک‌ساله، اثر معنی داری در مقایسه با بذرهای تازه برداشت شده داشت (به ترتیب ۶۱ در مقایسه با ۳۶ درصد). با انجام آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی، بهترین ترکیب تیماری که توانست میانگین جوانهزنی را به طور معنی داری افزایش دهد (۷۳/۸۳ درصد)، ترکیب دو هفته سرما، محیط MS ۱/۲، ده میلی‌گرم در لیتر اسید جیبرلیک و شش ساعت آبشویی بود. لذا با توجه به نتایج حاصله، بهمنظور شکست خواب بذر آنفوزه، پیشنهاد می‌شود علاوه بر استفاده از بذرهای یک‌ساله، از محیط کشت MS ۱/۲، به همراه تیمارهای تلفیقی سرماده‌ی مرطوب، آبشویی و اسید جیبرلیک استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: آبشویی، آنفوزه، اسید جیبرلیک، جوانهزنی، زمان برداشت بذر، سرماده‌ی، شکست خواب

است. دو فندقه در زمان رسیدن از یکدیگر جدا می‌شوند و هر کدام به یک بذر تبدیل و ریزش می‌کنند (امیدبیگی و همکاران، ۱۳۸۴). منابع ژنتیکی اصلی گیاه آنفوزه همواره از عرصه‌های طبیعی تأمین شده است. روش‌های ناپایدار بهره‌برداری، منجر به تخریب بخش وسیعی از رویشگاه‌های طبیعی این گیاه شده است. برداشت آنفوزه از ریشه گیاه با روش‌های سنتی و تیغ‌زنی نامناسب که گاهی به دلیل سودجویی‌های

### مقدمه

آنفوزه گیاهی است علفی، کرک‌دار، چندساله و خودگشن (زرگری، ۱۳۷۵، گل محمدی<sup>۱</sup>، ۲۰۱۳). بذرهای آنفوزه به شکل راکت و بسیار سبک هستند. میوه آن دو فندقه به رنگ قهوه‌ای تیره یا قهوه‌ای خرمایی، بیضوی نسبتاً مسطح و دارای ۵ خط مشخص در هر مریکارپ با کناره تغییر شکل یافته به صورت بال

<sup>۱</sup> Golmohammadi

در تحقیق حاضر اثر تیمارهای سرمادهی مرتبط، آبشویی، اسید جیبرلیک، غلظت نمکهای معدنی محیط کشت، زمان برداشت بذر و همچنین تأثیر متقابل این تیمارها بر شکست خواب بذرها آنفوزه در شرایط آزمایشی مورد بررسی قرار گرفت و در نهایت تیمار بهینه بهمنظور شکست خواب بذر این گیاه پیشنهاد شد.

## مواد و روش‌ها

### آماده‌سازی مواد گیاهی

بذرهای آنفوزه گونه *Ferula assa-foetida* L. در سال‌های ۱۳۹۱ و ۱۳۹۲ که از طریق اداره منابع طبیعی طبس از جمعیت‌های طبیعی دامنه‌های ارتفاعات طبس ۲۰ با مختصات گرافایی طول شرقی ۵۵ درجه و ۵۵ دقیقه تا ۵۸ درجه و ۱۵ دقیقه و عرض شمالی ۳۰ درجه و ۴۰ دقیقه تا ۳۵ درجه و ۸ دقیقه با ارتفاع حدود ۱۲۰۰ متر از سطح دریا، جمع‌آوری شده بود. بهمنظور تعیین درصد بذر با جنین زنده، از آزمون ترازو لیوم (ایست، ۱۹۹۹) استفاده شد که بر اساس نتایج آزمون، ۹۰/۶۹ درصد از بذرهای زنده بودند. در ابتدا با هدف از بین بردن آلودگی‌های سطحی، بذرها با آب جاری به خوبی شسته، سپس با الکل ۷۰ درصد به مدت ۱۰ دقیقه و هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت ۱۰ دقیقه، ضدغونی شد و دوباره با آب مقطر در سه مرحله زمانی ۲، ۳ و ۵ دقیقه‌ای زیر هود لامینار شستشو داده شد. پس از آن در ظروف شیشه‌ای حاوی ۴۰ میلی‌لیتر محیط کشت پایه MS کامل و MS  $\frac{1}{2}$  (مورشیگ و سوگ<sup>۴</sup>، ۱۹۶۲) حاوی هورمون اسید جیبرلیک در غلظت‌های ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر کشت داده شد. نیمی از بذرها بهمنظور بررسی تیمار سرمایی به مدت ۲ و ۳ هفتۀ، در شرایط دمایی ۴-۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری و مابقی نمونه‌ها به عنوان شاهد به اتفاق رشد با شرایط نوری ۳۰۰ لوکس، دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انتقال یافت.

اقتصادی بر روی بوته‌های کمتر از ۴ سال نیز صورت می‌گیرد، منجر به از بین رفتن گیاه و کاهش شدید باردهی در سال‌های بعد شده و بهره‌برداری محصول را به لحاظ اقتصادی نامطلوب می‌نماید. همچنین مونوکارپیک بودن گیاه (گل دادن گیاه برای یکبار در طول عمر خود) باعث می‌شود تا شیره پرورده در سال‌های آخر صرف تشکیل بذر شده و گیاه پس از گل‌دهی و تولید بذر، برای همیشه خشک شده و از بین می‌رود. تنها راه تجدید حیات طبیعی آنفوزه، از طریق تولید و پراکنش بذر است. در عین حال کاشت این گیاه به شیوه‌های سنتی نظیر کپه کاری بذر نیز نتایج مطلوبی در برنداشته است (غلامی و عسگرزاده، ۱۳۸۷). لذا استفاده از روش‌های فیزیکی و شیمیایی مطلوب، بهمنظور تسريع در جوانهزنی و تکثیر این گیاه دارویی با ارزش در راستای حفظ بقا و جلوگیری از خطر انقراض این گونه مهم اقتصادی، موردتوجه محققان مختلف می‌باشد.

نتایج اکثر تحقیقات نشان داده که برخی بذرهای گیاهان دارویی، علف‌های هرز و گونه‌های وحشی، به دلایل متعددی همچون سازگاری اکولوژیکی، دارای مکانیسم‌های مختلف خواب مانند پوسته سخت، فیزیولوژیکی، القایی و غیره می‌باشند. خواب بذر آنفوزه، همچون اغلب گونه‌های تیره چتریان از نوع خفتگی درونی فیزیولوژیکی است و با اعمال دوره‌های متناوب سرما و یا تیمارهای هورمونی مختلف (اطرشی<sup>۱</sup> و همکاران، ۲۰۰۹) شکسته می‌شود. انجمن متخصصین رسمی تجزیه بذر<sup>۲</sup> و انجمن بین‌المللی آزمون بذر<sup>۳</sup> روش‌های مختلفی را جهت شکست خواب و تحریک جوانهزنی بذر پیشنهاد داده‌اند. از مهم‌ترین این روش‌ها می‌توان به شستشوی بذر، سرمادهی، چینه‌سرمایی، خراش‌دهی مکانیکی و شیمیایی پوسته بذر، کشت جنین، استفاده از محلول‌های مختلف تحریک‌کننده جوانه زنی (جیبرلین، نیترات پتابسیم، اسید نیتریک، تیوره، پلی‌اتیلن گلیکول، اتانول و غیره)، تناوب‌های نوری، دمایی و ترکیب چندعاملی اشاره نمود.

<sup>1</sup> Otrosky

<sup>2</sup> Association of Official Seed Analysts (AOSA)

<sup>3</sup> International Seed Testing Association (ISTA)

<sup>4</sup> Murashige and Skoog

### نتایج

#### اثر تیمار سرماده‌ی بر جوانه‌زنی بذر آنفوزه

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول ۱)، نیز حاکی از معنی دار بودن تیمار سرمایی در سطح یک درصد بود. نتایج حاصل از اعمال تیمار سرماده‌ی بذرهای آنفوزه در این تحقیق، حاکی از آن است که سرمای مرتضوب تأثیر مثبت و فزاینده‌ای در افزایش میانگین جوانه‌زنی بذر این گیاه داشت. به گونه‌ای که با سرماده‌ی به مدت دو هفته، ۴۱ درصد بذرهای کشت شده در محیط، جوانه زندد که در مقایسه با تیمار شاهد (بدون سرما) با میانگین ۲۳ درصد در حدود ۵۰ درصد افزایش جوانه‌زنی نشان داد. در تیمار سرمایی سه‌هفت‌های نیز میانگین جوانه‌زنی از روند افزایشی در مقایسه با تیمار شاهد برخوردار بود، اما در مقایسه با تیمار دو‌هفت‌های کاهش نشان داد (شکل ۱). اگرچه با تداوم سرما و طولانی‌تر شدن مدت زمان تیمار سرمایی، میانگین بذرهای جوانه‌زده تا نزدیک به ۹۰ درصد افزایش یافت، اما این میزان زمان به لحاظ اقتصادی مقرر به صرفه نخواهد بود. بنابراین تیمار دو هفته سرمای مرتضوب در شرایط کشت درون شیشه‌ای، می‌تواند منجر به شکست خواب بذر آنفوزه گردد. تصویر جوانه‌زنی بذرهای آنفوزه در سه سطح تیمار سرمایی (شامل بدون سرما، دو هفته و سه هفته سرما) در (شکل ۲) نشان داده شده است.

**جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تیمار سرماده‌ی برای جوانه‌زنی بذر آنفوزه**

متابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	آزمون F
** ۷۸/۰۹۹	۲۱۴/۶۸۲	۲	تیمار
خطای آزمایش	۲/۷۴۹	۶	
ضریب تغییرات =	۱۰/۲۰		
** معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد			

### اعمال تیمارهای شکست خواب

به‌منظور اعمال تیمارهای شکست خواب بذر آنفوزه، از محیط MS حاوی هورمون GA3 (رجیبان و همکاران، ۱۳۸۶) با غلظت‌های ۱۰، ۵ و ۱۵ میلی‌گرم در لیتر، استفاده شد. در تیمار سرمایی، بذرها به مدت ۲ و ۳ هفته در دمای ۴-۵ درجه سانتی‌گراد، نگهداری شد. در تیمار آبشویی بذرها به مدت ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ ساعت با آب جاری شستشو (آبشویی) شده و در محیط کشت از محیط کامل (MS) و محیط MS  $\frac{1}{2}$  در اعمال تیمار سال، از بذرهای تازه برداشت شده و یک‌ساله استفاده گردید.

### تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در هر یک از آزمایش‌های مربوط به شکست خواب، خروج ریشه‌چه از پوسته بذر به اندازه ۲ میلی‌متر به عنوان شاخص و مبنای جوانه‌زنی بذر، منظور شد. این مشاهدات به مدت چهار هفته از تاریخ کشت، انجام و داده‌های مربوط به هر تیمار شامل تعداد کل بذر کشت شده، تعداد بذر جوانه‌زده، شمارش و نتایج در جداول مربوطه ثبت گردید. آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. هر تیمار مشتمل بر ۳۰ لوله آزمایش بود که هر لوله حاوی یک بذر، نیز به عنوان تکرار محسوب شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن به کمک نرم‌افزار SPSS 16 و نمودارها نیز با استفاده از EXCEL رسم گردید. بعد از به دست آمدن نتایج آزمایش‌های اولیه، فاکتورهای زمان سرماده‌ی (۰، ۲ و ۳ هفته)، غلظت هورمون اسید جیبرلیک (۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم در لیتر)، زمان آبشویی (۴، ۶ و ۸ ساعت) به همراه قدرت محیط کشت (MS و MS  $\frac{1}{2}$ ) به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با نرم‌افزار SAS 9 تجزیه و تحلیل شد. به‌منظور بررسی درصد جوانه‌زنی یا قوه نامیه بذرهای آنفوزه نیز از رابطه ۱ استفاده شد.

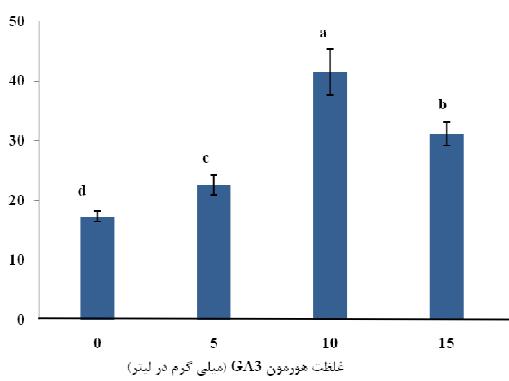
رابطه ۱:

درصد جوانه‌زنی = تعداد بذر جوانه‌زده تقسیم بر تعداد بذر کاشته شده ضرب در ۱۰۰.

**جدول ۲- تجزیه واریانس اثر غلظت هورمون (GA3) بر میانگین جوانهزنی بذر آنفوزه**

آزمون	میانگین مربوط	درجه آزادی	منابع تغییرات	F
۵۹/۶۷۲**	۳۰۴/۸۲۲	۳	تیمار	۵/۱۰۸
			خطای آزمایش	۰/۹۲۳

\*\* معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد

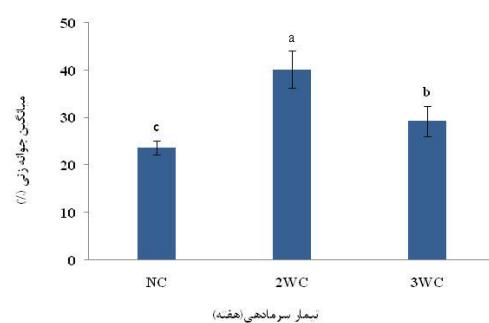


شکل ۳- مقایسه اثر غلظت هورمون GA3 بر درصد جوانهزنی بذر آنفوزه (حروف مشترک عدم اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن نشان می دهد).



شکل ۴- تصویر جوانهزنی بذر آنفوزه بر حسب تیمار GA3 (از راست، غلظت‌های ۰، ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی گرم در لیتر) (شاخص برابر یک سانتی‌متر)

اثر تیمار آبشویی بر جوانهزنی بذر آنفوزه  
تجزیه واریانس تیمار آبشویی نشان داد که  
شستشوی بذرها با آب جاری اثر معنی داری بر جوانهزنی



شکل ۱- مقایسه تیمارهای سرماده‌ی برای میانگین جوانهزنی بذر آنفوزه (حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن است).

NC: بدون سرماده، 2WC: دو هفته سرماده، 3WC: سه هفته سرماده



شکل ۲- تصویر جوانهزنی بذر آنفوزه بر حسب تیمار سرماده‌ی (از راست، تیمارهای ۳ هفته، ۲ هفته و بدون سرما) (شاخص برابر یک سانتی‌متر)

### اثر اسید جیبرلیک بر جوانهزنی بذر آنفوزه

نتایج جدول تجزیه واریانس نیز حاکی است که در تیمار اسید جیبرلیک با غلظت‌های مختلف، تفاوت معنی داری در سطح احتمال یک درصد ملاحظه می‌شود (جدول ۲). بررسی اثر غلظت‌های مختلف هورمون اسید جیبرلیک بر جوانهزنی بذر آنفوزه نشان داد که تیمار اسید جیبرلیک با غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر، بیشترین میزان جوانهزنی با مقدار ۴۱/۵ درصد را ایجاد کرد که در مقایسه با تیمار شاهد (بدون هورمون) با مقدار ۱۷/۳ درصد، جوانهزنی را به میزان ۲۴ درصد افزایش داد (شکل ۳). اگرچه غلظت ۱۵ میلی گرم در لیتر نیز از میانگین جوانهزنی نسبتاً بهتری در مقایسه با محیط حاوی غلظت ۵ و کمتر برخوردار بود (شکل ۴).

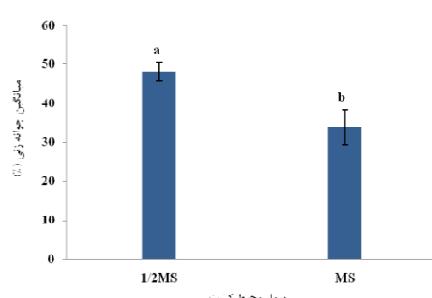
**اثر تیمار محیط کشت بر جوانه‌زنی بذر آنگوزه**  
 نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نیز نشان داد محیط کشت بر جوانه‌زنی بذر آنگوزه اثر معنی‌داری داشت (جدول ۴). در خصوص اثر غلظت نمک‌های محیط کشت بر جوانه‌زنی بذر، نتایج نشان داد که محیط کشت MS  $\frac{1}{2}$  میانگین جوانه‌زنی بذر را تا ۴۸ درصد افزایش داد که در مقایسه با محیط کامل MS با میانگین ۳۶ درصد، معادل ۲۵ درصد تأثیر مثبت بر جوانه‌زنی بذر داشته است (شکل ۷). ریشه‌ها در محیط  $\frac{1}{2}$  MS در مقایسه با محیط کامل از روند رشدی بهتر و بیشتری برخوردار بودند (شکل ۸).

جدول ۴- تجزیه واریانس اثر محیط کشت بر میانگین جوانه‌زنی بذر آنگوزه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	آزمون F
تیمار	۱	۲۳۲/۲۹۶	۲۲۴/۲۷۵**
خطای آزمایش	۴	۱۲/۹۸۸	۱۹۹/۴۱۱

ضریب تغییرات =  $0.903/0.903$

\* معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد



شکل ۷- مقایسه اثر محیط کشت بر میانگین جوانه‌زنی بذر آنگوزه (حروف مشابه عدم اختلاف معنی‌دار را بر اساس آزمون آنکن نشان می‌دهد).

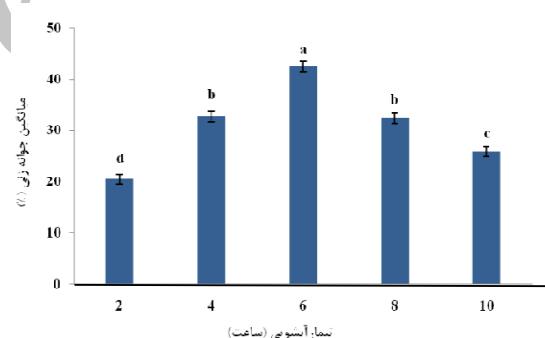
بذر این گیاه داشت (جدول ۳). بیشترین میانگین جوانه‌زنی در تیمار ۶ ساعته شستشوی مداوم با آب جاری ملاحظه گردید. این میزان آبشویی تا ۴۲ درصد جوانه‌زنی را افزایش داد. آبشویی ۸ ساعت و بیشتر، افزایش قابل توجهی در جوانه‌زنی ایجاد نکرد. کمترین میزان جوانه‌زنی نیز در تیمار دو ساعت آبشویی با ۲۰/۴۷ درصد مشاهده شد (شکل ۵). اختلاف طول ریشه در بذرهای جوانه‌زده در تیمارهای مختلف آبشویی در (شکل ۶) قابل مشاهده است.

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر تیمار آبشویی بر میانگین جوانه‌زنی بذر آنگوزه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	آزمون F
تیمار	۴	۱۰	۰/۸۸۹
خطای آزمایش	۱۰	۱۹۹/۴۱۱	۲۲۴/۲۷۵**

ضریب تغییرات =  $0.505/0.505$

\*\* معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد



شکل ۵- مقایسه تیمارهای آبشویی بر میانگین جوانه‌زنی بذر آنگوزه (حروف مشابه عدم اختلاف معنی‌دار را بر اساس آزمون آنکن نشان می‌دهد).



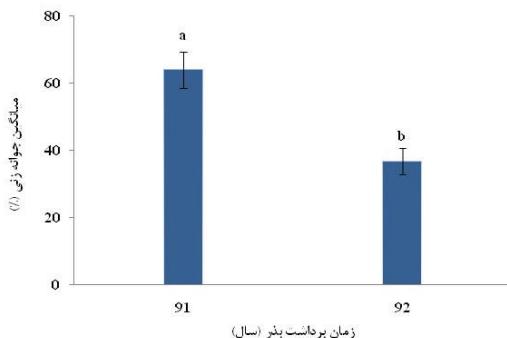
شکل ۶- تصویر جوانه‌زنی بذر آنگوزه در تیمار آبشویی (از چهار، دو، چهار، شش، هشت و ده ساعت آبشویی) (شاخص برابر یک سانتی‌متر)

این آزمایش نیز، افزایش یا کاهش سرمادهی و دیگر فاکتورها، منجر به افزایش میزان جوانهزنی نگردید و بهترین ترکیب تیماری، نتوانست خواب ۱۶/۹۲ درصد از بذرهای زنده را بشکند.

**جدول ۵**- تجزیه واریانس اثر سال جمع‌آوری بذر بر جوانهزنی بذر آنفوزه

آزمون F	آزمون	میانگین مربعات	درجه آزادی	منابع تغییرات
۲۸/۸۷۴**	تیمار	۶۰.۴/۶۰.۹	۱	
۲۰/۹۴۰	خطای آزمایش		۴	
ضریب تغییرات =٪۹/۵۱				

\*\* معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد



**شکل ۹**- مقایسه اثر سال جمع‌آوری بذر بر درصد جوانهزنی بذر آنفوزه (حروف مشابه عدم اختلاف معنی‌دار را بر اساس آزمون دانکن نشان می‌دهد).



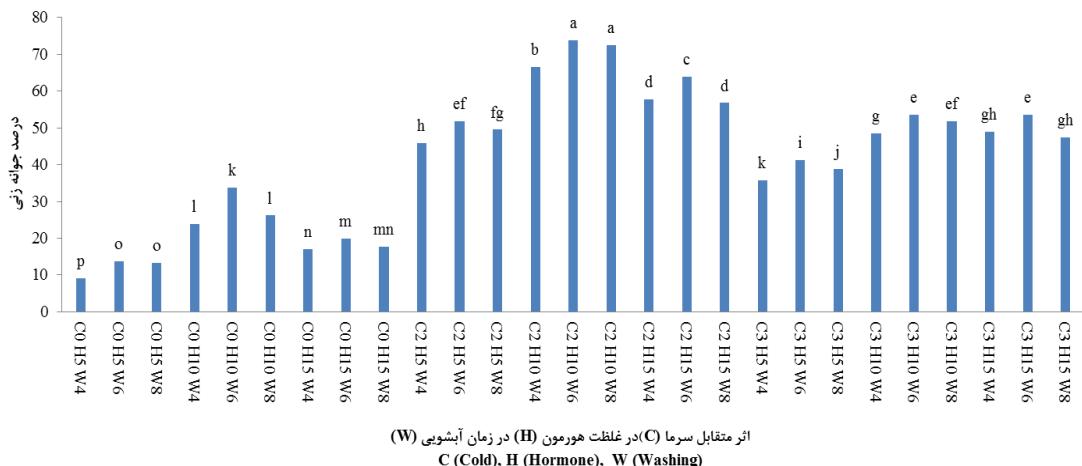
شکل ۸- تصویر جوانهزنی بذر آنفوزه در تیمار محیط کشت (راست: محیط کشت MS ۱/۲ چپ: MS) (شاخص برابر یک سانتی‌متر)

#### اثر سال و زمان برداشت بذر بر جوانهزنی آنفوزه

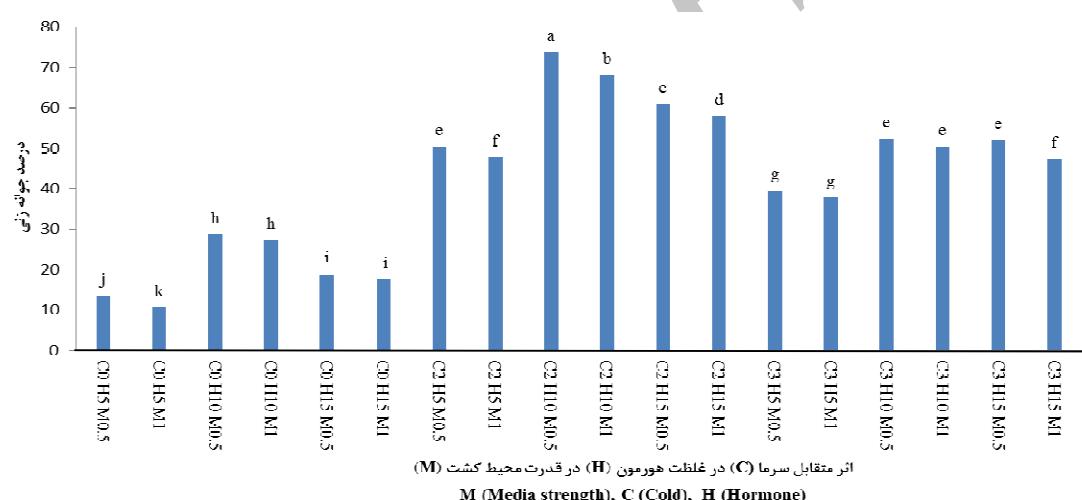
تجزیه واریانس نشان داد که سال جمع‌آوری بذر اثر معنی‌داری بر جوانهزنی بذر آنفوزه داشت (جدول ۵). پس از انجام آزمایش‌های مقدماتی و مشخص شدن تأثیر فاکتورهای مختلف بر جوانهزنی بذر آنفوزه، اثر ترکیبی فاکتورها بر روی بذرهای دو ساله متوالی بررسی شد. نتایج نشان داد که بیشترین میزان جوانهزنی با میانگین ۶۱ درصد مربوط به بذرهای یکساله (سال ۱۳۹۱) بود. بذرهای تازه برداشت شده (سال ۱۳۹۲) نیز ۳۶ درصد جوانهزنی نشان داد. این افزایش جوانهزنی به طور متوسط نسبت به آزمایش‌های جداگانه هر یک از تیمارها، ۲۰ درصد بیشتر بود (شکل ۹).

#### اثر متقابل فاکتورهای مؤثر بر جوانهزنی

نتایج بررسی اثر متقابل تیمارهای مؤثر بر جوانهزنی بذر آنفوزه، نشان داد ترکیب فاکتورها بر جوانهزنی بذر تأثیرگذار است (جدول ۶). همان‌گونه که شکل ۱۰ نیز نشان می‌دهد، بهترین ترکیب تیماری که توانست میانگین جوانهزنی را به طور معنی‌داری افزایش دهد (۷۳/۸۳ درصد)، ترکیب دو هفته سرما، ده میلی‌گرم در لیتر هورمون اسید جیبرلیک و شش ساعت آبشویی بود. افزایش سرمادهی و سایر تیمارها در دیگر ترکیب‌های تیماری، تأثیر چندانی بر افزایش درصد جوانهزنی نداشت. همچنین نتایج نشان داد که ترکیب تیماری آبشویی و غلظت هورمون بدون سرمادهی، میزان جوانهزنی را به طور معنی‌داری تغییر نمی‌دهد. ترکیب فاکتوری دو هفته سرما، ده میلی‌گرم در لیتر هورمون و محیط کشت MS ۱/۲، نیز میانگین جوانهزنی را به میزان ۷۳/۷۷ درصد افزایش داد (شکل ۱۱). در



شکل ۱۰- مقایسه برهمکنش تیمار سرماده‌ی (هفت‌هفته)، غلظت اسید جیبریلیک (میلی گرم در لیتر) و زمان آشوبی (ساعت) بر میانگین جوانه‌زنی بذر آنژوزه. (حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن است).



شکل ۱۱- مقایسه برهمکنش تیمار سرماده‌ی (هفت‌هفته)، غلظت اسید جیبریلیک (میلی گرم در لیتر)، قدرت محیط کشت بر میانگین جوانه‌زنی بذر آنژوزه. (حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن است).

نشان می‌دهند. سرما می‌تواند تا حد زیادی در رفع این نوع خواب‌ها اثر کند. تیمار سرماده‌ی بهمنظور افزایش جوانه‌زنی اغلب گونه‌های دارای خواب به کار می‌رود (حسن و فتوح<sup>۱</sup>، ۲۰۱۴). اسلیتر و بربانت<sup>۲</sup> (۱۹۸۲) نشان دادند که طی دوره سرماده‌ی در بذرهای نیازمند به سرما، مقادیر زیادی RNA جمع می‌شود که برای

**بحث**  
خواب و جوانه‌زنی بذر گیاهان به عوامل ژنتیکی و شرایط محیطی مؤثر بر رشد و نمو بذر بر روی بوته مادری و شرایط پس از برداشت بستگی دارد. به همین جهت در گونه‌ها، ژنوتیپ‌ها، اکوتیپ‌ها و همچنین شرایط محیطی مختلف، گزارش‌های متفاوتی درباره شرایط جوانه‌زنی و نحوه شکست خواب بذر وجود دارد. بذر گیاهان خانواده چتریان، اشکال مختلفی از خواب فیزیولوژیکی را از خود

<sup>1</sup> Hassan and Fetouh

<sup>2</sup> Slater and Bryant

مشتبهی بر شکست خواب بذر داشته که احتمالاً ناشی از تأثیر بر نفوذپذیری غشاهای سلولی و تغییر در جایه جایی یون‌ها بهویژه کلسیم برای تحریک و تولید بیشتر اسید جیبرلیک می‌باشد (توماس<sup>۱</sup>، ۱۹۹۰ و بولی و بلاک<sup>۲</sup>، ۱۹۹۴). همچنین طبق نظریه‌ای که مورد قبول بسیاری از کارشناسان مسائل بذر است، سرما باعث کاهش اسید آبسیزیک یا افزایش اسید جیبرلیک و یا هر دو تغییر به طور همزمان شده و با ایجاد تعادلی در دو هورمون، خواب بذر پایان می‌یابد (تیپیرداماز و گومورژن<sup>۳</sup>، ۲۰۰۰). زارع<sup>۴</sup> و همکاران (۲۰۱۱)، نیز در بررسی اثر تیمارهای مختلف سرماده‌ی بر جوانهزنی بذر آنفوزه، نتیجه گرفتند که افزایش تعداد روزهای سرماده‌ی تا ۶۰ روز بیشترین تأثیر بر بهبود درصد جوانهزنی (۶۸ درصد) داشته که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. همچنین در مطالعه رجبیان و همکاران (۱۳۸۶) نشان داده شد که تیمار سرماده‌ی (۴ درجه سانتی‌گراد) سبب افزایش درصد جوانهزنی بذرهاست آنفوزه می‌گردد.

عموآقایی (۱۳۸۵)، با بررسی تأثیر خیساندن بذرها، مدت زمان و دمای پیش سرمای مرطوب بر شکست خواب بذر کما، به این نتیجه رسید که پیش سرمای مرطوب در دمای ۱-۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ تا ۹ هفته بهترین تیمار برای شکست خواب بذر کما می‌باشد. در مطالعات حسنی<sup>۵</sup> و همکاران (۲۰۰۹)، به ۹ هفته سرماده‌ی مرطوب جهت جوانهزنی بذرهاست آنفوزه اشاره شده است. خطیب‌زاده و همکاران (۱۳۹۲)، با مطالعه اثر سطوح متغیر سرماده‌ی بر جوانهزنی بذرها این اجدان رومی، به این نتیجه رسیدند که کاربرد پیش سرمای مرطوب به مدت ۳ ماه بیشترین درصد جوانهزنی به میزان ۹۲ درصد را در پی داشته است. کشتکار و همکاران (۱۳۸۸)، با هدف بررسی تأثیر برخی تیمارها بر شکست خواب و جوانهزنی بذرها آنفوزه و باریجه، بیان داشتند که شستشو تأثیر معنی‌داری بر درصد جوانهزنی بذرهاست این دو گیاه نداشته و تیمار شستشو و سرماده‌ی

**جدول ۶**- تجزیه واریانس اثرات متقابل سرما، در غلظت هورمون (GA3)، زمان آبشویی و قدرت محیط کشت بذرهاست آنفوزه

منبع تغییرات	آزادی آزمون F	میانگین مربعات	درجه آزادی
سرما	۵۳۴۲/۸۰ **	۴۵۹۰۷/۲۷۳	۲
غلظت اسید جیبرلیک	۸۹۳/۶۷۱ **	۷۶۷۸/۷۴۰	۲
آبشویی	۱۱۰/۶۷۱ **	۹۵۰/۹۲۱	۲
محیط کشت	۷۷۲/۴۳۴ **	۶۲۲/۳۷۹	۱
اسید جیبرلیک × سرما	۳۸/۵۳ **	۳۳۱/۰۷۸	۴
آبشویی × سرما	۰/۳۵۳ ns	۳/۰۲۹	۴
محیط کشت × سرما	۲/۷۶۳ ns	۲۳/۷۴۱	۲
آبشویی × اسید جیبرلیک	۷/۰۴۳ **	۶۰/۵۱۲	۲
محیط × اسید جیبرلیک	۰/۳۹۲ ns	۳/۳۷۲	۲
محیط کشت × آبشویی	۱/۱۸۳ ns	۱۰/۱۶۵	۲
آسید جیبرلیک × سرما	۳/۷۹۰ **	۳۲/۵۶۹	۸
آبشویی × اسید جیبرلیک	۳/۲۵۸ **	۲۷/۹۹۵	۴
محیط کشت × آبشویی × سرما	۲/۵۷۱ **	۲۲/۰۹۲	۴
محیط کشت	۳/۸۷۱ **	۳۳/۲۵۸	۴
اسید جیبرلیک × سرما	۰/۸۲۲ ns	۷/۰۵۹	۸
محیط × آبشویی	۸/۵۹۲	۲۷۰	۱
خطای آزمایش			
ضریب تغییرات =			٪ ۶/۹۹

ns و \*\* به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد و عدم معنی‌داری

شروع رشد و نمو بذر موردنیاز است. زنگویی و همکاران (۱۳۹۱)، در مطالعه تعیین درجه حرارت‌های کاردينال جوانهزنی بذر آنفوزه نشان دادند که بالاترین میانگین جوانهزنی در درجه حرارت‌های ۳ و ۶ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد و درصد بالای جوانهزنی بذر در ۳ درجه سانتی‌گراد (۷۰ درصد)، نشان‌دهنده توان بالای این گیاه در تحمل سرما و همچنین نیاز سرمایی بهمنظور جوانهزنی است که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. در تیمار سرمایی اعمال شده بر بذر محلب توسط سخاوتی و همکاران (۱۳۹۰)، نیز بیان گردید که سرماده‌ی تأثیر

<sup>1</sup> Thomas

<sup>2</sup> Bewley and Black

<sup>3</sup> Tipirdamaz and Gomurgen

<sup>4</sup> Zare

<sup>5</sup> Hassani

۱۲۵ و ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر، سبب افزایش معنی‌دار جوانه‌زنی بذر هر دو گونه شد و بیشترین جوانه‌زنی نیز در تیمار دو هفتۀ سرما‌دهی مشاهده شد که مطابق نتایج این تحقیق است. اطرشی و همکاران (۲۰۰۹) با بررسی شکست خواب آنگوزه دریافتند که استفاده از ترکیب هورمون BAP با غلظت ۱/۰ میلی‌گرم در لیتر به همراه اسید جیبرلیک ۵ میلی‌گرم در لیتر و سه هفتۀ سرما‌دهی، بیشترین میزان جوانه‌زنی را نشان می‌دهد. پروین<sup>۴</sup> و همکاران (۲۰۱۵) در بررسی شکست خواب و جوانه‌زنی گردو دریافتند که استفاده از جیبرلیک اسید با غلظت ۴۰۰ پی‌پی‌ام همراه با دو ماه سرما‌دهی می‌تواند جوانه‌زنی را به میزان ۶۹ درصد افزایش دهد که در رابطه با کاربرد ترکیب این دو تیمار، با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. قره‌ماتروسیان<sup>۵</sup> و همکاران (۲۰۱۴) نیز با استفاده از غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک اسید و ده روز سرما‌دهی، جوانه‌زنی هندوانه ابوجهل<sup>۶</sup> را به میزان ۵۰ درصد افزایش دادند که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد. رضایی چیانه و همکاران (۱۳۹۳) در بررسی روش‌های مؤثر در شکست خواب بذرالبنج مشبک، به افزایش چشمگیر درصد جوانه‌زنی بذر، تحت تیمار تلفیقی سرما‌دهی مرطوب و اسید جیبرلیک تأکید داشتند که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. مکی‌زاده تفخی و همکاران (۱۳۸۵) نیز بالاترین درصد جوانه‌زنی بذر اکیناسه<sup>۷</sup> را در تیمار تلفیقی سرما و اسید جیبرلیک گزارش کرده که مؤید نتایج این تحقیق است. در مطالعات ایمانی<sup>۸</sup> و همکاران (۲۰۱۱) در گونه‌های پرونوس<sup>۹</sup> و هم‌چنین الپسی<sup>۱۰</sup> و همکاران (۲۰۱۰) در بذرهای چری<sup>۱۱</sup> نیز از تیمار تلفیقی هورمون و سرما بهمنظور بهبود و افزایش جوانه‌زنی استفاده شده که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. روات<sup>۱۲</sup> و همکاران (۲۰۱۰) نیز در مطالعه خود نشان دادند که تیمار

به مدت ۱۴ روز در دمای +۵ درجه سانتی‌گراد، بهترین روش برای شکست خواب بذر آنگوزه می‌باشد که مطابق با نتایج این تحقیق است. مکی‌زاده تفخی و همکاران (۱۳۹۰) بالاترین درصد جوانه‌زنی (۷۵ درصد) بذر گیاه کور<sup>۱</sup> را در تیمار آبشویی همراه با اسید جیبرلیک ۵۰۰ پی‌پی‌ام به دست آورده‌ند که تأییدی بر نتایج این تحقیق است. بر اساس گزارش انجمن بین‌المللی آزمون بذر خواب بذر در بیشتر گونه‌های جتریان، خواب اولیه درونی و فیزیولوژیک است (ایستا، ۱۹۹۶). هورمون‌ها در ایجاد و کنترل خواب فیزیولوژیکی بذر، نقش کلیدی دارند و در این بین، اسید جیبرلیک نقش بسیار مهمی در شکستن خواب بذر، جایگزینی سرما‌دهی در بذرها دارای پوسته سخت و در نهایت جوانه‌زنی بذر دارد. با افزایش سطح این هورمون، تعادل بین مواد بازدارنده و تحریک‌کننده به سمت افزایش مواد تحریک‌کننده، پیش می‌رود و به این ترتیب قوه نامیه و درصد جوانه‌زنی بذر افزایش می‌یابد (عموآقایی، ۱۳۸۶). بررسی‌ها نشان می‌دهد فرایند خواب در برخی بذرها، مرتبط با تجمع مواد فنلی در آن‌ها است. اسید آبسیزیک فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیز و در نتیجه میزان مواد فنلی بذر را افزایش می‌دهد. در مقابل اسید جیبرلیک و بنزیل آدنین، فعالیت آنزیم کاتکول اکسیداز را افزایش داده که موجب کاهش میزان مواد فنلی دانه و در نتیجه تحریک جوانه‌زنی می‌شوند (چی ووچا<sup>۲</sup> و همکاران، ۲۰۰۵). در عین حال جیبرلین با تضعیف سلول‌های آندوسپرمی موجب شکافت پوسته بذر توسط جنین شده و منجر به افزایش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در بذرهای جوانه‌زده می‌شود (بکریم<sup>۳</sup> و همکاران، ۲۰۰۷). سخاوتی و همکاران (۱۳۹۰) مشاهده کردند، بیشترین درصد جوانه‌زنی در گیاه محلب با تیمار اسید جیبرلیک ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر انجام شد و غلظت‌های پایین‌تر، جوانه‌زنی کمتری نشان داد که صحت نتایج این تحقیق را نیز تأیید می‌نماید. فاریابی (۱۳۹۰)، در بررسی تأثیر تیمارهای مختلف بر شکستن کمون بذرهای بومادران و آویشن نشان داد که اسید جیبرلیک در هر دو غلظت

<sup>4</sup> Parvin

<sup>5</sup> Gharehmatrossian

<sup>6</sup> *Citrullus colocynthis* (L.)

<sup>7</sup> *Echinacea angustifolia* D. C.

<sup>8</sup> Imani

<sup>9</sup> *Prunus*

<sup>10</sup> Al- Absi

<sup>11</sup> Cherry

<sup>12</sup> Rawat

<sup>1</sup> *Capparis spinosa* L.

<sup>2</sup> Chiwocha

<sup>3</sup> Bakrim

نیترات پتاسیم بوده که صحت این یافته‌ها را تائید می‌نماید. افزایش میانگین جوانهزنی بذرهای مربوط به سال ۱۳۹۱ در مقایسه با ۱۳۹۲ در تحقیق حاضر حاکی از اثر سال و نیاز به گذشت زمان برای توسعه یافتنگی رویان بذر می‌باشد. در بررسی تأثیر ارتفاع و تیمارهای مختلف بر جوانهزنی بذر آنفوزه تلخ توسط پیرمرادی و همکاران (۱۳۹۱) نیز در بذرهای تازه برداشت شده نسبت به بذرهای یکساله با اعمال تیمارهای موردنظر، جوانهزنی ملاحظه نگردید که دلیلی بر وجود رویان توسعه یافته در آنفوزه می‌باشد که با نتایج این تحقیق سازگاری دارد. نتایج تأثیر زمان برداشت بر روی گیاه تاج خروس ریشه قرمز<sup>۸</sup> نیز در آزمایش بلاغی و همکاران همکاران (۱۳۹۲) انجام شد و نشان داد که بذرهای جمع آوری شده در مردادماه، به نسبت بذرهای جمع آوری شده در شهریور و مهر، قدرت جوانهزنی بیشتری دارند که می‌تواند به علت خواب فیزیولوژیک بذر یا تغییرات فصلی سطح خواب باشد که برای بسیاری از گونه‌ها، گزارش شده است (باسکین و باسکین<sup>۹</sup>، ۱۹۹۸). تأثیر سال جمع آوری بذر بر جوانهزنی جوانهزنی گیاه کرفس کوهی، توسط ظفریان و همکاران (۱۳۹۲) و همچنانی بررسی خواب بذر چندگونه از خانواده چتریان توسط شریفی و همکاران (۱۳۹۴) نیز نشان داد که شرایط آب و هوایی، زیستگاه و زمان پر شدن بذر، گرما و یا عدم رطوبت کافی خاک، می‌تواند باعث پوک شدن برخی از بذرها و در نتیجه عدم جوانهزنی آن‌ها شود. دهکردی (۱۳۹۲)، نیز گزارش کرد که بذر یکساله کاهو برخلاف بذر تازه آن، قوه نامیه بیشتری دارد؛ زیرا طی این مدت مبادله گازکربنیک و اکسیژن برای سبز شدن بذر به علت تغییرات بافت پوسته بذر امکان‌پذیر می‌گردد که نتایج تحقیق حاضر را تائید می‌نماید. ظفریان و همکاران (۱۳۹۰)، با بررسی اثر تیمارهای درجه حرارت و عمر بذر در شکست خواب و ویژگی‌های جوانهزنی بذر کرفس معطر بختیاری<sup>۱۰</sup>، نتیجه گرفتند که میزان جوانهزنی به طور معنی‌داری تحت تأثیر دما و سال و اثر متقابل این دو عامل قرار

هم‌زمان سرما و اسید جیبرلیک باعث رشد ریشه و همچنان افزایش وزن‌تر ریشه‌ها در انار<sup>۱</sup> می‌شود. کوچکی و عزیزی (۱۳۸۴) در گیاه کلپوره<sup>۲</sup>، نشان دادند افزایش مدت زمان آبشویی، باعث افزایش جوانهزنی شده و خیساندن بذرها در آب، ضمن شکستن خواب بذر، جوانهزنی را ۳۲ درصد افزایش داد که با نتایج این تحقیق نیز مطابقت دارد. همچنان نجفی<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۰۶)، نیز نتایج یکسانی را در باریچه گزارش نمودند. در مطالعه عموماً قایی (۱۳۸۴)، مشخص شد خیساندن اثر معنی‌داری بر درصد جوانهزنی بذر کما ندارد که با نتایج این تحقیق همخوانی ندارد. در بررسی غلظت نمک‌های معدنی محیط کشت، برخی از محققان، محیط MS را مؤثرتر از سایر محیط‌های پایه برای خانواده چتریان دانسته‌اند (ماکونگا<sup>۴</sup> و همکاران، ۲۰۰۵؛ اما مطالعات مارتین<sup>۵</sup> و همکاران (۲۰۰۶)، بر روی تکثیر هیبریدهای ارکیده نشان داد، محیط MS  $\frac{1}{2}$  در مقایسه با محیط MS کامل، برای رشد ریزنمونه‌ها مؤثرتر بوده که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. قاسمیان و همکاران (۱۳۹۰)، به‌منظور بهینه نمودن شرایط کشت جنین گیاه وشا در محیط MS از غلظت‌های مختلف نمک‌های معدنی بهمنظور بهینه نمودن شرایط کشت جنین گیاه وشا در MS  $\frac{1}{2}$  MS<sub>1/4</sub>، MS<sub>1/8</sub>، MS<sub>1/4</sub>، استفاده نمودند که بهترین محیط برای جوانهزنی و تولید گیاه‌چهه‌های کامل، MS<sub>1/4</sub> بود که با افزایش غلظت نمک‌ها، میزان جوانهزنی نیز کاهش یافت که نتایج این تحقیق را تائید می‌نماید. رئیسی<sup>۶</sup> و همکاران (۲۰۱۳) در مطالعه جوانهزنی آنفوزه نشان دادند که غلظت  $\frac{1}{2}$  درصد نیترات پتاسیم در مقایسه با غلظت  $\frac{1}{4}$  درصد آن می‌تواند ۷۶ درصد جوانهزنی را افزایش دهد که با نتایج این تحقیق در خصوص استفاده از محیط MS  $\frac{1}{2}$  همخوانی دارد. در آزمایش طویلی و همکاران (۱۳۸۸) نیز مشخص شد نیترات پتاسیم تأثیر مثبتی بر بیهوبد جوانهزنی گیاه علف شور<sup>۷</sup> دارد. در تحقیق حاضر نیز محیط کشت MS بکار رفته، دارای بیشترین مقدار

<sup>1</sup> *Punica granatum*

<sup>2</sup> *Teucrium polium*

<sup>3</sup> Nadjafi

<sup>4</sup> Makunga

<sup>5</sup> Martin

<sup>6</sup> Raisi

<sup>7</sup> *Salsola rigida*

<sup>8</sup> *Amaranthus retroflexus*

<sup>9</sup> Baskin and Baskin

<sup>10</sup> *Kelussia odoratissima* Mozaff.

استفاده از سرمادهی مرتبط به مدت ۲ هفته در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید جیبرلیک منجر به افزایش جوانه‌زنی به میزان ۷۳/۸۳ درصد گردید. هم‌چنین اثرات سه‌گانه (آبشویی، سرما و محیط) کشت MS ۷/۲ نیز به میزان ۷۳/۷۷ درصد جوانه‌زنی را افزایش داده است، لذا می‌توان نتیجه گرفت که اثرات متقابل عوامل مورد بررسی در این تحقیق، باعث افزایش معنی‌دار شکست خواب و جوانه‌زنی بذر گیاه آنفوزه می‌گردد.

داشته و بالاترین میزان جوانه‌زنی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، بوده و در ۲۲ درجه، جوانه‌زنی مشاهده نشد. هم‌چنین از لحاظ تأثیر سال، جوانه‌زنی در بذرها مربوط به سال ۱۳۸۸ رخ داد در حالی که در بذرهای سال ۱۳۹۰ جوانه‌زنی مشاهده نشد که مؤید نتایج این تحقیق می‌باشد.

### نتیجه‌گیری

با توجه به معنی‌دار شدن اثرات متقابل سه‌گانه در مقابل اثرات چهارگانه، آبشویی بذر به مدت ۶ ساعت با

### منابع

- امیدبیگی، ر.، پیرمرادی، م.ر. و کریمزاده، ج. ۱۳۸۴. بررسی اثر روش‌های مختلف تیغ‌زنی بر میزان بازدهی و بقای گیاه آنفوزه. (*Ferula assa-foetida* L.).  
منابع طبیعی ایران، ۴(۵۷): ۷۹۱-۷۹۸.
- بلاغی، س.، راستگو، م.، رحیمیان مشهدی، ح.، قنبری، ع.، قربانی، ر. و اویسی، م. ۱۳۹۲. تأثیر زمان‌های برداشت بذر از گیاه مادری بر جوانه‌زنی تاج‌خرسوس ریشه قرمز (*Amaranthus retroflexus*). پنجمین همایش علوم علف‌های هرز ایران. پرdis کشاورزی، دانشگاه تهران. ۴۸۲-۴۸۴.
- پیرمرادی، م.ر.، امیدبیگی، ر.، نقوی، م.ر.، باقی‌زاده، ا. و یداللهی، ع. ۱۳۹۱. تأثیر ارتفاع و تیمارهای مختلف بر جوانه‌زنی بذر آنفوزه تلخ. (*Ferula assa foetida* L.).  
علوم گیاهان زراعی ایران، ۴(۴۳): ۴۶۳-۴۷۱.
- خطیبزاده، ر. عزیزی، م. آرویی، ح. و فارسی، م. ۱۳۹۲. اثر تیمارهای ضد عفونی سطحی و چینه سرماibi بر جوانه‌زنی بذر انجدان رومی (*Levisticum officinale* Koch.) در شرایط درون شیشه‌ای. علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)، ۲۷(۲): ۱۳۰-۱۳۸.
- دهکردی، ر.ک. ۱۳۹۲. تأثیر آبسیزیک اسید، اتفن، ۱- متیل سیکلوبروپان، تیوسولفات‌نقره و پرمنگنات پتابسیم بر رشد رویشی و زایشی کاهو (*Lactuca sativa*). پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۴۰-۴۶.
- رجیبان، ط.، صبورا، ع.، حسنی، ب. و فلاح حسینی، ح. ۱۳۸۶. اثر اسید جیبرلیک و سرمادهی بر جوانه‌زنی بذر آنفوزه.  
تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۳(۳): ۴۰۴-۳۹۱.
- رضایی چیانه، ا.، تاج‌بخش، م.، ولیزادگان، ا.، بنایی‌اصل، ف. و مهدوی‌کیا، ح. ۱۳۹۳. بررسی روش‌های مؤثر در شکستن خواب بذرالبنج مشبك (*Hyoscyamus reticulatus* L.).  
پژوهش‌های زراعی ایران، ۱۲(۲): ۲۵۳-۲۴۶.
- زرگری، ع. ۱۳۷۵. گیاهان دارویی. جلد دوم، انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ۵۹۲-۶۰۲.
- زنگویی، م. پارسا، س.، محمودی، س. و جامی‌الاحمدی، م. ۱۳۹۱. تعیین درجه حرارت‌های کاردینال جوانه‌زنی بذر آنفوزه.  
پژوهش‌های تولید گیاهی، ۱۹(۳): ۲۰۲-۱۹۳.
- سخاوتی، ن. حسینی، س.م.، اکبری‌نیا، م. و رضایی، ا. ۱۳۹۰. اثر اسید جیبرلیک همراه با سرمادهی جهت رفع خواب و افزایش جوانه‌زنی بذر بدون پوسته و با پوسته محلب (*Cerasus mahaleb* L. Mill.).  
تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۱۹(۱): ۲۰۴-۱۹۲.

- شريفى، ح. خواجه حسينى، م. و راشد محصل، م.ح. ۱۳۹۴. بررسى خواب بذر در هفت گونه گیاه دارویی از تیره چتریان (Apiaceae). پژوهش‌های بذر ایران، (۱): ۲۵-۳۶.
- طويلي، ع. صفرى ب و صابری، م. ۱۳۸۸. مقاييسه تأثیر کاربرد اسيد جiberlic و نيترات پتاسييم بر بهبود ويزگى‌های جوانهزنی *Salsola rigida* Salsola rigida. مرتع، (۲): ۲۷۲-۲۸۰.
- ظفریان، س. و هوشمند، س. ۱۳۹۲. بررسی اثر زمان، میزان و نحوه اعمال تنظیم‌کننده‌های رشد بنتزیل آمینو پورین و اسید جiberlic بر شکستن خواب بذر گیاه کرفس کوهی. تولید و فراوری محصولات زراعی و باگی، (۸): ۱۷۵-۱۶۵.
- ظفریان، س. هوشمند، س. و روحی، و. ۱۳۹۰. اثر تیمارهای درجه حرارت و عمر بذر در شکستن خواب و ويزگى‌های جوانهزنی بذر کرفس معطر بختیاری (*Kelussia odoratissima* Mozaff.). داروهای گیاهی، (۴): ۲۵۹-۲۵۵.
- عموآقایی، ر. ۱۳۸۴. تأثیر خیساندن بذرها، مدت زمان و دمای پيش سرمای مرطوب بر شکست خواب بذر کما (*Ferula ovina* Boiss.). زیست‌شناسی ایران، (۱۸): ۳۵۹-۳۵۰.
- عموآقایی، ر. ۱۳۸۵. تأثیر جiberlin و سرمای مرطوب بر شکست خواب بذر کما (*Ferula ovina* Boiss.). مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، (۱۱): ۴۷۱-۴۸۱.
- عموآقایی، ر. ۱۳۸۶. تأثیر برخی تنظیم‌کننده‌گان رشد در تحريك جوانهزنی بذر کما (*Ferula ovina* Boiss.) مجله پژوهشی علوم پایه دانشگاه اصفهان، (۲۴): ۵۰-۳۹.
- غلامی، ب. و عسگرزاده، م. ۱۳۸۷. بررسی تاریخ‌های مختلف کشت بهمنظور اهلی کردن آنگوزه شیرین. سومین همایش گیاهان دارویی، تهران، دانشگاه شاهد.
- فاریابی، ا. ۱۳۹۰. بررسی تأثیر تیمارهای مختلف بر شکست کمون بذرهاي دو گیاه دارویی بومادران و آویشن. اولین همایش ملی مباحث نوین در کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه.
- قاسمیان، خ. ناظری، س. و میرزایی اصل، ا. ۱۳۹۰. کشت جنین گیاه وشا (*Dorema ammoniacum*) و تأثیر محیط کشت و هورمون بر روی رشد آن. اولین همایش ملی مباحث نوین در کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه.
- کشتکار، ح.ر.، آذربیوند، ح. و شهریاری، ا. ۱۳۸۸. بررسی تأثیر برخی تیمارها بر شکست خواب و جوانهزنی بذرهاي *Ferula gummosa* و *Ferula assa foetida*. مرتع، (۳): ۲۹۰-۲۸۱.
- کوچکی، ع. و عزیزی، گ. ۱۳۸۴. اثر تیمارهای مختلف شکستن خواب بر جوانهزنی بذر کلپوره (*Teucrium polium*). مجله پژوهش‌های زراعی ایران، (۱): ۸۸-۸۱.
- مکی‌زاده تفتی، م.، فرهودی، ر.، راستی‌فر، م. و اسیلان، ک.س. ۱۳۹۰. روش‌های شکست خواب بذر در گیاه کور (*Capparis spinosa* L.). تحقیقات مرتع و بیابان ایران، (۱۸): ۵۷۷-۵۶۹.
- مکی‌زاده تفتی، م.، فرهودی، ر.، نقدي بادي، ح. و مهدی‌زاده، ع. ۱۳۸۵. تعیین بهترین تیمار افزایش جوانهزنی بذرهاي گیاهان دارویی روناس، اکیناسه و مورد. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، (۲۲): ۱۱۶-۱۰۵.
- ملashahi، م. حسینی، س.م. بیات، د. رضایی، ا. و وطنی، ل. ۱۳۸۷. اثر زمان جمع‌آوری بر جوانهزنی و قوه نامیه بذر نمدار. تحقیقات جنگل و صنوبر ایران، (۱۶): ۴۷۸-۴۸۵.

Al-Absi, K.M. 2010. The effects of different pre-sowing seed treatments on breaking the dormancy of Mahaleb cherries, (*Prunus mahaleb* L.) seeds. Seed Science and Technology, 38(2): 332-340.

- Bakrim, A., Lamhamdi, M., Sayah, F., and Chibi, F. 2007. Effects of plant hormones and 20 hydroxyecdysone on tomato (*Lycopersicum esculentum*) seed germination and seedlings growth. African Journal of Biotechnology, 6(24): 2792-2802.
- Baskin, J.M., and Baskin, C.C. 1998. Ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination. Elsevier. 162-177.
- Bewley, J.D., and Black, M., 1994. Seeds: Physiology of development and germination. Second Edition, Plenum, Press., New York. 199-271.
- Chiwocha, S.D., Cutler, A.J., Abrams, S.R., Ambrose, S.J., Yang, J., Ross, A.R., and Kermode, A.R. 2005. The etr1-2 mutation in *Arabidopsis thaliana* affects the abscisic acid, auxin, cytokinin and gibberellin metabolic pathways during maintenance of seed dormancy, moist-chilling and germination. The Plant Journal, 42(1): 35-48.
- Gharehmatrossian, S., Popov, Y., and Ghorbanli, M. 2014. Seed germination, dormancy breaking techniques of *Citrullus colocynthis* (L.) Schrab plant. Iranian Journal of Plant Physiology, 4(4): 1167-1171.
- Golmohammadi, F. 2013. Medical plant of *Ferula assa-foetida* and its cultivating, main characteristics and economical importance in South khorasan province - east of Iran. Technical Journal of Engineering and Applied Sciences, 3(18): 2334-2346.
- Hassan, F.A., and Fetouh, M.I. 2014. Seed germination criteria and seedling characteristics of *Magnolia grandiflora* L. trees after cold stratification treatments. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 3(3): 235-241.
- Hassani, B., Saboora, A., Radjabian, T., and Fallah Husseini, H. 2009. Effects of temperature, GA3 and Cytokinins on breaking seed dormancy of *Ferula assa-foetida* L. Iranian Journal of Science and Technology (Sciences), 33(1): 75-85.
- Imani, A., Rasouli, M., Tavakoli, R., Zarifi, E., Fatahi, R., Barba-Espin, G., and Martinez-Gomez P. 2011. Optimization of seed germination in *Prunus* species combining hydrogen peroxide or gibberellic acid pre-treatments with stratification. Seed Science and Technology, 39(1): 204-207.
- International Seed Testing Association (ISTA), 1999. International rules for seed testing. Seed Science and Technology, (Supplement). 27: 333.
- International Seed Testing Association (ISTA). 1996. International rules for seed testing. Seed Science and Technology. 21, (Supplement Rules).
- Makunga, N.P., Jager, A.K., and Van Staden, J., 2005. An improved system for the in vitro regeneration of *Thapsia garganica* via direct organogenesis–influence of auxins and Cytokinins. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 82(3): 271-280.
- Martin, K. P., and Madassery, J. 2006. Rapid in vitro propagation of *Dendrobium hybrids* through direct shoot formation from foliar explants, and protocorm-like bodies. Scientia Horticulturae, 108(1): 95-99.
- Murashige, T., and Skoog, F. 1962. Arevised media for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, 15(3): 473-497.
- Nadjafi, F., Bannayan, M., Tabrizi, L., and Rastgoo, M. 2006. Seed germination and dormancy breaking techniques for *Ferula gummosa* and *Teucrium polium*. Journal of Arid Environment, 64(3): 542-547.
- Otroschy, M., Zamani, A., Khodambashi, M., Ebrahimi, M., and Struik, P.C. 2009. Effect of exogenous hormones and chilling on dormancy breaking of seeds of Asafoetida (*Ferula assa-foetida* L.). Research Journal of Seed Science, 2(1): 9-15.

- Parvin, P., Khezri, M., Tavasolian, I., and Hosseini, H. 2015. The effect of gibberellic acid and chilling stratification on seed germination of eastern black walnut (*Juglans nigra* L.). Journal of Nuts, 6(1): 67-76.
- Raisi, A. Nabavi Kalat, S.M., and Sohani Darban, A.R. 2013. The study effects of stratification, temperature and potassium nitrate on seed dormancy breaking *Ferula assa foetida*. World Applied Sciences Journal, 21(3): 379-383.
- Rawat, J.M.S., Tomar, Y.K., and Rawat, V. 2010. Effect of stratification on seed germination and seedling performance of wild pomegranate. Journal of American Science, 6(5): 97-99.
- Slater, R.J., and Bryant, J.A. 1982. RNA metabolism during breakage of seed dormancy by low temperature treatment of fruits of *Acer platanoides*. Annals of Botany, 50(2): 141-149.
- Thomas, T.H., 1990. Hormonal involvement in photo regulation of celery seed dormancy. Monograph British Society for Plant Growth Regulation, 20: 51-59.
- Tipirdamaz, R., and Gomurgen, N. 2000. The effects of temperature and gibberellic acid on germination of *Eranthis hyemalis* (L.) salisb seeds. Turkish Journal of Botany, 24(2): 143-145.
- Zare, A.R., Solouki, M., Omidi, M., Iravani, N., Oladzad Abasabadi, A., and Mahdi Nezad, N. 2011. Effect of various treatments on seed germination and dormancy breaking in *Ferula assa foetida* L. (Asafetida), a threatened medicinal herb. Trakia Journal of Sciences, 9(2): 57- 61.

## Effect of Breaking Dormancy Treatments on Germination of *Ferula assa-foetida* L. Seed

Ahmad Nowruzian<sup>1</sup>, Majid Masoumian<sup>2,\*</sup>, Mohammad Ali Ebrahimi<sup>3</sup>, Gholam Reza Bakhshi khaniki<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Researcher, Department of Agriculture, Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST), Tehran, Iran

<sup>2</sup> Assistant Professor, Department of Agriculture, Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST), Tehran, Iran

<sup>3,4</sup> Associate Professor and Professor, Biotechnology Department of Payame Noor University of Tehran, Tehran, Iran

\*Corresponding author, E-mail address: [masoumian@irost.ir](mailto:masoumian@irost.ir)

(Received: 03.04.2016 ; Accepted: 27.07.2016)

### Abstract

Asafetida (*Ferula assa- foetida* L.) is an important medicinal plant belonging to Apiaceae family, and has long dormancy. In this research, vernalization, washing time, GA3, medium strength, harvesting time and interaction of these treatments were studied to optimize condition of germination. The results showed that vernalization at 4-5°C for two weeks increased germination by 50%, as compared with the control. Maximum and minimum germinations were obtained for 6 and 2 hours' washing, which were 42% and 20.47%, respectively. Germination of *Ferula* was increased (41.5%) by using 10 mg/l of GA3, as compared with the control. In addition, using half strength MS media led to a 25% increase in germination. Moreover, germination mean increased by applying these treatments to one-year-old seeds, in comparison with fresh ones (61% and 36%, respectively). By running factorial experiments in the CRD, the best combination of treatments which could significantly increase germination was combination of vernalization (4-5°C for two weeks), half strength MS media, GA3 (10 mg/l) and washing time (6h). Given the results of the study, for the purpose of breaking the dormancy of Asafetida, it is suggested that use be made of one-year-old seeds, and half strength MS media, along with right combinations of vernalization, washing time and GA3.

**Keywords:** *Washing time, Ferula assa-foetida L., GA3, Germination, Harvesting time, Vernalization, Seed dormancy breaking*