

اثر چینه‌سرمایی و ترکیب آن با اسید جیبرلیک بر شکست خواب بذرهای خوشاریزه (*Echinophora platyloba*)

علی عباسی سورکی^{۱*}، زهرا حسینی^۲، سینا فلاح^۱

چکیده مبسوط

مقدمه: بذرهای گزینه مناسبی جهت برنامه‌های تکثیر و حفاظت گیاهان دارویی هستند. اگر چه وجود خواب در بذر برای گیاهان دارویی وحشی یک راهبرد سازگاری محسوب می‌شود، اما در مسیر اهلی‌سازی، زراعت و پرورش آن‌ها یک صفت نامطلوب محسوب می‌شود و باید آن را برطرف نمود. بذر خوشاریزه نیز علیرغم دارا بودن خواص دارویی قابل توجه، دارای خواب می‌باشد. مواد و روش‌ها: به منظور شکست خواب بذر گیاه خوشاریزه سه آزمایش جداگانه شامل سرمادهی مرطوب، تیمار هورمونی و ترکیبی از هر دو اجرا گردید. برای تیمار سرمادهی مرطوب بذرهای ۱۰ نمونه ۱۰۰ تایی به صورت مرطوب در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲، ۱۴ و ۱۶ هفته قرار گرفته و با استفاده از طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار مورد مقایسه قرار گرفتند. برای تیمار هورمونی بذرهای ۲۴ ساعت در بستر حاوی غلظت‌های صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین قرار گرفتند و سپس به شرایط جوانه‌زنی منتقل شدند ولی از آنجا که شکست خواب اتفاق نیفتاد، این آزمایش مورد بحث قرار نگرفت. برای ترکیب تیمارهای هورمونی و سرمادهی بذرهای ۲۴ ساعت در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد در غلظت‌های ذکر شده جیبرلین قرار داده شدند و سپس به محیط حاوی آب مقطر در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد منتقل شد و در مدت ۲، ۴، ۶ و ۸ هفته در یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار مورد مقایسه قرار گرفتند. عامل اول غلظت جیبرلین در سه سطح و عامل دوم مدت زمان سرمادهی در ۴ سطح بود.

یافته‌ها: سرمادهی مرطوب اثر مثبتی بر شکستن خواب بذر داشت و در تیمار ۱۶ هفته سرمادهی صفات درصد و سرعت جوانه‌زنی و شاخص‌های بنیه به بیشترین مقدار خود رسید. استفاده توأم تیمارهای هورمونی موجب تسریع شکست خواب و بهبود خصوصیات جوانه‌زنی بذرهای این گیاه گردید بطوریکه در ۸ هفته به بالاترین میزان ممکن رسید. تیمار ۸ هفته سرمادهی مرطوب در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد توأم با ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک اسید، بهترین تیمار برای شکست خواب بذر خوشاریزه بود. نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد خواب بذرهای خوشاریزه از نوع فیزیولوژیکی است که بطور موفقیت آمیزی توسط سرمادهی و کاربرد همزمان سرمادهی و هورمون جیبرلین شکسته می‌شود. اگرچه هورمون جیبرلین به تنهایی اثری بر شکست خواب نداشت، اما سبب کاهش نیاز سرمایی بذرهای خوشاریزه گردید و استفاده توأم این دو اثر هم‌افزایی داشت.

واژه‌های کلیدی: جوانه‌زنی، سرمادهی مرطوب، هورمون، بنیه بذر

جنبه‌های نوآوری:

- ۱- خواب بذر خوشاریزه تحت تأثیر سرمادهی مرطوب برطرف شد، ولی جیبرلین به تنهایی اثری بر شکست خواب نداشت.
- ۲- استفاده از جیبرلین سبب کاهش نیاز سرمایی گردید و استفاده توأم این دو بر شکست خواب اثر هم‌افزایی داشت.

مقدمه

استفاده از گیاهان دارویی به منظور درمان بیماری‌ها با تاریخ زندگی انسان هم‌زمان بوده است. انسان در تمام دوران تاریخی چاره‌ای جز توسل به گیاهان نداشت و طی سالیان متمادی داروهای طبیعی بخصوص داروهای گیاهی، اساس و حتی در برخی موارد تنها راه درمان محسوب می‌شدند و یا مواد اولیه موجود در آن‌ها در صنعت داروسازی مورد استفاده قرار می‌گرفتند (زمان^۱، ۲۰۱۳). خوشاريزه (*Echinophra platyloba*) گیاه دارویی از خانواده چتریان و از گیاهان انحصاری ایران بوده و به نام‌های محلی خوشاريزه، خوشاروزه، تیغ توراغ و کشندر معروف است (دل آرام و صادقیان^۲، ۲۰۱۰).

جنس خوشاريزه در ایران ۴ گونه گیاهی علفی چند ساله معطر دارد. دو گونه *E. cinerea* و *E. platyloba* انحصاری ایران هستند و دو گونه دیگر با نام‌های *E. anatolica*، *E. orientalis* و *sibthorpiana* علاوه بر ایران در آناتولی، ارمنستان، روسیه، ترکمنستان، افغانستان، شبه جزیره، بالکان، قبرس و سوریه نیز می‌رویند (مظفریان^۳، ۱۹۹۶). عصاره این گیاه نه تنها اثر ضد میکروبی و ضد قارچی دارد و در درمان بیماری‌های عفونی مفید است، بلکه از ایجاد عوارض ناشی از داروهای شیمیایی نیز جلوگیری می‌کند.

یکی از مشکلاتی که کشت گیاهان خانواده چتریان با آن مواجه است، جوانه‌زنی اندک به دلیل خواب بذر است. بذر برخی از درختان و گیاهان به رغم اینکه سالم، رسیده و دارای قوه نامیه هستند، حتی اگر در شرایط محیطی مناسب از نظر رطوبت، درجه حرارت و گازها قرار گیرند، جوانه نمی‌زنند. این حالت را خواب بذر^۴ می‌گویند (نیکولوا^۵، ۱۹۹۹). فرآیند خواب یک مزیت بوم‌شناختی می‌باشد که بذر را تا فراهم شدن شرایط مساعد جهت جوانه‌زنی، به حالت کمون نگه می‌دارد. خواب بذر به خواب فیزیکی و فیزیولوژیکی تقسیم می‌شود: خواب فیزیکی به سبب غیرقابل نفوذ بودن و مقاومت‌های مکانیکی پوشش‌های بذر و خواب

فیزیولوژیکی در اثر وجود بازدارنده‌های جوانه‌زنی در پوشش بذر یا جنین به وقوع می‌پیوندد. علاوه بر این، نوع ساختمان پوشش جنین، اندوسپرم، پوسته بذر و دیواره میوه‌های غیرشکوفه‌ای، ممکن است در جلوگیری از جوانه‌زنی نقش داشته باشند (باسکین^۶ و همکاران ۱۹۹۵ و نیکولوا^۷، ۱۹۹۹). طبق گزارش انجمن بین المللی آزمون بذر^۸، خواب بذر در بیشتر گونه‌های تیره چتریان^۹ از نوع خواب درونی مرفوفیزیولوژیکی است که با نسبت نامناسب هورمون‌های تحریک کننده و بازدارنده جوانه‌زنی بذر و وجود جنین نارس در ارتباط است. این نوع خواب معمولاً به کمک سرما و کاربرد خارجی هورمون از نوع جیبرلین قابل کنترل است. مانکوسو^{۱۰} و همکاران (۲۰۱۲) شکست خواب بذر *Fritillaria montana* را مورد مطالعه قرار دادند. آن‌ها گزارش نمودند بذرهاي این گونه برای شکست خواب به یک دوره سرمادهی نیاز دارند. روحی^{۱۱} و همکاران (۲۰۱۰) با اعمال تیمارهای مختلف بر شکست خواب بذر *Tulipa kaufmanniana* اظهار داشتند تیمار سرمادهی در مقایسه با تیمار اسید جیبرلیک و نیترات پتاسیم بهترین تیمار جهت شکست خواب بذر لاله است. همچنین کاربرد اسید جیبرلیک ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر و نیترات پتاسیم یک درصد بعد از سرمادهی موجب دستیابی به جوانه‌زنی بالاتر می‌شود. ابراهیمی^{۱۱} و همکاران (۲۰۱۴) با آزمایشی بر بذرهاي *Allium hirtifolium* Boiss اعمال تیمارهای خراش‌دهی، سرمادهی، نیترات پتاسیم و اسید جیبرلیک را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج آنها نشان داد اعمال تیمارهای خراش‌دهی، سرمادهی و کاربرد اسید جیبرلیک (۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) در شکست خواب بذر و افزایش طول گیاهچه بذر موسیر مؤثر بود. دوران و گوداده^{۱۲} (۲۰۱۲) تأثیر تنظیم‌کننده‌های مختلف رشد را در بذر *Asparagus sprengeri* مورد بررسی قرار دادند. نتایج

⁶ Baskin

⁷ ISTA

⁸ Apiaceae

⁹ Mancuso

¹⁰ Rouhi

¹¹ Ebrahimi

¹² Dhoran and Gudadhe

¹ Zaman

² Delaram and Sadeghiyan

³ Mozaffarian

⁴ Seed dormancy

⁵ Nikolaeva

جوانه‌زنی می‌شود (کارسن و لاکا^۸، ۱۹۸۶). گزارش شده شده کاربرد هورمون اسید جیبرلیک موجب شکست خواب و استقرار گیاه باریجه می‌شود (نجفی و همکاران، ۲۰۰۶).

کوینچو^۹ (۲۰۰۵) با آزمایشی روی شاه‌توت (*Morus nigra*) اعمال تیمارهای سرمادهی و اسید جیبرلیک را مطالعه و ملاحظه نمود سرمادهی اثر معنی‌داری بر جوانه‌زنی داشته است. همین طور پیش تیمار بذرها با اسید جیبرلیک (در غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم بر لیتر) موجب افزایش درصد جوانه‌زنی در گیاه فوق تا ۶۰ درصد و افزایش ۲۷ درصدی نسبت به شاهد شد. همچنین در این گیاه، با افزایش غلظت هورمون درصد جوانه‌زنی نیز به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد (از ۳۳ درصد در شاهد تا ۶۰ درصد در غلظت ۲۰۰۰ میلی گرم بر لیتر). در آزمایش دیگری نجفی و همکاران (۲۰۰۶) تأثیر تیمارهای مختلف شکست خواب را در دو گونه گیاه دارویی باریجه (*Ferula gummosa*) و مریم نخودی (*Teucrium chamaedrys*) مورد مطالعه قرار دادند و گزارش نمودند که اعمال اسید جیبرلیک خارجی و همچنین سرمادهی مرطوب همراه با شستشو، موجب شکست خواب بذر و افزایش درصد جوانه‌زنی در باریجه شده است. در مریم نخودی تیمار شستشو در دمای پایین (سرمادهی) اثری بر افزایش درصد جوانه‌زنی نداشت. نتایج نشان داد با افزایش غلظت اسید جیبرلیک، درصد جوانه‌زنی نیز افزایش پیدا می‌کند و همبستگی مثبتی بین غلظت اسید جیبرلیک و درصد جوانه‌زنی وجود داشت. بهادری و جوانبخت^{۱۰} (۲۰۰۶) با اعمال تیمارهای مختلف شکست خواب پس از یک دوره سرمادهی به مدت دو هفته بر بذرها زیره سیاه ایرانی (*Carum carvi*) دریافتند تیمار اسید جیبرلیک و کینتین، که نوعی سیتوکینین می‌باشد، موجب بیشترین درصد جوانه‌زنی شده است. در واقع اعمال تیمارهای جداگانه این دو هورمون (اسید جیبرلیک و کینتین) منجر به افزایش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی نسبت به

نشان داد تیمار اسید جیبرلیک در مقایسه با سایر تیمارها تأثیر معنی‌داری بر سرعت جوانه‌زنی داشته است. آقابانزاد^۱ و همکاران (۲۰۱۸) بیان داشتند که تیمار ۸ هفته سرمادهی به همراه غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید جیبرلیک سبب افزایش صفات جوانه‌زنی گیاه لاله واژگون گردید و اثر آن از هر یک از این تیمارها به تنهایی بیشتر بود. صالحی^۲ و همکاران (۲۰۱۵) نیز در گیاه بیلهر (*Dorema aucheri*) استفاده از تیمار سرمادهی و جیبرلین را برای شکست خواب پیشنهاد دادند. عمواقی^۳ (۲۰۰۷) در مطالعه خود روی گونه‌های گیاهی تیره چتریان سرمادهی به مدت شش ماه را بهترین تیمار برای شکستن خواب بذر افراد این تیره تشخیص داد. نجفی^۴ و همکاران (۲۰۰۶) نیز دریافتند که سرمادهی نقش مهمی در فراهم نمودن القاکنده‌های شکست خواب ایفا می‌کند. این نتایج توسط محققان دیگر نیز مورد تأیید قرار گرفته است (ولک و هدایتی^۵، ۲۰۰۴؛ رضوی و حاجی بلند^۶، ۲۰۰۹).

طبق نظریه‌ای که مورد قبول بسیاری از متخصصین بذر است، سرما باعث کاهش محتوای اسید آبسازیک یا افزایش محتوای اسید جیبرلیک شده و یا هر دو تغییر به طور همزمان انجام می‌گیرد و با ایجاد تعادل هورمونی، خواب بذر را پایان می‌دهد. مدت زمان سرمادهی لازم برای افزایش قوه نامیه در بذرها گیاهان مختلف بستگی به تأثیر ویژگی‌های ژنتیکی بذر، شرایط محیطی و اقلیمی نمو بذر و نیز شرایط سرمادهی دارد (بریدج^۷، ۲۰۰۰).

هورمون جیبرلیک‌اسید از محرک‌های جوانه‌زنی است و به نظر می‌رسد کاربرد خارجی آن موجب کاهش فعالیت اسید آبسازیک، که از مهم‌ترین بازدارنده‌های جوانه‌زنی است، می‌شود. افزایش غلظت این هورمون موجب برهم خوردن تعادل هورمونی درون بذر و القای

¹ Aghababanejad

² Salehi

³ Amuaghai

⁴ Nadjafi

⁵ Walk and Hedayati

⁶ Razavi and Hajiboland

⁷ Bridg

⁸ Karsen and Lacka

⁹ Koyuncu

¹⁰ Bahadory and Javanbakht

در دمای یخچال (۴ تا ۵ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲، ۱۴ و ۱۶ هفته گذاشته شدند و میزان جوانه‌زنی آن‌ها بررسی شد. تیمارهای موردنظر شامل مدت زمان سرمادهی در ۸ سطح با استفاده از طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار مورد مقایسه قرار گرفتند. برای تیمار هورمونی بذرها به مدت ۲۴ ساعت در بستر حاوی غلظت‌های صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین قرار گرفتند و سپس به شرایط جوانه‌زنی منتقل شدند (آقابانژاد و همکاران، ۲۰۱۸) ولی از آنجا که شکست خواب اتفاق نیفتاد، این آزمایش مورد بحث قرار نگرفت.

برای ترکیب تیمارهای هورمونی و سرمادهی بذرها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد در غلظت‌های ذکر شده جیبرلین قرار داده شدند و سپس در بین بستری از پیت ماس و پرلیت مرطوب درون ظرف درب داری قرار داده و در دمای یخچال (۴ تا ۵ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفته و به مدت به مدت ۲، ۴، ۶ و ۸ هفته نگهداری شدند. تیمارهای موردنظر در یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار مورد مقایسه قرار گرفتند. فاکتور اول غلظت جیبرلین در سه سطح و عامل دوم مدت زمان سرمادهی در ۴ سطح بود؛ مانند آزمایش قبل بذرهاى شاهد جوانه‌زنی نداشت و در محاسبات نیامده است.

تعداد بذرهاى جوانه زده هر ۲۴ ساعت به مدت ۲۰ روز ثبت گردید (ایستا^۲، ۲۰۰۹). مبنای جوانه‌زنی خروج ریشه‌چه به اندازه ۲ میلی‌متر بود. صفات درصد و سرعت جوانه‌زنی (یاجینگ^۴ و همکاران، ۲۰۰۹) و شاخص بنیه به صورت زیر محاسبه گردید (کالسا و ابیبی^۴، ۲۰۱۲).

Vigor Index-I = Standard Germination
(%) × Seedling length (cm)

Vigor Index-II = Standard Germination
(%) × Seedling dry weight (mg)

زمان کاشت تا رسیدن به ۱۰ درصد جوانه‌زنی (t_{10}) و ۵۰ درصد جوانه‌زنی (t_{50}) با استفاده از برنامه

شاهد شده ولی اعمال تیمارهای توأم این دو هورمون بیشترین درصد جوانه‌زنی را موجب شد. جیبرلیک‌اسید از تنظیم‌کننده‌های رشد است که نقش مهمی در جوانه‌زنی داشته و موجب شکست خواب می‌شود. این هورمون همچنین آنزیم‌های هیدرولیتیکی را القا می‌کند که برای حل کردن سلول‌های ذخیره‌ای اطراف ریشه‌چه مورد نیاز هستند، بنابراین موجب سرعت بخشیدن به جوانه‌زنی می‌شوند (رود^۱ و همکاران، ۱۹۹۰).

با توجه به اثرات وسیع درمانی گیاه خوشاريزه، لزوم اهلی سازی، توسعه کشت و زراعت آن و همچنین فائق آمدن بر مشکل عمده وجود خواب در بذر این گیاه، این آزمایش با هدف کاربرد چینه سرمادهی و ترکیب آن با جیبرلین بر شکست خواب بذرهاى این گیاه انجام گردید.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر به منظور تعیین بهترین تیمارهای شکست خواب بذر گیاه خوشاريزه در آزمایشگاه تحقیقاتی علوم و تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد در سال ۱۳۹۳ انجام شد. بذرها در تابستان ۱۳۹۳ از منطقه شهرکرد با عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۲۱ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۴۹ دقیقه شرقی با ارتفاع ۲۱۱۶ متر از سطح دریا از بوته‌های مادری جمع آوری گردید. ابتدا ناخالصی‌های فیزیکی بذرها جداسازی شد. پس از آن بذرهاى شکسته و آفت زده جدا شده و سپس آزمون‌های تترازولیوم و جوانه‌زنی به منظور اطمینان از زنده بودن و خواب بذرها روی آن‌ها اعمال گردید و پس از اطمینان از زنده بودن بذرها و این‌که بذرهاى مورد نظر دارای خواب می‌باشند، تیمارهای شکست خواب اعمال شد.

بدین منظور سه آزمایش جداگانه شامل سرمادهی مرطوب، تیمار هورمونی و ترکیبی از هر دو به صورت ذیل اجرا گردید:

برای تیمار سرمادهی مرطوب بذرها در ۱۰ نمونه ۱۰۰ تایی به صورت مرطوب در بین بستری از پیت ماس و پرلیت (۱:۱) درون ظرف درب داری قرار گرفته و

² ISTA

⁴ Ya-jing

⁴ Kalsa and Abebie

¹ Rood

موجب شد. بررسی اثر متقابل مدت زمان سرمادهی × غلظت جیبرلین نشان داد که سرمادهی ۸ هفته با غلظت جیبرلین ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر بالاترین درصد جوانه‌زنی ۷۲/۳۳ درصد را موجب شدند (شکل ۱). در مقایسه درصد جوانه‌زنی در تیمار سرمادهی مرطوب و ترکیب تیمار سرمادهی مرطوب و اسید جیبرلیک مشخص شد که تیمار سرمادهی مرطوب ۸ هفته توأم با جیبرلیک اسید ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر موفق‌تر عمل کرده و درصد جوانه‌زنی میزان بالاتری را به نسبت تیمار سرمادهی ۱۶ هفته به خود اختصاص داد. با افزایش مدت زمان سرمادهی میزان درصد جوانه‌زنی بذر خوشاریزه افزایش یافت. اسید جیبرلیک و سرمادهی مرطوب اثر هم‌افزایی بر شکست خواب بذر خوشاریزه دارد. هم چنین مشخص شد به کار بردن اسید جیبرلیک مدت زمان سرمادهی مرطوب برای شکست خواب بذر خوشاریزه را کاهش می‌دهد؛ بطوریکه از ۱۶ هفته سرمادهی مرطوب به ۸ هفته کاهش یافت، ضمن اینکه درصد جوانه‌زنی نهایی نیز بالاتر است. آقابانزاد و همکاران (۲۰۱۸) نیز نشان دادند کاربرد توأم جیبرلین با سرمادهی مرطوب سبب شد خواب بذرهای گیاه لاله واژگون سریعتر شکسته شده و میزان جوانه‌زنی و سرعت آن نیز افزایش یابد.

نتایج این آزمایش نشان داد که ترکیب دو تیمار جیبرلین و سرما برای تحریک جوانه‌زنی بذرهای خوشاریزه تحت شرایط معین بیشترین بازده را دارد. کوینچو (۲۰۰۵) با آزمایشی روی شاه‌توت اعمال تیمارهای سرمادهی و اسید جیبرلیک را مورد مطالعه قرار داد و ملاحظه نمود سرمادهی اثر معنی‌داری بر جوانه‌زنی داشته است. همین طور پیش تیمار بذر با اسید جیبرلیک (در ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم بر لیتر) موجب افزایش درصد جوانه‌زنی در گیاه فوق تا ۶۰ درصد و افزایش ۲۷ درصدی نسبت به شاهد شد. با افزایش غلظت هورمون درصد جوانه‌زنی نیز به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد و در بیشترین مدت سرمادهی، درصد جوانه‌زنی به ۷۴ درصد رسید که بیشتر از اسید جیبرلیک در همان غلظت و بدون سرمادهی بود. کشتکار و همکاران (۲۰۰۸) اثر تیمارهای پیش سرمادهی و جیبرلین را برای جوانه‌زنی گونه‌های

GERMINATOR و طبق فرمول زیر محاسبه گردید (جوئن^۱ و همکاران، ۲۰۱۰).

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

$N =$ تعداد نهایی بذور جوانه‌زده

$n_i, n_j =$ تعداد تجمعی بذور جوانه زده در زمان‌های

t_j و t_i زمانی که $n_i < N/2 < n_j$

داده‌ها به کمک نرم افزار SAS آنالیز و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح ۵ درصد انجام شد و نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel ترسیم شدند.

نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی

استفاده از هورمون جیبرلین به تنهایی در هیچ یک از سطوح بر شکست خواب و جوانه‌زنی گیاه خوشاریزه اثری نداشت و لذا مورد بحث قرار نگرفت؛ اما تیمار سرمادهی مرطوب در آزمایش اول و کاربرد توأم جیبرلین و سرمادهی از آزمایش سوم باعث شکست خواب بذرهای خوشاریزه گردید که در ادامه آمده است. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در آزمایش اول نشان داد که اثر مدت زمان سرمادهی بر شکستن خواب بذر و خصوصیات جوانه‌زنی بذر خوشاریزه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). به موازات افزایش مدت زمان سرمادهی، درصد جوانه‌زنی بذرهای خوشاریزه روند افزایشی داشت، به طوری که سرمادهی مرطوب بذرهای خوشاریزه توانست میزان جوانه‌زنی را از صفر در زمان شروع آزمایش به ۵۸ درصد در ۱۶ هفته پس از سرمادهی برساند. در همین زمان بذرهای شاهد بدون تیمار سرمادهی باز هم میزان جوانه‌زنی صفر را نشان دادند (شکل ۱).

در آزمایش سوم اثر مدت زمان سرمادهی، غلظت جیبرلین و اثر متقابل مدت زمان سرمادهی × غلظت جیبرلین بر درصد جوانه‌زنی در سطح یک درصد معنی دار شد (جدول ۲). افزایش مدت زمان سرمادهی تا ۸ هفته موجب افزایش درصد جوانه‌زنی گردید. هم‌چنین در تمامی سطوح مدت زمان سرمادهی غلظت جیبرلین ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر درصد جوانه‌زنی بیشتری را

¹ Joosen

آنزیم‌های هیدرولیتیک را تحریک می‌کند که برای رشد سلول‌های اطراف ریشه‌چه مورد نیاز است و بنابراین سرعت جوانه‌زنی را توسط تحریک رشد طولی گیاهچه افزایش می‌دهد.

مولکول‌های بزرگ را در کنترل سوخت و ساز و رشد و نمو مورد تاکید قرار می‌دهد (اسلاتر و بریانت^۲، ۱۹۸۲).

رابطه مستقیمی بین طول دوره سرمای مورد نیاز برای شکست خواب بذر و اقلیم وجود دارد. دمای ۵ درجه سانتی‌گراد یا اندکی کمتر برای گیاهانی که در اقلیم‌های سرد می‌رویند، بیشترین تأثیر را در شکستن خواب بذر دارد (کوچکی و عزیز^۳، ۲۰۰۵). والک و هدایتی (۲۰۰۴) با آزمایش‌های مختلف شکست خواب بر بذرهاى *Osmorhiza depauperata* دریافتند خواب بذر در آنها تنها با سی و دو هفته سرمادهی برطرف می‌شود. رضوی و حاجی بلند (۲۰۰۹) اثبات نمودند بذرهاى گیاه جاشیر از خانواده چتریان دارای خواب مرفوفیزیولوژیک است که به میزان زیادی با اعمال سرمادهی به مدت ۸ هفته برطرف می‌گردد. آقابانژاد و همکاران (۲۰۱۶) بیان نمودند که بذر لاله واژگون دارای خفتگی فیزیولوژیک بوده و برای برطرف شدن خواب به سرما نیاز دارند.

تیمار سرما موجب تغییرات فیزیولوژیکی در بذرهاى مرطوب شده که این امر منجر به رشد جنین می‌گردد. فرایند سرمادهی بذر تولید برخی مواد محرک رشد نظیر جیبرلین را زیاد می‌کند، دمای پایین نیز ممکن است از طریق تأثیر روی نفوذپذیری غشاء موجب رسیدن جیبرلین به مواضع هدف در بذر گردد. از سوی دیگر ممکن است در اثر تیمار سرما مقدار ABA بذر یا مقدار حساسیت جنین به ABA کاهش یابد. در انواع بسیاری از بذرها که به‌طور گسترده‌ای نیاز به سرما جهت برطرف شدن خواب دارند، در طی دوره سرما مقداری RNA جمع می‌شود. حال آنکه در بذرهاى شاهد که در دمای بالاتر نگهداری می‌شوند، تجمع RNA دیده نمی‌شود. این اطلاعات حقیقتاً وضعیت پیچیده‌ای را باعث می‌شود. زیرا RNA در بذرهایی که در معرض سرما قرار

Ferula Assa-foetida و *Prangos ferulaceae* مورد بررسی قرار دادند. افزایش میزان جوانه‌زنی هر دو گونه با افزایش غلظت جیبرلین مشاهده شد. به ویژه اینکه گونه *P. ferulaceae* تحت تیمار پیش سرمادهی و جیبرلین با غلظت میلی‌گرم در لیتر ۱۰۰۰ بالاترین میزان جوانه‌زنی ۷۳ درصد را از خود نشان داد.

سرعت جوانه‌زنی

سرعت جوانه‌زنی نیز تحت تأثیر تیمار مدت زمان سرمادهی در آزمایش اول (جدول ۱) و نیز تحت تأثیر اثرات اصلی و متقابل مدت زمان سرمادهی و اسید جیبرلیک در آزمایش سوم قرار گرفت (جدول ۲). مقایسه میانگین سطوح مختلف سرمادهی در سطح احتمال ۱٪ نشان داد که بالاترین سرعت جوانه‌زنی نیز به تیمار سرمادهی ۱۶ هفته مربوط شده است (شکل ۲). نتایج نشان داد که سرمادهی مرطوب و افزایش زمان آن موجب شکستن خواب بذرهاى خوشاریزه می‌شود و در واقع سرمادهی به افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی منجر می‌شود. بر اساس نتایج این آزمایش سرمادهی مرطوب عاملی ضروری برای شکستن خواب بذر خوشاریزه می‌باشد.

در کاربرد هورمون و سرما افزایش مدت زمان سرمادهی موجب افزایش سرعت جوانه‌زنی تا ۸ هفته گردید. هم‌چنین در تمامی سطوح مدت زمان سرمادهی غلظت جیبرلین ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر سرعت جوانه‌زنی بیشتری را موجب شد. افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی در تیمار تلفیقی سرمادهی و هورمون جیبرلین می‌تواند بدین دلیل باشد که حضور طولانی مدت هورمون در جنین موجب افزایش پاسخ جنین به سرمادهی شده و یا موجب تحریک آنزیم‌های مربوط به جوانه‌زنی شده که پس از پاسخ جنین به سرما به علت سنتز قبلی آنزیم‌های جوانه‌زنی به سرعت اتفاق می‌افتد (چراغی^۱ و همکاران، ۲۰۱۲). جیبرلین تنظیم کننده رشد خیلی مهمی است که خواب بذر را می‌شکند، جوانه‌زنی، طول میانگره، رشد هیپوکوتیل و تقسیم سلولی را تحریک و اندازه برگ‌ها را افزایش می‌دهد.

² Slater and Bryant
³ Koochaki and Azizi

¹ Cheraghi

نمی‌گیرند، نسبت به آنهايي که سرما می‌بینند سریعتر تجمع می‌نمایند. در بذرهایی که در معرض سرما قرار ساخته می‌شوند، اما در بذرهایی تحت سرما قرار گرفته نمی‌گیرند، RNA به همان سرعتی که ساخته می‌شود

جدول ۱. تجزیه واریانس تأثیر مدت زمان سرمادهی مرطوب بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر خوشاریزه در آزمایش اول.

Table 1. Analysis of variance of effect of stratification time on germination traits of *E. platyloba* seeds in the first experiment.

منبع تغییر SOV	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares					
		درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	زمان تا ۱۰ درصد جوانه‌زنی T ₁₀	زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی T ₅₀	شاخص بنیه I Vigor index I	شاخص بنیه II Vigor index II
مدت سرمادهی Stratification time	7	1175.9**	27**	1495.4**	6305.3**	51.6**	220**
خطای آزمایشی Error	16	8.1	1.2	40.2	242.3	0.6	2.2
ضریب تغییرات (درصد) cv(%)	-	8	6.2	11.36	9.8	9.1	10.9

** significant at 1% probability

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

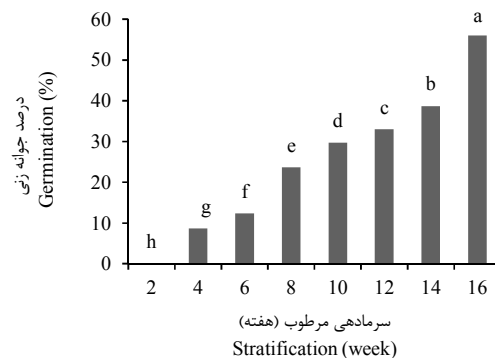
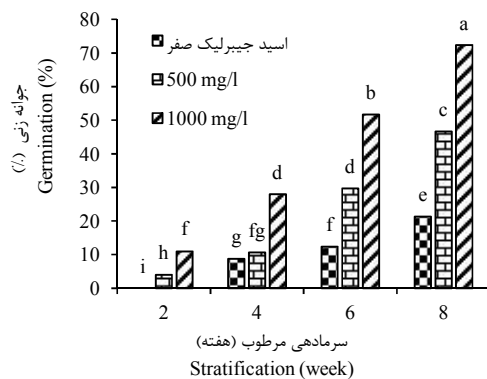
جدول ۲. تجزیه واریانس تأثیر مدت زمان سرمادهی مرطوب و جیبرلین بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر خوشاریزه در آزمایش سوم.

Table 2. Analysis of variance of effect of stratification time on germination traits of *E. platyloba* seeds in the third experiment.

منبع تغییر SOV	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares					
		درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	زمان تا ۱۰ درصد جوانه‌زنی T ₁₀	زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی T ₅₀	شاخص بنیه I Vigor index I	شاخص بنیه II Vigor index II
مدت سرمادهی Stratification time (T)	3	2992.1**	718**	335.6**	1244**	88.9**	380**
غلظت جیبرلین GA concentration (G)	2	2764.1**	653.5**	1817.4**	5805**	74.8**	478.2**
برهمکنش T×G	6	261.5**	89.7**	1843.9**	7391.6**	14.4**	61.7**
خطای آزمایشی Error	24	3.5	6.3	179.2	242.9	0.3	1.4
ضریب تغییرات (درصد) cv(%)	-	4.8	6	12.5	8.1	11.5	6.15

** significant at 1% probability

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد



شکل ۱. مقایسه میانگین تأثیر مدت زمان سرمادهی مرطوب آزمایش اول (سمت راست) و اثرات متقابل مدت زمان سرمادهی مرطوب و جیبرلین اسید آزمایش سوم (سمت چپ) بر درصد جوانه‌زنی بذر خوشاریزه. میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ هستند.

Fig. 1. Mean comparison of stratification duration effects (right side) and its interaction with gibberellic acid (left side) on germination percentage of *E. platyloba*. Common letters indicate no significant difference with LSD at 5% probability level.

جیبرلین بود و تیمار شاهد کمترین میزان بنیه I و II را به خود اختصاص داد. افزایش مدت زمان سرمادهی موجب افزایش بنیه بذر گردید. همچنین در تمامی سطوح مدت زمان سرمادهی، غلظت جیبرلین ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر بنیه بذر بیشتری را موجب شد. بررسی اثر متقابل مدت زمان سرمادهی \times غلظت جیبرلین نشان دهنده این است که سرمادهی ۸ هفته با غلظت جیبرلین ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر بالاترین بنیه بذر را موجب گردید (شکل ۳).

با افزایش مدت زمان سرمادهی شاخص بنیه I و II بذرهاي خوشاريزه افزایش یافت. در مقایسه بنیه بذر در تیمار سرمادهی مرطوب و ترکیب تیمار سرمادهی مرطوب و اسید جیبرلیک، مشخص شد که تیمار سرمادهی مرطوب ۸ هفته توأم با اسید جیبرلیک ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر موفق تر عمل کرده و بنیه بذر میزان بالاتری را به نسبت تیمار سرمادهی ۱۶ هفته به خود اختصاص داد. جیبرلیک اسید و سرمادهی مرطوب اثر هم افزایی بر بنیه بذر خوشاريزه دارد. هم چنین مشخص شد بکار بردن جیبرلیک اسید مدت زمان سرمادهی مرطوب برای شکست خواب بذر خوشاريزه را کاهش می دهد. بطوریکه بنیه بذر در ۸ هفته تیمار سرمادهی مرطوب به همراه جیبرلین میزان بالاتری به نسبت ۱۶ هفته سرمادهی مرطوب (بیشترین مدت زمان سرمادهی) بدست آمد (شکل ۳ و ۴). با توجه به رابطه مستقیم شاخص بنیه با درصد جوانه زنی، طول ریشه چه و گیاهچه، بالا بودن این شاخص در این تیمار امری بدیهی بوده و ناشی از بالابودن درصد جوانه زنی، طول ریشه چه و گیاهچه می باشد. صالحی و همکاران (۲۰۱۵) در بررسی خود نشان دادند که تیمار سرمادهی به مدت ۴ هفته به همراه شستشو و جیبرلین ۱۵۰۰ میلی گرم در لیتر روی گیاه دارویی بیلهر (کندل کوهی) *Dorema aucheri* بیشترین سرعت جوانه زنی و شاخص بنیه گیاهچه را به خود اختصاص داد.

رهنما قهفرخی و توکل افشار^۲ (۲۰۰۷) در مطالعه خود بر گیاه باریجه اظهار داشتند که ترکیب تیمار

دوباره تجزیه می گردد.

عموآقایی (۱۳۸۶) در مطالعه خود روی گونه های گیاهی تیره چتریان سرمادهی به مدت شش ماه را بهترین تیمار برای شکستن خواب بذرهاي این تیره تشخیص داد. باسکین و همکاران، (۱۹۹۵) در گزارش های متعددی بیان نمودند که انواع گونه های *Osmorhiza* و *Erythronium* از تیره چتریان دارای درجاتی از خواب فیزیولوژیکی می باشند که با اعمال دوره های سرمادهی مناسب شکسته می شوند.

شریفی و پوراسماعیل^۱ (۲۰۰۶)، دریافتند که در زیره سیاه ایرانی سرمادهی در ۴ درجه سانتی گراد به خوبی موجب شکست خواب و افزایش جوانه زنی بذرهاي این گیاه شده و افزایش طول دوره سرمادهی باعث افزایش درصد جوانه زنی آن می شود. هم سو با این نتایج آقا بابانژاد (۲۰۱۶) گزارش داد سرمادهی بذر لاله واژگون در دمای ۵ درجه سانتی گراد بیشترین درصد جوانه زنی را به خود اختصاص داد.

شاخص بنیه I و II

در آزمایش اول میزان شاخص بنیه I تحت تأثیر مدت زمان سرمادهی قرار گرفت (جدول ۱). با افزایش مدت زمان سرمادهی شاخص بنیه I بذر خوشاريزه افزایش یافت، بطوریکه بالاترین میزان برابر با ۱۲/۹۱ در ۱۶ هفته و کمترین آن در ۴ هفته سرمادهی ۰/۹۶ بدست آمد (شکل ۳). با افزایش مدت زمان سرمادهی مرطوب از ۱۴ به ۱۶ هفته، بنیه بذر I به میزان ۲ برابر افزایش یافت که می تواند متأثر از درصد جوانه زنی بالاتر و نیز طول گیاهچه بیشتر باشد. روند مشابهی نیز برای شاخص بنیه II مشاهده شد (شکل ۴).

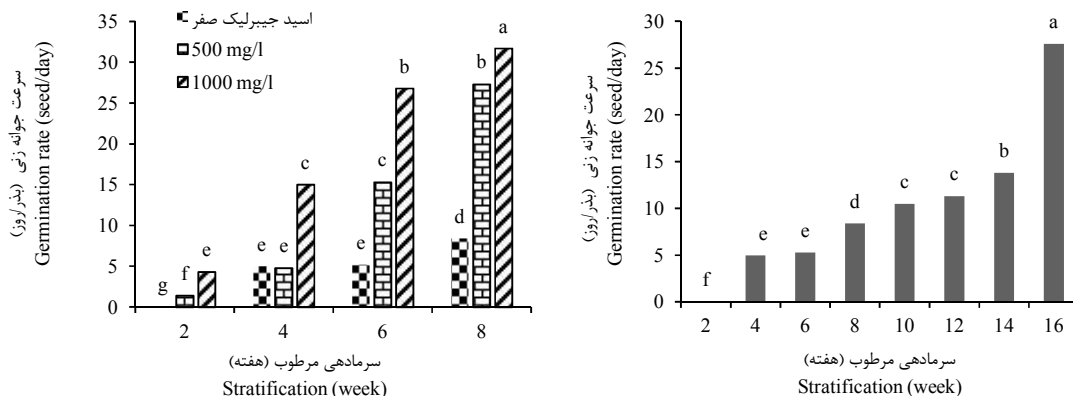
در آزمایش دوم نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد، تأثیر تیمارهای مورد بررسی بر شاخص بنیه بذر I و II در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۲). براساس مقایسه میانگین داده ها بیشترین شاخص بنیه بذر I و II مربوط به تیمار ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر

² Rahnama-Ghahfarokhi and Tavakol-afshari

¹ Sharifi and Pouresmael

مانند طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، سرعت جوانه‌زنی،

سرمادهی مرطوب و اسید جیبرلیک بیشترین درصد جوانه‌زنی را به خود اختصاص داده است و صفات دیگر



شکل ۲. مقایسه میانگین تأثیر مدت زمان سرمادهی مرطوب آمایش اول (سمت راست) و اثر متقابل مدت زمان سرمادهی مرطوب و جیبرلیک اسید آمایش سوم (سمت چپ) بر سرعت جوانه‌زنی بذر خوشاریزه. میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ هستند.

Fig. 2. Mean comparison of stratification duration effects (right side) and its interaction with gibberellic acid (left side) on germination rate of *E. platyloba*. Common letters indicate no significant difference with LSD at 5% probability level.

خود روی بذر کما (*Ferula ovinia*) اظهار داشت که ترکیب تیمار سرمادهی مرطوب و اسید جیبرلیک بیشترین درصد جوانه‌زنی را به خود اختصاص داده است و صفات دیگر مانند میانگین مدت جوانه‌زنی و زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی را کاهش داد. همسو با این نتایج کوینچو (۲۰۰۵) در بذر شاتوت بیان داشت با ترکیب تیمار سرمادهی مرطوب و اسید جیبرلیک زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی کاهش پیدا می‌کند.

نتیجه‌گیری

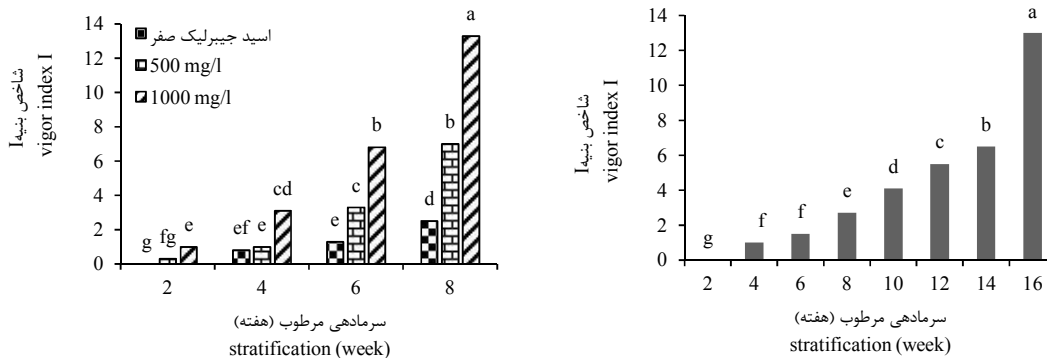
نتایج نشان داد بذرهای مورد استفاده در این تحقیق با توجه به شرایط آب و هوایی و زیستگاهی که در آن رشد می‌کند، نوعی خواب فیزیولوژیکی از خود نشان می‌دهند که سرمادهی مرطوب در زمان‌های مختلف می‌تواند زمینه را برای شروع جوانه‌زنی فراهم و تا حد زیادی به رفع خواب کمک نماید. معمولاً شرایط محیطی مختلف نقش مهمی در تنظیم خواب بذرهای بازی می‌کنند. سرمادهی مرطوب شبیه‌سازی شرایط رویشگاه‌های طبیعی می‌باشد.

میانگین مدت جوانه‌زنی و شاخص بنیه را نیز تحت تأثیر قرار داد.

زمان تا ۱۰ درصد (t_{10}) و ۵۰ درصد جوانه‌زنی (t_{50})

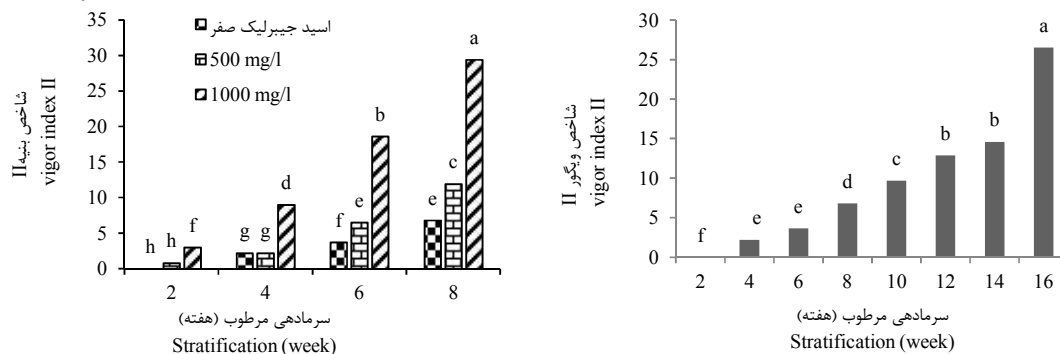
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر مدت زمان سرمادهی بر میزان t_{50} و t_{10} در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی تیمارهای مختلف سرمادهی نشان داد که به موازات افزایش مدت زمان سرمادهی، مقدار این دو صفت روند کاهشی داشت (شکل ۵ و ۶).

اثر مدت زمان سرمادهی، غلظت جیبرلین و اثر متقابل مدت زمان سرمادهی × غلظت جیبرلین بر زمان رسیدن به ۱۰ درصد جوانه‌زنی و زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). افزایش مدت زمان سرمادهی تا ۸ هفته موجب کمترین زمان رسیدن به ۱۰ و ۵۰ درصد جوانه‌زنی گردید. همچنین در تمامی سطوح مدت زمان سرمادهی غلظت جیبرلین ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر کمترین زمان رسیدن به ۱۰ و ۵۰ درصد جوانه‌زنی را موجب شد (شکل ۵ و ۶). عمواقایی (۲۰۰۷) در مطالعه



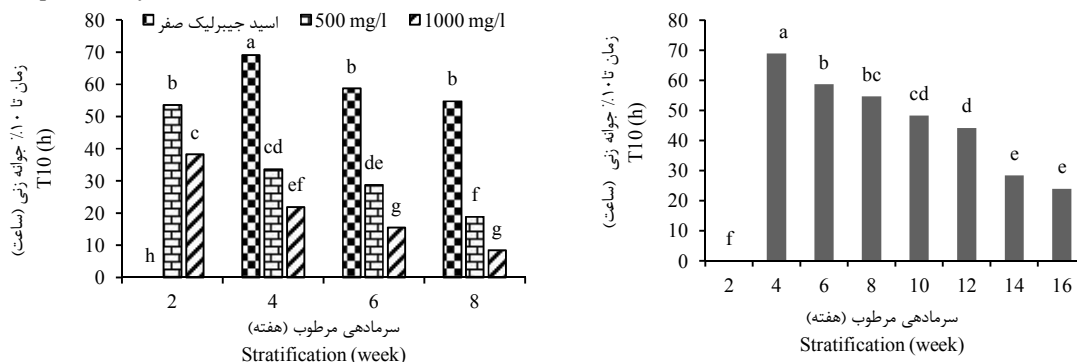
شکل ۳. مقایسه میانگین تأثیر مدت زمان سرمادهی مرطوب آزمایش اول (سمت راست) و اثرات متقابل مدت زمان سرمادهی مرطوب و اسید جیبرلیک آزمایش سوم (سمت چپ) بر شاخص بنیه I بذر خوشاريزه. میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ هستند.

Fig. 3. Mean comparison of stratification duration effects (right side) and its interaction with gibberellic acid (left side) on vigor index I of *E. platyloba*. Common letters indicate no significant difference with LSD at 5% probability level.



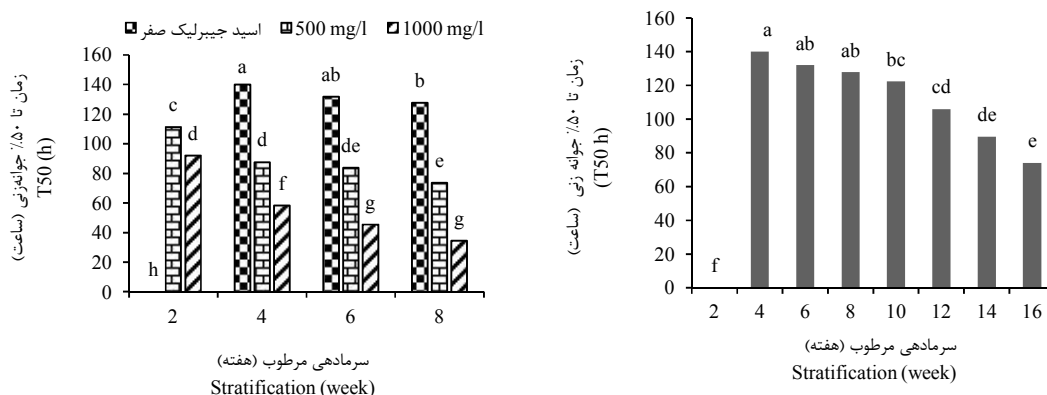
شکل ۴. مقایسه میانگین تأثیر مدت زمان سرمادهی مرطوب آزمایش اول (سمت راست) و اثرات متقابل مدت زمان سرمادهی مرطوب و اسید جیبرلیک آزمایش سوم (سمت چپ) بر شاخص بنیه II بذر خوشاريزه. میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ هستند.

Fig. 4. Mean comparison of stratification duration effects (right side) and its interaction with gibberellic acid (left side) on vigor index II of *E. platyloba*. Common letters indicate no significant difference with LSD at 5% probability level.



شکل ۵. مقایسه میانگین تأثیر مدت زمان سرمادهی مرطوب آزمایش اول (سمت راست) و اثرات متقابل مدت زمان سرمادهی مرطوب و اسید جیبرلیک آزمایش سوم (سمت چپ) بر زمان رسیدن به ۱۰ درصد جوانه زنی (t_{10}) بذر خوشاريزه. میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ هستند.

Fig. 5. Mean comparison of stratification duration effects (right side) and its interaction with gibberellic acid (left side) on time up to 10% germination (T_{10}) of *E. platyloba*. Common letters indicate no significant difference with LSD at 5% probability level.



شکل ۶. مقایسه میانگین تأثیر مدت زمان سرمادهی مرطوب آزمایش اول (سمت راست) و اثرات متقابل مدت زمان سرمادهی مرطوب و اسید جیبرلیک آزمایش سوم (سمت چپ) بر زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه زنی (T_{50}) بذر خوشاریزه. میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ هستند.

Fig. 6. Mean comparison of stratification duration effects (right side) and its interaction with gibberellic acid (left side) on time up to 50% germination (T_{50}) of *E. platyloba*. Common letters indicate no significant difference with LSD at 5% probability level.

زمستان سردی را در استان چهار محال بختیاری سپری می‌کند، به نظر می‌رسد که بذور خوشاریزه احتمالاً دارای خواب از نوع فیزیولوژیکی بوده و مربوط به جنین بذر است که با سرمادهی و هورمون شکسته می‌شود. نتایج پژوهش نشان داد یکی از علل خواب بذر خوشاریزه، عدم تناسب هورمونی در بذر است که کاربرد سرما یا جیبرلین خارجی این تعادل را به سمت افزایش جیبرلیک‌اسید و آمادگی برای جوانه‌زنی سوق می‌دهد. هم‌چنین مشاهده شد که جیبرلیک‌اسید و سرمادهی مرطوب اثر هم‌افزایی بر شکست خواب بذر خوشاریزه دارند.

بر اساس نتایج این آزمایش سرمادهی مرطوب عاملی ضروری برای شکستن خواب بذر خوشاریزه می‌باشد. هم‌چنین تیمارهای هورمون جیبرلین توأم با سرمادهی مرطوب به کار رفته در این آزمایش اثر مثبتی بر شکستن خواب داشتند. تیمارهای هورمونی موجب تسریع شکست خواب و بهبود خصوصیات جوانه‌زنی بذرهای این گیاه شدند. تیمار ۸ هفته سرمادهی مرطوب در دمای ۵ تا ۴ درجه سانتی‌گراد توأم با ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک‌اسید بهترین تیمار برای شکستن خواب بذر خوشاریزه بود و بالاترین درصد جوانه‌زنی به میزان ۷۵ درصد را سبب شد. با توجه به اینکه گیاه خوشاریزه در مناطق معتدله و سرد می‌روید و

منابع

- Aghababanejad, Z. Abbasi Surki, A., and Tahmasebi, P. 2018. Studying interaction of Moist-Chilling and gibberellic acid on germination of *Fritillaria imperialis*. Iranian Journal of Seed Science and Technology, 6: 257-266 [In Persian with English Summary].
- Aghababanejad, Z. Tahmasebi, P., and Abbasi Surki, A. 2016. Effect of osmopriming on seed dormancy break and germination parameters of *Fritillaria imperialis* seed. Iranian Journal of Horticulture Science and Technology, 17: 65-76 [In Persian with English Summary].
- Amooghaie, R. 2007. The Effect of Moist-Chilling and GA3 on seed dormancy breaking of *Ferula ovina* Boiss. Journal of Crop Production and Processing, 11(40): 471-481 [In Persian with English Summary].

- Bahadory, F., and Javanbakht, A. 2006. Effect of pre-treatments on seed germination and seedling growth of *Bunium persicum* in Semnan. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 14: 163-169 [In Persian with English Summary].
- Baskin, C.C., Meyer, E., and Baskin, J.M. 1995. Two type of morpho-physiological dormancy in seeds of two genera (*Osmorhiza* and *Erythronium*) with an Arcto- Tertiary distribution pattern. American Journal of Botany, 82: 293-298. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1995.tb12633.x>
- Bridg, H. 2000. Micro propagation and determination of the in vitro stability of *Annona cherimola* Mill and *Annona muricata* L. Humboldt Universitat zu Berlin. 120 p.
- Cheraghi, F. Mahmoodi, S. Jami Alahmadi, M., and Parsa, S. 2012. Seed germination and growth improvement in *Heracleum persicum* Desf. by osmo-primming. Journal of Herbal Drugs, 2: 229-238 [In Persian with English Summary].
- Delaram, M., and Sadeghiyan Z. 2010. The effects of *Echinophora platyloba* on primary of dysmenorrhea. Arak Medical University Journal 13: 61-67 [In Persian with English Summary].
- Dhoran V.S., and Gudadhe, S.P. 2012. Effect of plant growth regulators on seed germination and seedling vigour in *Asparagus sprengeri* Regelin. International Research Journal of Biological Sciences, 1(7):6-10.
- Ebrahimi R., Hassandokht, M., Zamani, Z. Kashi, A., Roldan-Ruiz, I. and Bockstaele, E.V. 2014. Seed morphogenesis and effect of pretreatments on seed germination of Persian Shallot (*Allium hirtifolium* Boiss.), an endangered medicinal plant. Horticulture and Environment Biotechnology, 55(1): 19-26. <https://doi.org/10.1007/s13580-014-0032-7>
- ISTA (International Seed Testing Association). 2009. International Rules for Seed Testing. International seed Testing Association. Bassersdorf. Switzerland.
- Joosen, R.V., Kodde, J., Willems, L.A., Ligterink, W., Van der Plas, L. H., and Hilhorst, H.W. 2010. GERMINATOR: a software package for high-throughput scoring and curve fitting of Arabidopsis seed germination. The Plant Journal, 62(1): 148-159. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2009.04116.x>
- Kalsa, K.K., and Abebie, B. 2012. Influence of seed priming on seed germination and vigor traits of *Vicia villosa* ssp. *dasycarpa* (Ten.). African Journal of Agricultural Research, 7(21): 3202-3208.
- Karsen, C.M., and Lacka, E. 1986. A revision of the hormone balance theory of seed dormancy. Studies on gibberellin and/or abscisic acid deficient mutants of *Arabidopsis thaliana*. 315-323 in plant growth substances 1985. Berlin, Springer-verlag.
- Keshtkar, H.R. Azarnivand, H. Etemad, V., and Moosavi, S.S. 2008. Seed dormancy-breaking and germination requirements of *Ferula ovina* and *Ferula gummosa*. Desert, 13: 45-51.
- Khoocheki, A., and Azizi, G. 2005. Effect of different treatments on breaking dormancy of *Teucrium polium*. Iranian Field crop Research, 3(1): 81-88.[In Persian with English Summary].
- Koyuncu, F. 2005. Breaking dormancy in black mulberry (*Morus nigra* L.) by cold stratification and exogenous application of Gibberellic Acid. Acta Biologica Cracoviensia Botanica, 47(2): 23-26.
- Mancuso, E., Bedini, G., and Peruzzi, L. 2012. Morphology, germination, and storage behavior in seeds of Tuscan populations of *Fritillaria montana* (Liliaceae), a rare perennial geophyte in Italy. Turkish Journal of Botany, 36: 161-166.
- Mozaffarian V. 1996. A dictionary of Iranian plant names: Latin, English, Persian. Farhang Mo'aser Press. 764 p. [In Persian].
- Nadjafi, F., Bannayan, M., Tabrizi, L., and Rastgoo, M. 2006. Seed germination and dormancy breaking techniques for *Ferula gommosa* and *Teucrium polium*. Journal of Arid Environment, 64(3): 542-547. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2005.06.009>

- Nikolaeva, M.G. 1999. Patterns of seed dormancy and germination as related to plant phylogeny and ecological and geographical condition of their habitats. *Russian Journal of Plant Physiology*, 46: 432-437.
- Rahnama-Ghahfarokhi, A., and Tavakol-afshari, R. 2007. Methods for dormancy breaking and germination of Galbanum seeds (*Ferula gummosa*). *Asian Journal Plant Science*, 6(4): 611-616. <https://doi.org/10.3923/ajps.2007.611.616>
- Razavi, S.M. and Hajiboland, R. 2009. Dormancy breaking and germination of *Prangos ferulaceae* seeds. *Eurasian Journal of Bioscience*, 3:78-83. <https://doi.org/10.5053/ejobios.2009.3.0.11>
- Rood, S.B. Buzzel, R.I.L. Major, D.J. and Pharis, R.P. 1990. Gibberellins and heterosis in maize: quantitative relationship. *Crop Sciences*, 30(2): 281-286. <https://doi.org/10.2135/cropsci1990.0011183X003000020008x>
- Rouhi, H.R., K. Shakarami, and R. Tavakkol Afshari. 2010. Seed treatments to overcome dormancy of waterlily tulip (*Tulipa kaufmanniana* Regel.). *Australian Journal of Crop Science*, 4(9): 718-721.
- Salehi, A., Masoumi Asl, A., and Moradi, A. 2015. Evaluation of the effective methods of seed dormancy breaking in medicinal plant of Bilhar (*Dorema aucheri*). *Iranian Journal of Seed Research*, 2: 66-72 [In Persian with English Summary].
- Sharifi, M., and Pouresmael, M. 2006. Breaking in seed dormancy in *Bunium persicum* by stratification and chemical substances. *Asian Journal of Plant Science*, 5(4): 695-699. <https://doi.org/10.3923/ajps.2006.695.699>
- 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: 141-149. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a086351>
- Walk J.L., and Hidayati, S.N. 2004. Germination and ecophysiology of the western North American species *Osmorhiza depauperata* (Apiaceae) implication of predation and phylogenetic niche conservatism in seed dormancy evolution. *Seed Science Research*, 14(4): 387-394. <https://doi.org/10.1079/SSR2004184>
- Ya-jing, G. Jin H. Xian-ju, W., and Chen-xia, S. 2009. Seed priming with chitosan improves maize germination and seedling growth in relation to physiological changes under low temperature stress. *Journal of Zhejiang University Science B*, 10(6): 427-433. <https://doi.org/10.1631/jzus.B0820373>
- Zaman, S. 2013. Medicinal Plant. Ghoghhus Press. 368 p. [In Persian].

Effect of Stratification and Its Combination with Gibberellic Acid on Seed Dormancy Breaking of *Echinophora platyloba*

Ali Abbasi Surki^{1,*}, Zahra Hosseini², Sina Fallah¹

Extended Abstract

Introduction: Seeds are a good option when it comes to propagation and protection programs of medicinal plants. Although seed dormancy is an adaptive strategy for wild medicinal plants, it is considered as an undesirable trait in their domestication and cultivation, representing a problem to be solved. *Echinophora platyloba* seeds have dormancy despite their remarkable medicinal properties.

Materials and Methods: In order to break seed dormancy, three separate experiments, namely stratification, hormonal treatment and their combination were conducted. For stratification, 10 samples were placed in a wet bed at 5 °C for 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 and 16 weeks and were compared, using a completely randomized design with three replications. For hormonal treatment, the seeds were placed in GA concentrations of 0, 500 and 1000 ppm for 24 hours and were then transferred to germination conditions. However, since the dormancy breaking did not occur, this experiment was not pursued any more. For combined application of hormone and stratification, seeds were placed at above-mentioned concentrations of gibberellin for 24 hours at 20 °C and then gibberellin solutions were removed and the seeds were transmitted to 5 °C and were compared for 2, 4, 6, 8 weeks with a CRD factorial experiment with three replications. The first factor was concentration of gibberellin in three levels and the second factor was the duration of stratification in 4 levels.

Results: Stratification had a positive effect on seed dormancy break and 16-week chilling led to highest germination percentage and rate and vigor indices. The combined application of hormonal treatments accelerated dormancy release and improved seed germination characteristics, which peaked in 8 weeks. 8-week stratification treatment at 5 °C with 1000 ppm gibberellic acid was the best treatment for overcoming dormancy in *Echinophora-platyloba* seeds.

Conclusion: It seems that seed dormancy of *Echinophora* seeds is physiological, which successfully broke by moist chilling and simultaneous application of stratification and gibberellin. Although Gibberellin had no effect on dormancy break, it reduced the need for stratification. Their combined application showed synergistic effects on dormancy release.

Keywords: GA₃, Germination, Stratification, Hormone, Seed vigor

Highlights:

1. *Echinophora* seeds' dormancy was broken under stratification conditions, but GA by itself had no effect on them.
2. The application of gibberellin reduced the chilling demands of *Echinophora* seeds and their combined application had a synergistic effect on dormancy break.

¹ Assistant Professor and Professor Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

² M.Sc. Student of seed Science and Technology, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

DOR: 98.1000/2383-1251.1397.5.
91.10.2.1575.41

DOI: 10.29252/yujs.5.2.91

*Corresponding author, E-mail address: aabasi59@yahoo.com

(Received: 16.06.2018; Accepted: 30.11.2018)



CrossMark