پژوهش‌های بذر ایران/ سال نهم/ شماره اول/ ۱۴۰۱/ صفحات: ۱۴۶-۱۲۷

مقاله پژوهشی

پاسخ خفتگی و جوانه‌زنی بذر باریجه (*Ferula gummosa*) تحت پیش‌تیمارهای مختلف هورمونی و سرمادهی مرطوب

محسن ملک [۱]، فرشید حسنی [۲،*]، عنایت رضوانی خورشیدی [۲]، علی شایانفر [۲]، بیتا اسکویی [۲]، عباس دهشیری [۲]

چکیده مبسوط

مقدمه: باریجه یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی بومی ایران است که استفاده از فراورده‌ها و مشتقات آن در صنایع مختلف رواج فراوان یافته است. به همین دلیل برداشت بی‌رویه این‌گونه گیاهی از رویشگاه‌های طبیعی گسترش یافته و باعث شده در فهرست گونه‌های گیاهی درخطر انقراض قرار بگیرد. عدم وجود اطلاعات کافی در خصوص رفتار جوانه‌زنی و روش‌های شکست خفتگی بذرهای باریجه سبب شده است محققان علوم بذر توجه کمتری به این‌گونه گیاهی داشته باشند. ازاین‌رو، این مطالعه به‌منظور بررسی تأثیر تیمارهای مختلف بر رفع خفتگی بذرهای باریجه طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه از بذرهای دو جمعیت باریجه جمع‌آوری‌شده از مراتع شهرستان بویراحمد و همچنین بذرهای تهیه‌شده از شرکت پاکان بذر اصفهان استفاده شد. بذرهای باریجه به مدت ۱۲۰ روز در معرض تیمار سرمادهی مرطوب و قابلیت جوانه‌زنی و رفع خفتگی بذرها مطالعه شد. همچنین به‌منظور ارزیابی جنبه کاربردی این تیمار تأثیر خشک‌کردن بذرها بر قابلیت جوانه‌زنی، پس از دریافت تیمار سرمادهی نیز مورد مطالعه قرار گرفت. در این مطالعه تأثیر پیش تیمارهای مختلف هورمونی شامل اسید جیبرلیک و سیتوکینین‌ها (کینیتین و ۶-بنزیل آمینوپورین) در غلظت‌های مختلف بر رفتار جوانه‌زنی و خفتگی بذرها بررسی‌شد و تأثیر این تیمارها در توانایی رفع خفتگی بذرها مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد رفتار جوانه‌زنی و خفتگی بذرهای دو جمعیت باهم متفاوت بوده و تأثیر تیمارهای مختلف بر قابلیت جوانه‌زنی بذرها نیز متفاوت بود. در هردو جمعیت سرمادهی بذرها تا ۶۰ روز موجب افزایش قابلیت جوانه‌زنی و پس از آن با افزایش دوره سرمادهی جوانه‌زنی بذرها کاهش یافت. همچنین مشخص شد خشک‌کردن بذرها پس از سرمادهی موجب کاهش جوانه‌زنی بذرها می‌گردد. با بررسی علت این موضوع مشخص شد، مهم‌ترین دلیل کاهش قابلیت جوانه‌زنی بذرها در دوره‌های بلندمدت سرمادهی جوانه‌زدن بذرها در بستر سرمادهی و به عبارتی تفاوت در سطوح خفتگی بذرها در دوره‌های مختلف سرمادهی مرطوب بود. غلظت‌های مختلف اسید جیبرلیک و سیتوکینین‌ها نیز به‌طور معنی‌داری موجب بهبود رفتار جوانه‌زنی بذرها و رفع خفتگی در هر دو جمعیت باریجه شد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه بیانگر وجود سطوح متفاوت از خفتگی بذر در جمعیت‌های مختلف باریجه بود. همچنین مشخص شد تیمار سرمادهی و پیش‌تیمار بذرها با استفاده از اسید جیبرلیک و پیش تیمارهای هورمونی به‌ویژه سیتوکینین‌ها می‌تواند به‌طور قابل‌توجهی در رفع خفتگی بذرها مؤثر واقع شود. همچنین با توجه به تأثیر تیمارهای مختلف نتیجه‌گیری شد که خفتگی در بذرهای باریجه از نوع خفتگی مورفوفیزیولوژیک نیمه‌عمیق و عمیق می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: کینیتین، ۶-بنزیل آمینوپورین، پسابیدگی، گیاهان دارویی

جنبه‌های نوآوری:

۱- تأثیر تیمار سرمادهی در دوره‌های بلندمدت بر قابلیت جوانه‌زنی بذرهای باریجه برای اولین بار بررسی شد.

۲- تأثیر پسابش حاصل از خشک کردن بذرهای تیمارشده تحت دوره‌های مختلف سرمادهی بر قابلیت جوانه‌زنی بذرهای باریجه برای اولین بار مورد ارزیابی قرار گرفت.

۳- شاخص AUC (ناحیه زیر منحنی) به‌عنوان یک شاخص کاربردی در مقایسه رفع خفتگی بذرها برای اولین بار در مطالعات داخلی معرفی شد.

[۱] کارشناسی ارشد علوم و تکنولوژی بذر، مشمول نخبه، موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج

[۲] استادیار موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج

[*] رایانامه نویسنده مسئول: F.hassani@areo.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۰۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۳۰)

http://dorl.net/dor/20.1001.1.23831251.1401.9.1.7.8

DOI: 10.52547/yujs.9.1.127

مقدمه

استفاده از گیاهان دارویی به اشکال مختلف، از دیرباز تاکنون هرروزه در حال گسترش بوده و ظهور رویکردهای جدید اقتصادی، درمانی و صنعتی از گیاهان دارویی در ابعاد جهانی باعث توجه هرچه بیشتر به این گیاهان شده است. به‌طوری‌که امروزه صنایع وابسته به این حوزه در حال افزایش چشم‌گیری هستند. هرچند این موضوع گسترش سطح سلامت، بهداشت و اقتصاد جامعه را به دنبال دارد، اما از طرفی برداشت بی‌رویه گیاهان دارویی از عرصه‌های منابع طبیعی باعث شده است گونه‌های زیادی در معرض تهدید، تخریب و انقراض قرار بگیرند. ازاین‌رو احیاء، توسعه و به‌کارگیری اصولی از گیاهان دارویی و همچنین تلاش برای اهلی و زراعی‌سازی این گونه‌ها اهمیت دوچندان پیداکرده است.

باریجه[1] (*Ferula gummosa* Bioss) یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی خانواده چتریان (Apiaceae) است. این گیاه که یکی از مهم‌ترین گیاهان بومی ایران نیز به شمار می‌رود که دارای طیف کاربرد وسیعی در صنایع مختلف می‌باشد. همچنین صادرات فراورده‌های آن؛ موجب توجه ویژه به این گیاه از بعد اقتصادی شده است. (مظفریان[2]، ۲۰۰۴؛ کشتکار[3] و همکاران، ۲۰۰۸؛ باقری[4] و همکاران، ۲۰۱۷). از این‌رو برداشت بی‌رویه از مراتع طبیعی تا حدی رواج یافته است که موجب قرارگیری این گونه گیاهی در معرض خطر انقراض شده است (رستمی و توکل افشاری[5]، ۲۰۱۴).

جوانه‌زنی را می‌توان اولین و مهم‌ترین مرحله در رشد و نمو جوامع گیاهان گل‌دار دانست. جوانه‌زنی یک فرآیند فیزیولوژیک پیچیده است که تحت تأثیر عوامل ژنتیکی و محیطی قرار می‌گیرد (سلطانی[6] و همکاران، ۲۰۱۶). عوامل محیطی تنظیم‌کننده جوانه‌زنی برای بذرهای بدون خفتگی، شامل دما، آب و اکسیژن می‌باشند و برای بذرهای دارای خفتگی علاوه بر این عوامل به نور و محیط‌های حاوی مواد شیمیایی نیز نیاز می‌باشد (باسکین و باسکین[7]، ۲۰۱۴). خفتگی بذر[8] یکی از ویژگی‌های بذر برخی گونه‌های گیاهی بخصوص گیاهان خودرو و مرتعی می‌باشد. خفتگی بذر به حالتی اطلاق می‌شود که بذرها باوجود مهیا بودن تمام شرایط برای جوانه‌زنی؛ ازجمله رطوبت، نور، دما و اکسیژن جوانه نمی‌زنند (شایانفر[9] و همکاران، ۲۰۱۸). مشابه بسیاری از موجودات زنده، خفتگی و پاسخ به تنش‌ها در بذرها به‌شدت به همدیگر وابسته‌اند. ممکن است خفتگی از جوانه‌زنی بذر در شرایط مطلوب جلوگیری کند، چون این شرایط مطلوب کوتاه‌مدت بوده و احتمال دارد تا زمان استقرار موفق گیاهچه دوام نداشته باشد (بیولی[10] و همکاران، ۲۰۰۶). در مقابل، در بوم‌نظام‌های زراعی خفتگی بذر پدیده‌ای نامطلوب به شمار می‌رود، چراکه موجب کاهش سبز شدن و درنهایت کاهش بهره‌وری محصول می‌گردد. بذرها دارای انواع مختلفی از خفتگی هستند و محققان تقسیم‌بندی‌های گوناگونی برای تفکیک انواع آن ارائه داده‌اند (باسکین و باسکین، ۲۰۰۴). شناخت خفتگی و سازوکارهای دخیل در آن‌که در نهایت منجر به ارائه روشی به‌منظور کنترل و رفع آن و القای توانایی جوانه‌زنی به بذرها می‌شود. همچنین رفع مشکلات جوانه‌زنی و سبز شدن بذرها بدون شک اولین و مهم‌ترین گام در مبحث اهلی و زراعی‌سازی گیاهان خودرو، مرتعی و دارویی هستند (فینچ-سواج و لوبنر-متزگر[11]، ۲۰۰۶).

تاکنون راه‌های مختلفی برای کاشت و بهره‌برداری از گیاهان دارویی ازجمله باریجه مورد ارزیابی محققان قرارگرفته است. اما تنها راه طبیعی و کاربردی ازدیاد این‌گونه گیاهی باریجه از طریق کاشت مستقیم بذر بوده و ازآنجاکه بذرهای باریجه در زمان رسیدگی و پراکنش دارای خفتگی هستند، تکثیر و پرورش این گیاه را با مشکل روبه‌رو می‌کند (سالار[12] و همکاران، ۲۰۰۲). بذرهای این گونه‌ها بطور عمده درجات و انواع مختلفی از خفتگی را نشان می‌دهند که ازجمله بارزترین آن‌ها

[1] Galbanum
[2] Mozaffarian
[3] Keshtkar
[4] Bagheri
[5] Rostami and Tavakkol-Afshari
[6] Soltani
[7] Baskin and Baskin
[8] Seed dormancy
[9] Shayanfar
[10] Bewley
[11] Finch-Savage and Leubner-Metzger
[12] Salar

خفتگی فیزیولوژیک، مورفولوژیک و مورفوفیزیولوژیک می‌باشند (شریفی[1] و همکاران، ۲۰۰۶؛ زرداری[2] و همکاران، ۲۰۱۹).

در رابطه با کمون بذرهای باریجه مطالعاتی صورت‌گرفته‌است. محققان درخصوص نوع کمون بذرهای باریجه اتفاق نظر نداشته اما تیمار سرمادهی مرطوب را به عنوان مؤثرترین تیمار در رفع کمون بذرها معرفی کرده‌اند. همچنین کاربرد تیمارهایی همچون تیمارهای هورمونی به‌خصوص کاربرد اسید جیبرلیک و تیمارهای خراش‌دهی فیزیکی و شیمیایی نیز بر رفع کمون بذرهای باریجه انجام شده است (رستمی و توکل افشاری، ۲۰۱۴؛ لبافی[3] و همکاران، ۲۰۱۸؛ زرداری و همکاران، ۲۰۱۹). لازم به‌ذکر است در این مطالعه سعی شده است طراحی آزمون‌ها و اعمال تیمارها متمایز از تحقیقات انجام شده باشد و از طرفی به جمع‌بندی نتایج پرداخته شود.

با وجود نیاز به دانش و آگاهی در خصوص کشت و زراعی‌سازی این‌گونه گیاهی ارزشمند، مطالعات اندکی بخصوص در ارتباط با خفتگی و جوانه‌زنی بذر این‌گونه انجام‌گرفته است که مهم‌ترین دلیل آن، نبود اطلاعات کافی در خصوص رفتار جوانه‌زنی و خفتگی بذر می‌باشد. ازآنجاکه مطالعات مربوط به جوانه‌زنی و خفتگی بذرها از مهم‌ترین ابزار کلیدی برنامه‌های حفاظتی و مدیریتی گونه‌های گیاهی هستند، در این مطالعه به‌منظور شناخت ویژگی‌های جوانه‌زنی، به بررسی تیمارهای مختلف شکست خفتگی بذرهای باریجه به روش‌های مختلفی ازجمله سرمادهی مرطوب و پیش تیمارهای مختلف هورمونی پرداخته و همچنین سعی گردید با استفاده از طراحی کاربردی در روند انجام آزمون‌ها و آنالیز داده‌ها، با سایر مطالعات انجام‌شده متمایز باشد تا بتواند تا حدودی راه‌گشای ارائه ایده‌های نوین در مطالعات این حوزه شود.

[1] Sharifi
[2] Zardari
[3] Labbafi-Hoseinabadi

مواد و روش‌ها

این مطالعه در سال ۱۳۹۹ در آزمایشگاه تحقیقات و فناوری بذر، موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال کرج انجام شد. بذرهای استفاده شده در این مطالعه شامل دو جمعیت بذری باریجه بود. جمعیت اول در اواخر خردادماه سال ۱۳۹۹ از ارتفاعات شهرستان یاسوج واقع در استان کهگیلویه و بویر احمد (°N ۳۰ و °E ۵۱ و ارتفاع ۲۸۰۰ متر بالاتر از سطح دریا) جمع‌آوری شد. جمعیت دوم نیز از ارتفاعات استان سمنان (°N ۳۵ و °E ۵۳ و ارتفاع ۱۱۳۰ متر بالاتر از سطح دریا) توسط شرکت پاکان بذر اصفهان جمع‌آوری شدند. بذرهای هوا خشک‌شده با رطوبت ۷-۸ درصد (بر مبنای وزن خشک) درکیسه‌های پلاستیکی نفوذناپذیر و مهروموم‌شده به آزمایشگاه منتقل و در یخچال با دمای ۱ ±۷ درجه سلسیوس تا زمان شروع آزمایش نگه‌داری شدند. لازم به ذکر است بذرهای جمع آوری شده با حد اقل رطوبت ممکن و قبل از ریزش از روی بوته جمع آوری شدند؛ اما به دلیل وجود خاصیت هیگروسکوپی در بذرها که موجب جذب رطوبت از محیط می‌شوند، برای اطمینان از یکسان بودن رطوبت در تمام محموله‌های بذری عمل هوا خشک شدن (به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق) انجام شد. همچنین به‌منظور دقت هرچه بیشتر در نتایج سعی شد آزمون‌ها با کمترین فاصله زمانی ممکن انجام گردد. در این مطالعه به بررسی اثرات دوره‌های مختلف سرمادهی مرطوب و همچنین پیش‌تیمارهای مختلف هورمونی بر جوانه‌زنی و رفع خفتگی بذرهای باریجه به شرح زیر پرداخته شد.

آزمون سرمادهی مرطوب[4]

بلافاصله پس از جمع‌آوری و تهیه بذرها، بذرهای دو جمعیت باریجه بین دولایه حوله کاغذی در جعبه‌های پلاستیکی دربسته و نفوذناپذیر در دمای ۵ درجه سلسیوس و شرایط تاریکی و در حضور آب مقطر به ترتیب به مدت (۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰، و ۱۲۰ روز) سرمادهی شدند. به منظور جذب آب به اندازه کافی در بذرها ابتدا به مقدار ۵ میلی‌لیتر به ازای هر گرم بذر آب مقطر به محیط سرمادهی اضافه شد (با رعایت عدم

[4] Cold stratification

ایجاد شرایط غرقاب) و پس از گذشت ۲۴ ساعت که بذرها به‌طور کامل عمل جذب آب را انجام دادند، آب اضافی از محیط خارج شد. نمونه‌برداری از بستر سرمادهی در فواصل ذکرشده انجام و بذرها تحت آزمون جوانه‌زنی قرار گرفتند. به‌منظور انجام آزمون جوانه‌زنی ابتدا بذرها با استفاده از محلول یک درصد هیپوکلریت سدیم به مدت ۵ دقیقه ضدعفونی شدند. سپس بذرها در سه تکرار ۲۵ بذری درون پتری‌های پلاستیکی به قطر ۹ سانتی‌متر و روی یک‌لایه کاغذ صافی مرطوب شده با ۷ میلی‌لیتر آب مقطر قرار گرفتند. آزمون جوانه‌زنی در دمای ۱±۱۰ درجه سلسیوس به مدت ۷۵ روز انجام شد (زرداری، ۲۰۲۰). شمارش بذرهای جوانه‌زده در هر هفته سه نوبت انجام شد و خروج ریشه‌چه به‌اندازه حداقل ۲ میلی‌متر به‌عنوان معیار جوانه‌زنی در نظر گرفته شد.

در این بخش از مطالعه به‌منظور بررسی قابلیت جوانه‌زنی بذرهای تیمارشده در دوره‌های مختلف آزمون سرمادهی مرطوب پس از خشک شدن نیز، آزمایشی طراحی و اجرا شد. به این منظور در همان فواصل معین نمونه‌برداری (۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰، و ۱۲۰ روز) بخشی از بذرها پس از نمونه‌برداری از محیط سرمادهی روی یک‌لایه حوله کاغذی و در شرایط اتاق (دمای ۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۴۰ درصد) به مدت ۷۲ ساعت خشک شدند تا زمانی که رطوبت خود را به‌طور کامل ازدست‌داده و به رطوبت اولیه (۸-۷ درصد) رسیدند. سپس مطابق بخش قبل آزمون جوانه‌زنی برای آنها نیز انجام شد. لازم به ذکر است بذرهای تیمار شده قبل از خشک‌شدن به‌منظور حصول اطمینان از عدم رشد ریشه‌چه و جوانه‌زنی به‌طور دقیق بررسی شد.

ازآنجاکه دمای مطلوب جوانه‌زنی در بذرهای باریجه پایین بوده و به‌عبارتی دمای لازم برای سرمادهی و دمای لازم برای جوانه‌زنی تقریباً باهم برابر است (زرداری و همکاران، ۲۰۱۹)، بذرها در محیط سرمادهی پس از مدتی شروع به جوانه‌زنی می‌کنند. بنابراین برای بررسی دقیق‌تر اثر سرمادهی بر رفع خفتگی بذرها در هر مرحله از نمونه‌برداری آزمون سرمادهی مرطوب ابتدا بذرهای جوانه‌زده از بستر سرمادهی حذف‌شده و سپس نمونه‌برداری به‌طور تصادفی از بین بذرهای باقی‌مانده انجام شد. همچنین در سایر مطالعات در خصوص تیمارهای سرمادهی بذرهای باریجه به این نکته اشاره نشده و با وجود عدم رفع کامل خفتگی بذرهای باریجه در دوره‌های سرمادهی، اثرات سرمادهی طولانی در بذرهای باریجه ارائه نشده است و در این خصوص اطلاعات کافی وجود ندارد. بنابراین در این مطالعه سعی شد به بررسی تأثیر دوره‌های بلندمدت سرمادهی بر رفتار جوانه‌زنی بذرهای باریجه پرداخته شود. به این منظور بررسی روند جوانه‌زنی بذرها در محیط سرمادهی مرطوب در هر مرحله آزمونی طراحی و اجرا شد. به این منظور بذرهای هر جمعیت در چهار تکرار ۱۰۰ بذری در محیط کاملاً مشابه با محیط سرمادهی مرطوب بین دولایه حوله کاغذی در جعبه‌های پلاستیکی دربسته و نفوذناپذیر در دمای ۵ درجه سلسیوس و شرایط تاریکی و در حضور آب مقطر قرار گرفتند. و طی انجام این آزمون (۱۲۰ روز) جوانه‌زنی بذرهای جوانه‌زده به‌صورت هفتگی بررسی شد.

بررسی تأثیر پیش‌تیمارهای هورمونی بر جوانه‌زنی و رفع خفتگی

به‌منظور بررسی تأثیر پیش‌تیمارهای مختلف هورمونی بر جوانه‌زنی و رفع خفتگی بذرهای باریجه از هورمون‌های جیبرلین (GA_3) و سیتوکینین‌های مختلف (Kinetin, 6- Benzylaminopurine) استفاده شد. به این منظور بذرهای هر جمعیت به‌طور جداگانه در محلول یک درصد هیپوکلریت سدیم به مدت ۵ دقیقه ضدعفونی شده و پس از شستشوی کامل توسط آب مقطر در پتری‌هایی با قطر ۱۴ سانتی‌متر و بین دولایه حوله کاغذی در معرض غلظت‌های مختلف مواد هورمونی قرار گرفتند. پس از اضافه کردن محلول‌های مختلف، پتری‌ها به دمای ۵ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت (۳ روز) منتقل شدند (کشتکار و همکاران، ۲۰۰۸). سپس بذرها به‌طور کامل با استفاده از آب مقطر شسته شده و بذرهای مربوط به هر پیش تیمار به پتری‌های حاوی یک‌لایه کاغذ صافی و ۷ میلی‌لیتر آب مقطر منتقل شدند (در سه تکرار ۲۵ بذری). سپس آزمون جوانه‌زنی در دمای ۱±۱۰ درجه سلسیوس به مدت ۷۵ روز و شمارش بذرهای جوانه‌زده در هر هفته سه نوبت انجام شد.

لازم به ذکر است پیش تیمارهای مورداستفاده در این بخش شامل غلظت‌های مختلف اسید جیبرلیک (۰، ۱۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، غلظت‌های مختلف کینیتین (۰، ۵، ۵۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر و غلظت‌های مختلف ۶-بنزیل آمینوپورین (۰، ۵، ۲۵، ۵۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بوده و غلظت‌های انتخاب‌شده بر اساس پیش آزمون‌های اولیه و همچنین طبق منابع مختلف در بذرهای گیاهان هم‌خانواده باریجه انتخاب شدند (حسنی[1] و همکاران، ۲۰۰۹؛ زرداری و همکاران، ۲۰۱۹).

تجزیه وتحلیل داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌ها و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزارهای Germinator package و Excel 2013 انجام شد. در این بخش ابتدا شاخص‌های مختلف جوانه‌زنی توسط Germinator package برآورد شد. این پارامترها به تفضیل شامل: G_{max} (حداکثر جوانه‌زنی)، T_5 (زمان شروع جوانه‌زنی یا زمان رسیدن جوانه‌زنی به ۵ درصد)، T_{50} (زمان رسیدن جوانه‌زنی به ۵۰ درصد)، MGT (میانگین زمان جوانه‌زنی)، U_{84-16} (یکنواختی جوانه‌زنی یا حدفاصل زمانی جوانه‌زنی از ۱۶ به ۸۴ درصد بذرهای جوانه‌زده) و AUC[2] (محیط زیر منحنی) بودند. لازم به ذکر است این پکیج نرم‌افزاری به‌منظور تجزیه‌های مربوط به آزمون‌های جوانه‌زنی طراحی‌شده و از دقت بالایی برخوردار است (جوسن[3] و همکاران، ۲۰۱۰).

یکی از پارامترهای استفاده شده در تجزیه و تحلیل این پژوهش، شاخص AUC می‌باشد که یک پارامتر نسبتاً جدید معرفی شده در حوزه تجزیه و تحلیل آزمون‌های جوانه‌زنی می‌باشد. این پارامتر با استفاده از یکپارچه‌سازی سطح زیر منحنی تجمعی جوانه‌زنی مقداری را فراهم می‌کند که اغلب قدرت تفکیکی بالایی را بین نمونه‌ها نشان می‌دهد.

بطورکلی برای محاسبه این شاخص، پس از برازش مدل‌های رگرسیون غیر خطی به درصد جوانه‌زنی تجمعی بذرها در مقابل زمان، چندین پارامتر جوانه‌زنی به‌طور خودکار استخراج می‌شوند. G_{max} نشان‌دهنده حداکثر ظرفیت جوانه‌زنی بذر، t_{50} زمان لازم برای جوانه‌زنی ۵۰ درصد بذرها، U_{75-25} یکنواختی جوانه‌زنی فاصله زمانی بین ۷۵ تا ۲۵ درصد جوانه‌زنی، AUCx ناحیه زیر منحنی ادغام منحنی ترسیم‌شده بین $t = 0$ و یک نقطه انتهایی تعریف‌شده توسط کاربر (x) است (شکل ۱) (جوسن و همکاران، ۲۰۱۰). لازم به ذکر است در این مطالعه به دلیل پایین بودن جوانه‌زنی در برخی تیمارها از اختلاف‌زمانی بین ۸۴ تا ۱۶ درصد بذرهای جوانه‌زده برمبنای حداکثر جوانه‌زنی (U_{84-16}) استفاده شد؛ اما به‌منظور برآورد AUC نرم‌افزار به‌طور خودکار با استفاده از پیش‌بینی داده‌ها (برون‌یابی) از U_{75-25} استفاده می‌کند.

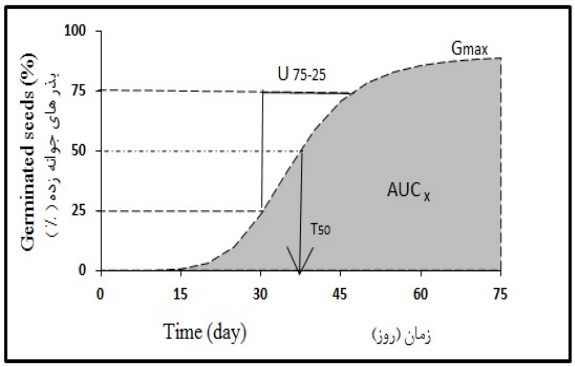
به‌طور اختصار این پارامتر اطلاعاتی مربوط به حداکثر جوانه‌زنی، سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی را باهم تلفیق کرده و می‌تواند برای توصیف رفتار جوانه‌زنی بذرها مورد استفاده قرار گیرد (شکل ۱). از کاربردهای عمده این پارامتر برآورد شاخص خفتگی[4] و شاخص استرس[5] بوده و به عبارتی هرچه مقدار این عامل در تیمارهای مختلف نسبت به تیمار شاهد بیشتر باشد، نشان‌دهنده رفع خفتگی یا کاهش تنش می‌باشد (الکاسبی[6] و همکاران، ۲۰۰۸؛ جوسن و همکاران، ۲۰۱۰).

شاخص جوانه‌زنی (Germination Index) نیز توسط رابطه زیر محاسبه شد:

$$GI = X_1/W_1 + (X_2-X_1)/W_2 + \ldots + (X_n-X_{n-1})/W_n$$

به‌طوری‌که X_n درصد جوانه‌زنی در هفته n و W_n شماره هفته موردنظر پس از شروع آزمون جوانه‌زنی است (حسنی و همکاران، ۲۰۰۹).

[1] Hassani
[2] Area under the curve
[3] Joosen
[4] Dormancy Index
[5] Stress Index
[6] El-Kassaby



شکل ۱. نمودار شماتیک نحوه برآورد شاخص رفع خفتگی توسط نرم‌افزار Germinator package (شکل اقتباس‌شده از جوسن و همکاران، ۲۰۱۰ می‌باشد).

Fig. 1. Schematic diagram of how the dormancy index is estimated by the Germinator package software (extrapolation). (Taken from Josen et al., 2010).

نتایج

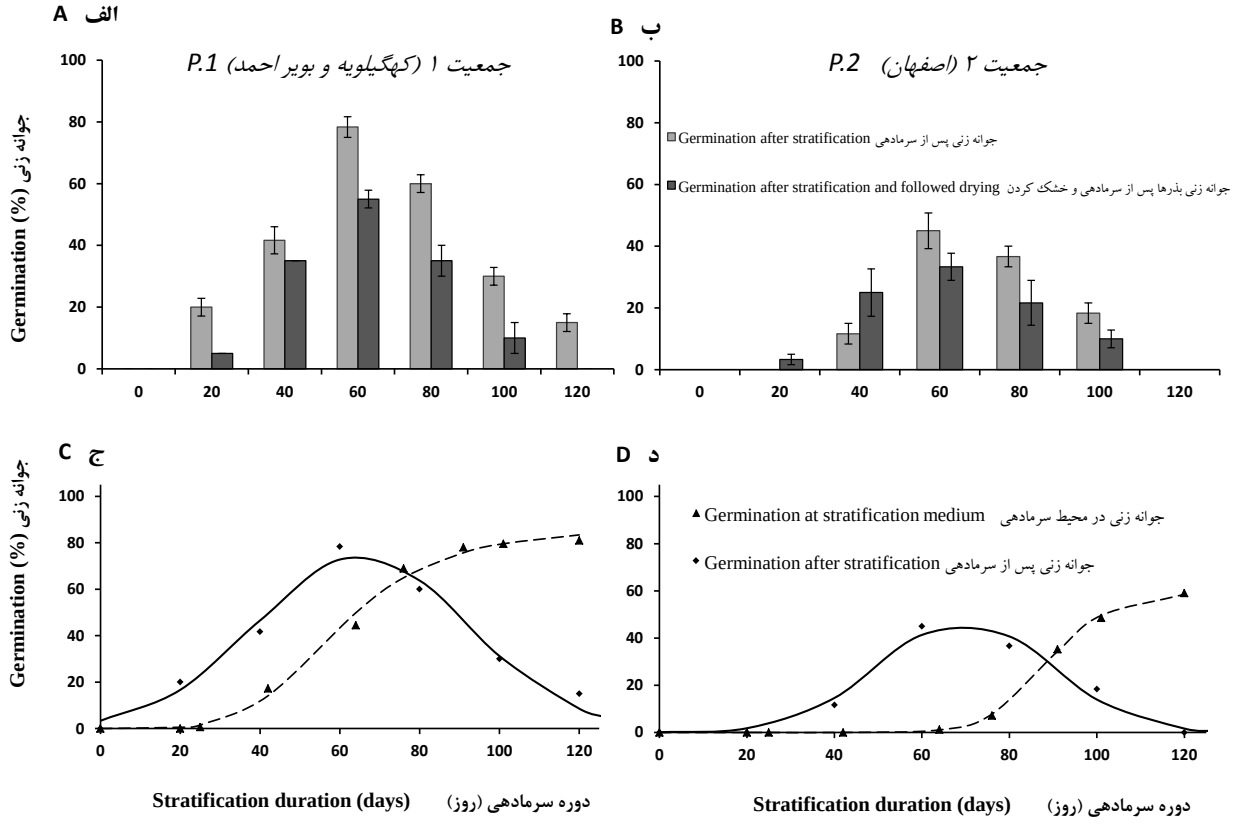
نتایج این مطالعه حاکی از آن بود که اعمال تیمار سرمادهی مرطوب در دمای ۵ درجه سلسیوس موجب افزایش جوانه‌زنی بذرها و به عبارتی باعث رفع خفتگی بذرهای هر دو جمعیت باریجه شد. بذرهای هر دو جمعیت باریجه پس از برداشت (بذرهای تیمار نشده) فاقد قابلیت جوانه‌زنی بودند؛ به طوری که تیمار سرمادهی توانست جوانه‌زنی بذرهای جمعیت اول (بذرهای جمع‌آوری‌شده از استان کهگیلویه و بویر احمد) و دوم (بذرهای تهیه‌شده از شرکت پاکان بذر اصفهان) را به ترتیب تا ۷۸/۳۳ درصد و ۴۵/۰۰ درصد افزایش دهد. در هر دو جمعیت بذری، جوانه‌زنی با افزایش دوره سرمادهی از صفر تا ۶۰ روز افزایش، و پس از آن کاهش یافت. به‌گونه‌ای که قابلیت جوانه‌زنی بذرها پس از ۱۲۰ روز سرمادهی در جمعیت اول و دوم به ترتیب به ۱۵/۰۰ و صفر درصد رسید (شکل ۲). همچنین نتایج نشان داد قابلیت جوانه‌زنی بذرها هنگامی‌که پس از اعمال تیمار سرمادهی به‌طور کامل رطوبت خود را ازدست داده و خشک می‌شوند نسبت به حالتی که بذرها بلافاصله پس از تیمار سرمادهی در معرض آزمون جوانه‌زنی قرار می‌گیرند، کاهش یافت (شکل ۲).

همان‌طور که بیان شد، قابلیت جوانه‌زنی بذرها تحت دوره‌های سرمادهی با افزایش مدت‌زمان سرمادهی بیشتر از ۶۰ روز، کاهش یافت. ازاین‌رو با بررسی روند جوانه‌زنی بذرها در بستر و شرایط سرمادهی به بررسی علت این موضوع پرداخته شد. همان‌طور که مشاهده می‌شود بذرهای باریجه در شرایط تیمار سرمادهی در جمعیت اول و دوم به ترتیب پس از گذشت ۴۰ و ۶۰ روز، شروع به جوانه‌زنی کرده و به‌صورت سیگموئیدی با افزایش دوره سرمادهی، جوانه‌زنی افزایش می‌یابد (شکل ۲ ج، د). ازآنجایی که در تیمارهای سرمادهی چنین بذرهایی برای بررسی قابلیت جوانه‌زنی از بذرهای جوانه نزده استفاده می‌شود، بنابراین بذرهایی که بیشتر از ۶۰ روز در معرض تیمار سرمادهی قرار می‌گیرند به دلیل جوانه‌زنی بخشی از بذرها، دارای سطوح خفتگی عمیق‌تری هستند.

با بررسی تأثیر پیش‌تیمارهای مختلف هورمونی بر افزایش جوانه‌زنی و رفع خفتگی بذرهای باریجه مشخص شد اعمال تمامی پیش‌تیمارهای هورمونی اثر معنی‌داری بر رفع خفتگی بذرهای هردو جمعیت داشت (شکل ۳ و ۴؛ جدول ۱ و ۲).

جوانه‌زنی بذرهای باریجه جمعیت اول پس از اعمال پیش تیمار ۷۲ ساعت سرمادهی در دمای ۵ درجه سلسیوس (تیمار شاهد) ۱۲/۳ درصد بود که با قرارگیری در غلظت‌های مختلف اسید جیبرلیک در شرایط پیش تیمار افزایش یافت. قرارگیری بذرها در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر محلول اسید جیبرلیک بیشترین تأثیر را بر رفع خفتگی بذرها داشت به‌طوری‌که جوانه‌زنی بذرها را به ۵۸/۸ درصد افزایش داد. لازم به ذکر است که قابلیت جوانه‌زنی بذرها با افزایش غلظت اسید جیبرلیک بیشتر از ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. همچنین کمترین درصد جوانه‌زنی مربوط به غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر با جوانه‌زنی ۱۵ درصد بود.

تأثیر پیش تیمار کینیتین بر افزایش قابلیت جوانه‌زنی بذرهای جمعیت اول بیشتر از پیش تیمار اسید جیبرلیک بود. همچنین به‌طورکلی با افزایش غلظت کینیتین قابلیت جوانه‌زنی بذرها افزایش یافت و بیشترین درصد جوانه‌زنی مربوط به غلظت‌های ۲۵۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر با ۶۵ و ۶۳/۳۳ درصد بود.

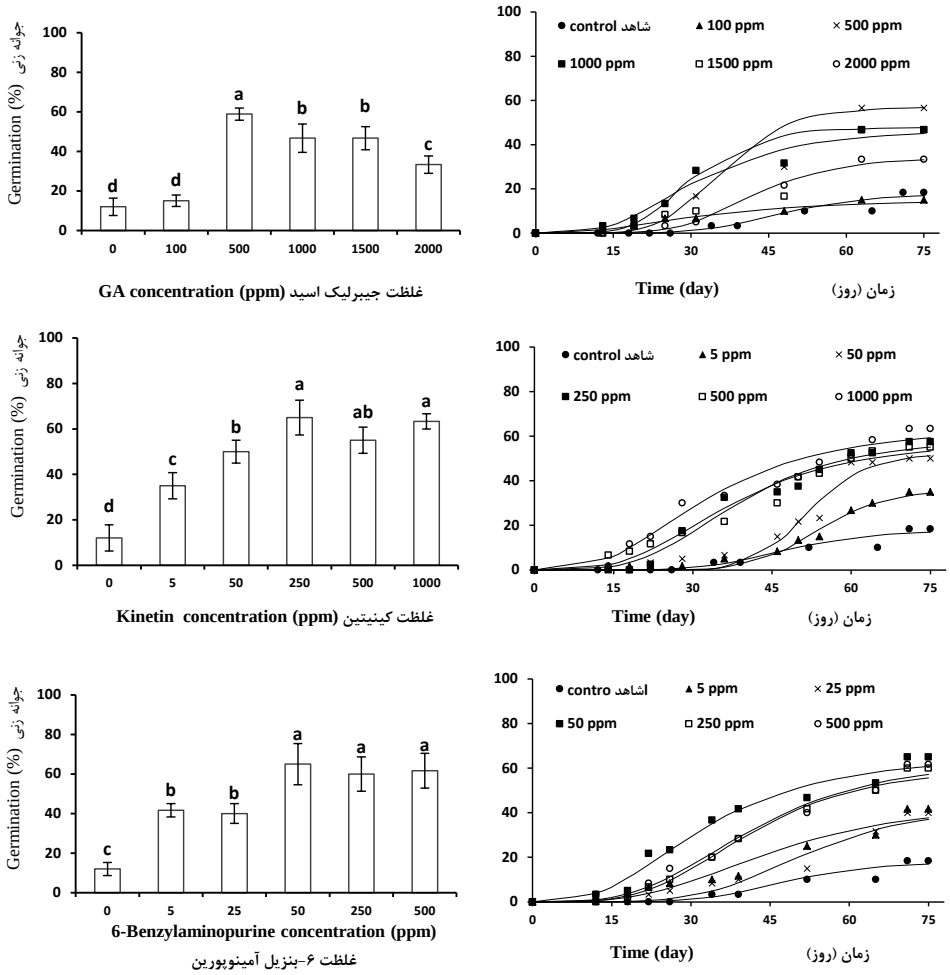


شکل ۲. تأثیر دوره‌های سرمادهی مرطوب بر قابلیت جوانه‌زنی بذرهای باریجه. الف و ب نشان دهنده قابلیت جوانه‌زنی بذرهای جمعیت باریجه بلافاصله پس از دریافت دوره‌های سرمادهی مرطوب و قابلیت جوانه‌زنی بذرها پس از خشک‌شدن بذرهای تیمارشده. ج و د نشان دهنده روند جوانه‌زنی بذرها طی مدت آزمون سرمادهی (جوانه‌زنی در بستر سرمادهی) و قابلیت جوانه‌زنی بذرها پس از دریافت دوره‌های مختلف سرمادهی در جمعیت‌های باریجه

Fig. 2. The effect of cold stratification periods on the germination capacity of Galbanum seeds. A and B are the ability of seeds to germinate in the Galbanum seeds population immediately after receiving wet stratification periods, and the ability of seeds to germinate after drying of treated seeds respectively. C and D are the process of seed germination during the cold stratification period (germination in stratification bed) and the ability of seeds to germinate after receiving different periods of cold stratification

پیش تیمار ۶-بنزیل آمینوپورین نیز تأثیر معنی‌داری برافزایش جوانه‌زنی بذرهای این جمعیت داشت و بیشترین درصد جوانه‌زنی در غلظت‌های ۵۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد (شکل ۳؛ جدول ۱).

در جمعیت دوم بذرهای باریجه الگوی تقریباً مشابهی با جمعیت اول نشان دادند و پیش‌تیمارهای هورمونی موجب افزایش جوانه‌زنی بذرها شدند. جوانه‌زنی بذرهای شاهد در این جمعیت بذری معادل پنج درصد برآورد شد و با قرارگیری در غلظت‌های مختلف اسید جیبرلیک به‌طورکلی با افزایش غلظت، افزایش یافت. بیشترین درصد جوانه‌زنی (۷۷/۵ درصد) مربوط به غلظت ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید جیبرلیک بود و اختلاف درصد جوانه‌زنی تحت تأثیر غلظت‌های ۵۰۰ تا ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر از نظر آماری معنی دار اما از نظر مقدار عددی قابل‌توجه نبود. پیش تیمار بذرها در غلظت‌های بیشتر از ۵۰ میلی‌گرم در لیتر

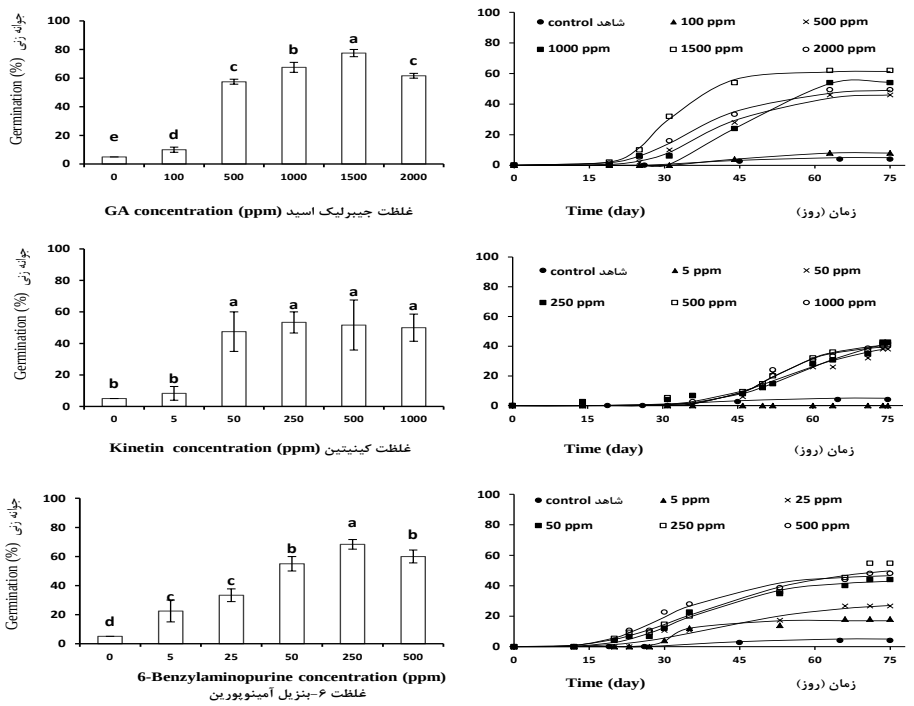


شکل ۳. تأثیر پیش‌تیمارهای مختلف هورمونی بر حداکثر ظرفیت جوانه‌زنی و روند جوانه‌زنی تجمعی طی زمان در بذرهای باریجه جمعیت کهگیلویه و بویر احمد

Fig. 3. The effect of different hormonal pretreatments on maximum germination capacity and cumulative germination process over time in the first population of Galbanum seeds (Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad)

کینیتین به‌طور معنی‌داری موجب افزایش جوانه‌زنی بذرها شد اما اختلاف قابل‌توجهی بین غلظت‌های ۵۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده نشد. اثر غلظت‌های مختلف ۶-بنزیل آمینوپورین برافزایش قابلیت جوانه‌زنی بذرهای این جمعیت نیز قابل‌توجه بود و به‌طورکلی افزایش غلظت پیش تیمار موجب افزایش قابلیت جوانه‌زنی بذرها شده و همچنین بیشترین درصد جوانه‌زنی (۶۳/۳) نیز تحت تأثیر پیش تیمار در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد (شکل ۴؛ جدول ۲).

در جدول ۱ اطلاعات مربوط به شاخص‌های مختلف جوانه‌زنی بذرهای جمعیت اول باریجه تحت تأثیر پیش تیمارهای مختلف هورمونی ارائه‌شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود زمان تا شروع جوانه‌زنی (T_5) تحت تأثیر تمامی پیش تیمارهای هورمونی کاهش یافت که کمترین زمان تا شروع جوانه‌زنی به ترتیب مربوط به پیش تیمار کینیتین با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر، اسید جیبرلیک با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر و ۶-بنزیل آمینوپورین با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر بود. همچنین با بررسی میانگین زمان جوانه‌زنی (MGT) و زمان تا رسیدن جوانه‌زنی به ۵۰ درصد (T_{50}) نیز مشخص شد سرعت جوانه‌زنی تحت تأثیر پیش‌تیمارهای مختلف هورمونی قرارگرفته و این پیش تیمارها اغلب موجب افزایش سرعت جوانه‌زنی شدند. با بررسی یکنواختی جوانه‌زنی (U_{84-16}) مشاهده می‌شود که یکنواختی جوانه‌زنی تحت تأثیر پیش تیمارهای مختلف کاهش‌یافته است. اما این امر به دلیل جوانه‌زنی پایین



شکل ۴. تأثیر پیش‌تیمارهای مختلف هورمونی بر حداکثر ظرفیت جوانه‌زنی و روند جوانه‌زنی تجمعی طی زمان در بذرهای باریجه جمعیت اصفهان

Fig. 4. The effect of different hormonal pretreatments on maximum germination capacity and cumulative germination process over time in the population of Galbanum seeds (Isfahan)

جدول ۱. تأثیر پیش‌تیمارهای مختلف هورمونی بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذرهای باریجه در جمعیت کهگیلویه و بویر احمد

Table 1. The effect of different hormonal pretreatments on germination indices in the population (Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad) of Galbanum seeds

Pre treatment پیش تیمار	Concentration غلظت(mg/l)	G_{max} % (± SE)	T_5 days (± SE)	T_{50} days (± SE)	MGT	U_{84-16} days (± SE)
GA اسید جیبرلیک	**0 (control شاهد)**	12.3 (3.3)	55.4 (11.7)	-	57.1 (8.3)	6.7 (4.5)
	100	15.0 (3.8)	21.2 (10.3)	-	34.5 (7.9)	22.0 (7.2)
	500	58.9 (1.3)	26.5 (8.1)	50.4 (4.2)	40.6 (4.7)	24.0 (7.9)
	1000	46.7 (10.4)	14.9 (3.6)	49.5 (1.5)	29.4 (0.7)	26.6 (9.2)
	1500	46.7 (8.6)	35.5 (7.8)	62.0 (3.2)	46.3 (4.6)	17.7 (9.1)
	2000	33.3 (3.3)	28.7 (7.2)	-	41.8 (4.8)	19.9 (6.3)
Kinetin کینیتین	**0 (control شاهد)**	12.3 (3.3)	55.4 (11.7)	-	57.1 (8.3)	6.7 (4.5)
	5	35.0 (5.7)	43.3 (5.3)	-	50.3 (3.6)	20.1 (3.2)
	50	50.0 (5.0)	40.2 (7.7)	58.5 (5.2)	48.5 (5.4)	16.2 (5.9)
	250	65.0 (3.3)	18.4 (4.2)	54.3 (8.6)	33.6 (3.0)	36.6 (8.0)
	500	55.0 (5.7)	20.7 (6.2)	70.6 (21.3)	34.8 (4.9)	35.3 (9.6)
	1000	63.3 (3.3)	14.2 (0.3)	54.0 (2.2)	30.2 (0.5)	41.8 (5.6)
6-Benzylamin opurine ۶-بنزیل آمینوپورین	**0 (control شاهد)**	12.3 (3.3)	55.4 (11.7)	-	57.1 (8.3)	6.7 (4.5)
	5	41.7 (3.3)	27.4 (1.7)	-	38.3 (1.6)	38.1 (2.4)
	25	40.0 (5.0)	34.9 (8.8)	-	43.0 (5.8)	29.0 (13.0)
	50	65.0 (7.6)	16.6 (5.2)	37.8 (0.8)	30.7 (4.1)	31.7 (10.3)
	250	60.0 (5.7)	24.3 (6.1)	51.3 (11.5)	37.4 (5.1)	27.8 (5.6)
	500	61.7 (8.8)	19.4 (2.8)	53.1 (2.5)	34.6 (2.8)	39.4 (4.1)

Gmax حداکثر جوانه‌زنی بذرها، T5 زمان شروع جوانه‌زنی یا زمان رسیدن جوانه‌زنی به ۵ درصد، T50 زمان رسیدن جوانه‌زنی به ۵۰ درصد، MGT متوسط زمان جوانه‌زنی، U_{84-16} فاصله زمانی بین ۸۴ تا ۱۶ درصد جوانه‌زنی (بر مبنای حداکثر جوانه‌زنی). اعداد داخل پرانتز اشتباه استاندارد بین سه تکرار آزمایشی در هر تیمار را نشان می‌دهد.

G_{max} maximum seed germination percentage, T_5 germination start time or germination time to 5%, T_{50} germination time to 50%, MGT average germination time, the U_{84-16} time interval between 84 to 16% Germination (based on maximum germination). The numbers in parentheses indicate ±SE of three replication of each treatment.

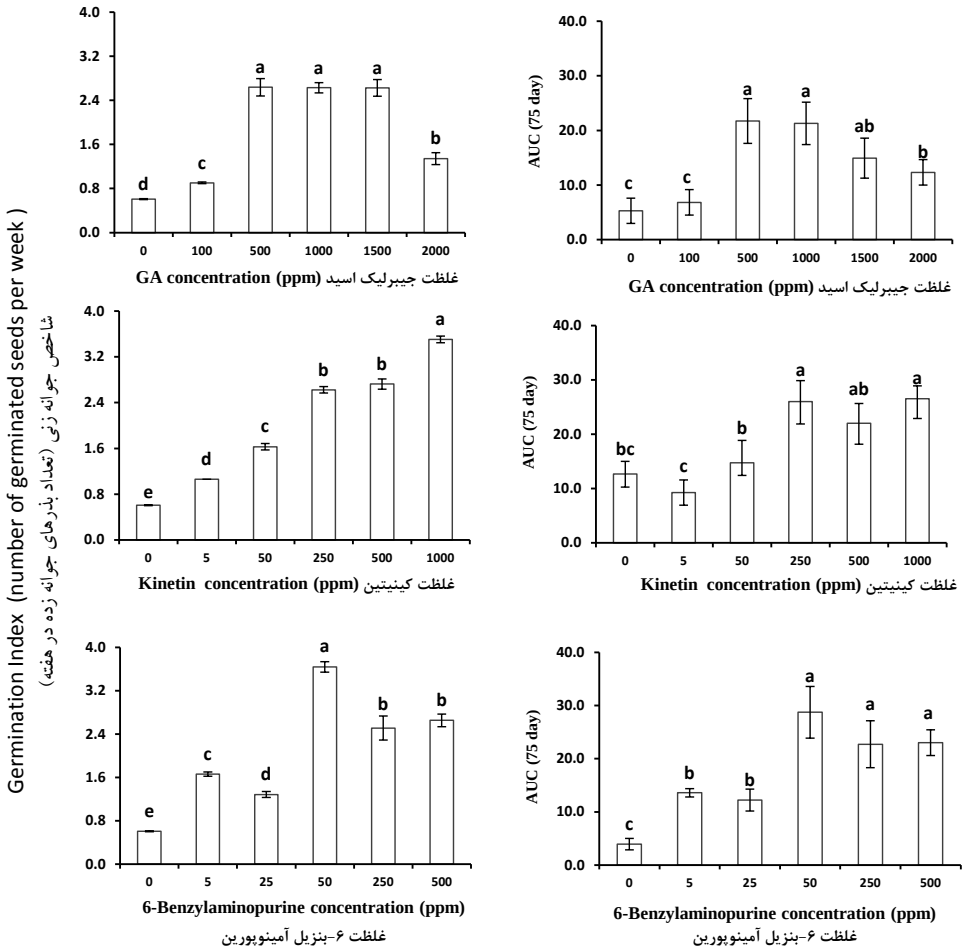
جدول ۲. تأثیر پیش‌تیمارهای مختلف هورمونی بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذرهای باریجه در جمعیت اصفهان

Table 2. The effect of different hormonal pretreatments on germination indices in the population (Esfahan) of Galbanum seeds

Pre treatment پیش تیمار	Concentration (mg/l) غلظت	G_{max} % (± SE)	T_5 days (± SE)	T_{50} days (± SE)	MGT	U_{84-16} days (± SE)
GA اسید جیبرلیک	**0 (control شاهد)**	5.0 (1.3)	54.2 (11.6)	-	-	-
	100	10.0 (2.8)	44.0 (0.0)	-	42.4 (2.7)	7.3 (0.5)
	500	57.5 (2.5)	28.6 (4.9)	45.7 (8.1)	40.5 (3.2)	19.8 (2.3)
	1000	67.5 (7.5)	31.4 (2.0)	52.7 (4.8)	43.6 (1.1)	20.4 (4.3)
	1500	77.5 (2.5)	20.9 (0.4)	34.1 (0.1)	32.0 (0.4)	15.4 (0.3)
	2000	61.6 (1.6)	23.2 (2.4)	49.0 (2.9)	36.7 (1.8)	23.6 (2.9)
Kinetin کینیتین	**0 (control شاهد)**	5.0 (1.3)	54.2 (11.6)	-	-	-
	5	8.3 (4.4)	57.9 (1.2)	-	52.9 (0.8)	19.9 (1.1)
	50	47.5 (12.5)	41.8 (1.2)	66.9 (3.5)	49.8 (1.8)	18.7 (1.9)
	250	53.3 (6.6)	38.6 (5.9)	68.2 (1.8)	47.2 (5.1)	27.5 (7.2)
	500	50.16 (1.3)	42.5 (5.4)	52.0 (3.8)	49.9 (1.9)	21.1 (1.4)
	1000	50.0 (8.6)	43.6 (3.8)	62.3 (0.9)	49.9 (1.1)	15.5 (7.1)
6-Benzylaminopurine ۶-بنزیل آمینوپورین	**0 (control شاهد)**	5 (1.3)	54.2 (11.6)	-	-	-
	5	22.5 (7.5)	30.4 (0.3)	-	32.9 (0.5)	7.6 (0.7)
	25	33.3 (4.5)	35.5 (6.3)	-	40.3 (6.9)	13.2 (8.5)
	50	55.0 (5.0)	22.9 (2.0)	54.3 (3.0)	34.9 (0.8)	23.6 (6.6)
	250	68.3 (1.3)	23.0 (4.3)	55.2 (9.2)	37.7 (2.8)	33.4 (0.7)
	500	60.0 (6.6)	21.2 (3.0)	38.6 (8.1)	33.5 (3.1)	25.2 (7.0)

Gmax حداکثر جوانه‌زنی بذرها، T5 زمان شروع جوانه‌زنی یا زمان رسیدن جوانه‌زنی به ۵ درصد، T50 زمان رسیدن جوانه‌زنی به ۵۰ درصد، MGT متوسط زمان جوانه‌زنی، U_{84-16} فاصله زمانی بین ۸۴ تا ۱۶ درصد جوانه‌زنی (بر مبنای حداکثر جوانه‌زنی). اعداد داخل پرانتز اشتباه استاندارد بین سه تکرار آزمایشی در هر تیمار را نشان می‌دهد.

G_{max} maximum seed germination percentage, T_5 germination start time or germination time to 5%, T_{50} germination time to 50%, MGT average germination time, the U_{84-16} time interval between 84 to 16% Germination (based on maximum germination).The numbers in parentheses indicate ±SE of three replication of each treatment.



شکل ۵. تأثیر پیش‌تیمارهای هورمونی مختلف بر شاخص جوانه‌زنی و شاخص رفع خفتگی (AUC_{75}) دربذرهای باریجه (جمعیت کهگیلویه و بویر احمد).

Fig. 5. The effect of different hormonal pretreatments on germination index and dormancy index (AUC) in the population of Galbanum seeds (Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad).

بذرهای شاهد بود. به‌طورکلی بیشترین یکنواختی جوانه‌زنی در پیش تیمار اسید جیبرلیک مربوط به غلظت‌های ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر، در پیش تیمار کینیتین مربوط به غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر و در پیش تیمار ۶-بنزیل آمینوپورین مربوط به غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر بود (جدول ۲).

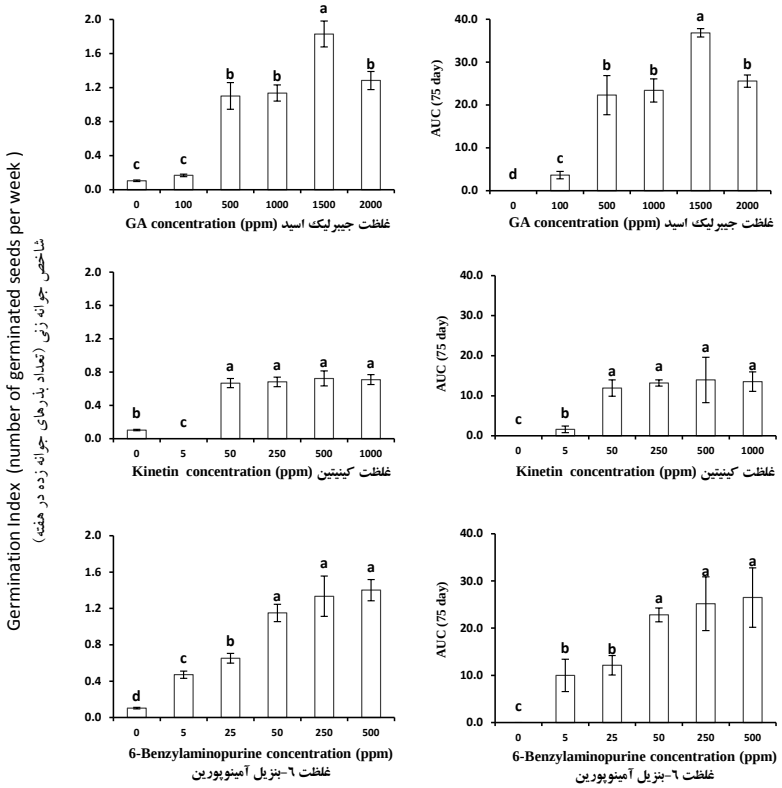
در جدول ۲ نیز شاخص‌های جوانه‌زنی مربوط به تأثیر پیش‌تیمارهای مختلف هورمونی بر رفتار جوانه‌زنی بذرهای جمعیت دوم باریجه ارائه‌شده است. در این جمعیت نیز همانند جمعیت اول شاخص‌های مختلف جوانه‌زنی تحت تأثیر مثبت پیش‌تیمارهای هورمونی قرار گرفتند. زمان تا شروع جوانه‌زنی در غلظت‌های مختلف هر سه پیش تیمار هورمونی به‌طور قابل‌توجهی کاهش یافت به نحوی که پیش تیمارهای اسید جیبرلیک و ۶-بنزیل آمینوپورین بیشترین تأثیر را داشته اما اثرپیش تیمار غلظت‌های مختلف کینیتین دراین‌بین کمتر بود. سرعت جوانه‌زنی نیز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر پیش‌تیمارهای مختلف افزایش یافت که غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر ۶-بنزیل آمینوپورین بیشترین تأثیر را در میان تیمارها داشت. یکنواختی جوانه‌زنی نیز تحت تأثیر پیش تیمارهای مختلف کاهش‌یافته و با چشم‌پوشی از غلظت‌های پایین پیش تیمارهای هورمونی (به دلیل پایین بودن درصد جوانه‌زنی نهایی)، غلظت ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید جیبرلیک، غلظت ۱۰۰۰

میلی‌گرم در لیتر کینیتین و غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر ۶-بنزیل آمینوپورین بیشترین تأثیر را در افزایش یکنواختی جوانه‌زنی بذرهای این جمعیت بذری داشتند (جدول ۲)

شکل ۵ و ۶ نشان دهنده سرعت جوانه‌زنی و همچنین رفع خفتگی بذرهای باریجه تحت تأثیر پیش‌تیمارهای مختلف هورمونی می‌باشد. شاخص جوانه‌زنی یکی از شاخص‌های مفید برای بررسی سرعت جوانه‌زنی محموله‌های بذری است که توسط محققان ارائه‌شده است. همان‌طور که در جدول ۱ و ۲ مشاهده شد، معیارهای در نظر گرفته‌شده (زمان رسیدن جوانه‌زنی به ۵۰ درصد و میانگین زمان جوانه‌زنی) جهت مقایسه سرعت جوانه‌زنی بذرهای باریجه به دلیل پایین بودن درصد جوانه‌زنی به‌خصوص در بذرهای شاهد چندان قابل توصیف نیستند. ازاین‌رو در این مطالعه سعی شد به‌منظور مقایسه بهتر پیش‌تیمارهای هورمونی از پارامتر "شاخص جوانه‌زنی" استفاده شود. همچنین شاخص AUC که در برآورد آن، شاخص‌های مختلفی همچون حداکثر جوانه‌زنی، یکنواختی جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی لحاظ شده است، یکی از شاخص‌های مهم در بذرهای دارای خفتگی است که با استفاده از آن می‌توان میزان رفع خفتگی تیمارهای مختلف را مورد مقایسه قرار داد.

با توجه به شکل ۵ شاخص جوانه‌زنی بذرها که معیاری برای سرعت جوانه‌زنی بذرها است، در بذرهای جمعیت اول باریجه تحت تأثیر پیش‌تیمارهای مختلف هورمونی به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافت. در پیش تیمار اسید جیبرلیک سرعت جوانه‌زنی بذرها تحت تأثیر غلظت‌های مختلف به‌طور معنی‌داری نسبت به بذرهای شاهد افزایش یافت. همچنین سرعت جوانه‌زنی با افزایش غلظت از ۱۰۰ به ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد اما تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده نشد و پس از آن با افزایش غلظت به ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر سرعت جوانه‌زنی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. در پیش تیمار کینیتین، سرعت جوانه‌زنی بذرها با افزایش غلظت کینیتین افزایش یافت، به‌طوری‌که بیشترین سرعت جوانه‌زنی تحت پیش تیمار بذرها در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. در پیش تیمار ۶-بنزیل آمینوپورین روند خاصی در افزایش سرعت جوانه‌زنی بذرها مشاهده نشد، اما تمامی تیمارها موجب افزایش سرعت جوانه‌زنی بذرها نسبت به شاهد شده و همچنین بیشترین سرعت جوانه‌زنی در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. با بررسی شاخص AUC مشخص شد غالباً تمامی پیش تیمارها به‌جز غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر پیش تیمار کینیتین موجب رفع خفتگی بذرها شدند. در پیش تیمار اسید جیبرلیک غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر، در پیش تیمار کینیتین غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر و در پیش تیمار ۶-بنزیل آمینوپورین غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین تأثیر را بر رفع خفتگی این جمعیت بذر داشتند (شکل ۵).

در جمعیت دوم بذرهای باریجه نیز سرعت جوانه‌زنی و رفع خفتگی بذرها تحت تأثیر پیش تیمارهای مختلف هورمونی قرار گرفت (شکل ۶). سرعت جوانه‌زنی در پیش تیمار تحت غلظت‌های مختلف اسید جیبرلیک افزایش یافت که بیشترین سرعت جوانه‌زنی در غلظت ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد و همچنین با افزایش غلظت اسید جیبرلیک به ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر سرعت جوانه‌زنی به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد و اختلاف معنی‌داری با غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نداشت. سرعت جوانه‌زنی در پیش تیمار کینیتین نسبت به سایر پیش تیمارها افزایش کمتری داشت اما در غلظت‌های ۵۰ میلی‌گرم در لیتر و بیشتر از آن سرعت جوانه‌زنی نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ولی بین غلظت‌های مختلف (بیشتر از ۵۰ میلی‌گرم در لیتر) تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در پیش تیمار ۶-بنزیل آمینوپورین، سرعت جوانه‌زنی بذرها با افزایش غلظت، بیشتر شد، به‌طوری‌که حداکثر سرعت جوانه‌زنی تحت پیش تیمار بذرها در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. با بررسی شاخص AUC در این جمعیت بذری، الگوی مشابهی با سرعت جوانه‌زنی بذرهای این جمعیت مشاهده شد و به‌طورکلی غلظت ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید جیبرلیک و غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر ۶-بنزیل



شکل ۶. تأثیر پیش‌تیمارهای هورمونی مختلف بر شاخص جوانه‌زنی و شاخص رفع خفتگی (AUC_{75}) دربذرهای باریجه (جمعیت اصفهان).

Fig. 6. The effect of different hormonal pretreatments on germination index and dormancy index (AUC) in the population of Galbanum seeds (Isfahan).

آمینوپورین بیشترین تأثیر را در رفع خفتگی بذرهای این جمعیت از باریجه داشتند.

بحث

همانطور که مشخص شد بذرهای باریجه پس از برداشت دارای خفتگی اولیه هستند و قرارگیری بذرها در شرایط سرد و مرطوب موجب رفع خفتگی بذرها شد. رفع خفتگی بذرها از طریق سرمادهی مرطوب (قرارگیری بذرها در شرایط سرد و مرطوب) می‌تواند با تغییر توازن هورمون‌های تنظیم‌کننده جوانه‌زنی و رشد، تغییر در ساختار و میزان ذخایر بذر ازجمله پروتئین‌ها، لیپیدها، قندها و همچنین تغییر زیرساخت‌های سلول همراه باشد (چن[1] و همکاران، ۲۰۱۵). به‌طوری‌که محققان گزارش کردند سرمادهی مرطوب موجب افزایش مقدار جیبرلین‌های درونی (GA_3 و GA_7) و از طرفی کاهش اسید آبسیزیک درونی، کاهش پروتئین‌ها و لیپیدها و در مقابل، افزایش قندهای محلول و اسیدهای آمینه می‌گردد (بیولی و همکاران، ۲۰۱۳). تغییر توازن هورمون‌های دخیل در جوانه‌زنی طی سرمادهی مرطوب در بذرها به تغییر الگوی بیان ژن‌های دخیل در بیوسنتز اسید جیبرلیک و آبسیزیک نسبت داده‌شده است (آیهوا[2] و همکاران، ۲۰۱۸). رفع خفتگی بذرهای باریجه تحت تأثیر سرمادهی مرطوب توسط برخی محققان گزارش‌شده است (کشتکار و همکاران، ۲۰۰۸؛ لبافی و همکاران، ۲۰۱۸). در بذرهای دارای سطوحی از خفتگی مورفولوژیک ازجمله بذر گیاهان خانواده چتریان جنین توسعه‌نیافته یکی از دلایل مهم عدم جوانه‌زنی بذرها می‌باشد (رستمی و توکل افشاری، ۲۰۱۴). زرداری و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند قرارگیری در شرایط سرمادهی مرطوب موجب رفع خفتگی بذرهای باریجه می‌گردد. نامبردگان با بررسی روند رشد جنین بذر

[1] Chen

[2] Aihua

باریجه یکی از مهم‌ترین عوامل القای توانایی جوانه‌زنی و رفع خفتگی بذرهای باریجه تحت تأثیر سرمادهی مرطوب را رشد و توسعه جنین طی این فرایند اعلام کردند. ریزش‌های جوی در زمستان ارتباط مستقیمی با جمعیت باریجه در رویشگاه‌های طبیعی دارد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که رخ دادن شرایط سرمادهی مرطوب در طبیعت نیز یکی از نیازهای جوانه‌زنی بذرهای این‌گونه گیاهی می‌باشد (شریفی و همکاران، ۲۰۱۵).

خشک‌کردن بذرها پس از سرمادهی مرطوب موجب کاهش قابلیت جوانه‌زنی بذرها نسبت به حالتی که بذرها بلافاصله پس از تجربه تیمار سرمادهی مرطوب در معرض آزمون جوانه‌زنی قرار می‌گیرند، شد (شکل ۱ الف، ب). هنگامی‌که بذرها در معرض آبنوشی قرار می‌گیرند متابولیسم جوانه‌زنی در بذرها موجب پیشرفت فرایند جوانه‌زنی می‌گردد (پاول[1] و همکاران ۲۰۰۰). درنتیجه متابولیسم جوانه‌زنی که در طی سرمادهی مرطوب فعال می‌شوند اگر در زمان مناسب با توقف آب‌نوشی غیرفعال نشوند موجب کاهش تحمل به پسابیدگی در بذرها می‌شوند و با خشک‌کردن بذرها آسیب‌های جبران‌ناپذیری به قسمت‌های مختلف بذر ازجمله نوک ریشه‌چه و همچنین غشاءهای سلولی وارد می‌شود (باتلر[2] و همکاران، ۲۰۰۹). هنگامی‌که رشد ریشه‌چه ادامه یافته و سپس بذر خشک شود، صدمات جبران‌ناپذیری به بذر وارد می‌گردد، چراکه نوک ریشه‌چه نخستین بافتی است که در هنگام خشک شدن بذرهای آبنوشی شده آسیب می‌بیند (کوستر و لئوپولد[3]، ۱۹۹۸). از این رو هنگامی‌که بذرها پس از دوره‌های طولانی‌مدت آبنوشی خشک می‌شوند موجب آسیب به بذرها و درنتیجه کاهش قابلیت جوانه‌زنی بذرها می‌شود (پاپارلا[4] و همکاران، ۲۰۱۵).

نتایج حاکی از آن بود که افزایش دوره سرمادهی مرطوب موجب کاهش جوانه‌زنی بذرهای باریجه در هردو جمعیت بذری شد (شکل ۱). دمای مطلوب جوانه‌زنی در بذرهای باریجه بسیار پایین بوده، به‌طوری‌که دماهای پایین‌تر از ۵ درجه سلسیوس به‌عنوان دمای مطلوب جوانه‌زنی بذرهای این‌گونه گیاهی معرفی‌شده است (زرداری و همکاران، ۲۰۱۹، زرداری، ۲۰۲۰). به عبارتی دمای مطلوب جوانه‌زنی و دمای لازم برای سرمادهی بذرهای باریجه بسیار نزدیک به هم و غالباً یکسان هستند. همان‌طور که در شکل (۱ ج و د) مشاهده می‌شود بذرهای باریجه پس از قرارگیری طولانی‌مدت در محیط سرمادهی مرطوب شروع به جوانه‌زنی می‌کنند. در این شرایط بذرهای دارای سطوح خفتگی غیر عمیق شروع به جوانه‌زنی می‌کنند. بنابراین در دوره‌های طولانی‌مدت سرمادهی، نمونه‌گیری از بذرهایی با سطوح خفتگی عمیق‌تر انجام‌شده و به دنبال آن قابلیت جوانه‌زنی بذرها طی دوره‌های بلندمدت به سرمادهی مرطوب کاهش می‌یابد (شکل ۱ ج، د). به عبارتی نمونه‌گیری از بذرها در دوره‌های مختلف آزمون سرمادهی ناخودآگاه از بذرهایی با سطوح خفتگی متفاوت انجام می‌گیرد. بنابراین در این دست مطالعات توجه به این امر ضروری بوده و لازم است محققان در بررسی تأثیر تیمارهای سرمادهی بذر چنین گیاهانی به قابلیت جوانه‌زنی بذرها در شرایط سرمادهی مرطوب توجه کرده و با بررسی دوره‌های طولانی‌مدت سرمادهی با توجه به رفتار جوانه‌زنی، به سطوح خفتگی در هر مرحله از آزمون سرمادهی مرطوب توجه شده تا نتایج به‌صورت قابل‌قبول‌تری ارائه شوند.

نتایج نشان داد پیش‌تیمارهای مختلف هورمونی سبب افزایش قابلیت جوانه‌زنی (شکل ۳ و ۴) و همچنین سرعت جوانه‌زنی و به عبارتی موجب رفع خفتگی بذرها شد (جدول ۱، ۲؛ شکل ۵، ۶). کشتکار و همکاران (۲۰۰۸) با بررسی بذرهای کما و باریجه بیان کردند که اسید جیبرلیک سرعت و درصد جوانه‌زنی بذرهای هر دو گونه را افزایش می‌دهد و حداکثر درصد جوانه‌زنی بذرهای این گونه‌ها از ترکیب ۳۰ روز سرمادهی مرطوب به همراه اسید جیبرلیک حاصل شد. این پژوهشگران همچنین گزارش کردند، غوطه‌ورسازی بذرهای کما و باریجه در اسید جیبرلیک به مدت ۷۲ ساعت درصد جوانه‌زنی را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. در مطالعه‌ای دیگر لبافی و همکاران (۲۰۱۸) بیان کردند خراش دهی شیمیایی بذرهای باریجه با استفاده از اسیدسولفوریک به

[1] Powell
[2] Butler
[3] Koster and Leopold
[4] Paparella

همراه استفاده از اسید جیبرلیک موجب افزایش جوانه‌زنی بذرها شد. همچنین شماری از محققان کاربرد اسید جیبرلیک و تیمار سرمادهی را در بذرهای باریجه به‌صورت هم‌زمان مؤثرترین تیمار در بهبود جوانه‌زنی و رفع خفتگی در بذرهای باریجه عنوان کردند (رهنما و توکل افشاری[1]، ۲۰۰۷؛ روحی[2] و همکاران، ۲۰۱۲؛ شریفی و همکاران، ۲۰۱۷) اسید جیبرلیک ممکن است همراه با تیمارهای رفع موانع مورفولوژیکی جوانه‌زنی مانند پس‌رسی بذرها و سرمادهی مرطوب به‌طور مؤثری به بهبود جوانه‌زنی بذرهای دارای خفتگی مورفولوژیک کمک کرده و همچنین می‌تواند جایگزین بخشی از نیاز سرمایی بذرها (سرمادهی مرطوب) شود. تأثیر سیتوکینین‌های مختلف در رفع خفتگی بذر نیز به‌طور گسترده‌ای در گونه‌های مختلف گیاهی گزارش‌شده است (هوتیچسون و کیبر[3]، ۲۰۰۲). همچنین در گونه‌های متعلق به خانواده چتریان ازجمله زیره، کرفس کوهی و آنغوزه نیز تأثیر سیتوکینین‌ها بر بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و رفع خفتگی در بذر این گونه‌ها به اثبات رسیده است (پوراسماعیل و شریفی[4]، ۲۰۰۳، حسنی و همکاران، ۲۰۰۹). همچنین پارسا[5] و همکاران (۲۰۱۶) بهبود جوانه‌زنی در بذرهای باریجه تحت تأثیر تیمار بذرها با استفاده از بنزیل آمینوپورین را گزارش کردند.

مهم‌ترین چرخه‌های کنترل خفتگی و جوانه‌زنی در بذرها با سنتز هورمون‌های کلیدی جیبرلین، اتیلن، سیتوکنین و ابسیزیک اسید ارتباط دارد (باسکین و باسکین، ۲۰۰۴) جیبرلین، سیتوکینین و اتیلن به‌عنوان محرک‌های رشد و جوانه‌زنی و آبسیزیک اسید نیز به‌عنوان بازدارنده جوانه‌زنی و تحریک سازوکارهای القاء خفتگی معرفی‌شده‌اند (گشنیزجانی[6] و همکاران، ۲۰۱۸). شواهد زیادی برای نقش اصلی جیبرلین و ابسیزیک اسید در تنظیم جوانه‌زنی و خفتگی ارائه‌شده است (خان[7]، ۱۹۷۱؛ کارسن[8] و همکاران، ۱۹۸۹). اسید اسید جیبرلیک می‌تواند باعث تحریک و فعال شدن آنزیم‌های تجزیه‌کننده شوند. این آنزیم‌ها موجب تولید موادی با خاصیت اسمزی در سلول‌های جنینی می‌شوند که با کاهش پتانسیل اسمزی سلول، افزایش جذب آب و درنهایت طویل شدن سلول منجر به تحریک جوانه‌زنی می‌شوند (خان، ۱۹۹۴). جیبرلین‌ها با دخالت در مسیر رونویسی و ترجمه ژن‌های کد کننده آنزیم‌های هیدرولیز کننده مهم در فرایند جوانه‌زنی و تسریع فرایندهای کاتابولیک و به دنبال آن تولید انرژی و سنتز ترکیبات موردنیاز برای جنین شده و از این طریق موجب رفع خفتگی و القای جوانه‌زنی در بذرها می‌شود (بیولی و همکاران، ۲۰۱۳).

سیتوکینین‌ها نیز نقش اصلی در تحریک تقسیم سلولی، طویل شدن سلول و درنهایت و تحریک رشد را در سلول‌های گیاهی بر عهده دارند (ورنر و لینگ[9]، ۲۰۰۹). اثرات سیتوکینین بر جوانه‌زنی بذرها به‌طور کامل مشخص نیست. بااین‌حال، مطالعات متعدد نشان داده‌اند که سیتوکینین‌ها می‌توانند روی جوانه‌زنی به‌ویژه هنگامی‌که شرایط جوانه‌زنی بذرها نامطلوب بوده و موانعی برای جوانه‌زنی وجود داشته باشد مؤثر واقع شوند (هوتچیسون، ۲۰۰۲؛ کاکیموتو[10]، ۲۰۰۳). سیتوکینین‌ها همچنین می‌توانند موجب تعادل سطح اکسین در بذر شده و از طرفی نیز با مهار فرایند اکسیداسیون، از افزایش شدید تنفس جلوگیری کرده و موجب عدم اخلال در فرایند جوانه‌زنی توسط ترکیبات بازدارنده و به دنبال آن بهبود در فرایند جوانه‌زنی شوند (وانگ[11] و همکاران، ۲۰۱۱).

طبق نتایج این مطالعه مشخص شد بذرهای جمعیت‌های باریجه دارای رفتار جوانه‌زنی متفاوتی بوده و همچنین پاسخ به تیمارهای مختلف ازجمله سرمادهی مرطوب و پیش‌تیمارهای هورمونی در هر جمعیت از الگوی متفاوتی پیروی می‌کند. به‌طوری‌که تیمار سرمادهی مرطوب در رفع خفتگی بذرهای جمعیت اول نسبت به جمعیت دوم مؤثرتر واقع شد (شکل ۲). همچنین رفتار جوانه‌زنی و رفع خفتگی بذرهای هر

[1] Rahnama-Ghahfarokhi and Tavakkol-Afshari
[2] Rouhi
[3] Hutchison and Kieber
[4] Pouresmaeil and Sharifi
[5] Parsa
[6] Geshnizjani
[7] Khan
[8] Karssen
[9] Werner and Schmülling
[10] Kakimoto
[11] Wang

جمعیت در پیش‌تیمارهای مختلف هورمونی از هم متمایز بود (شکل‌های ۴ تا ۷). محققان بیان کردند رفتار جوانه‌زنی در توده‌های مختلف یک‌گونه می‌تواند متفاوت باشد. برای مثال نصیری[1] و همکاران (۲۰۱۶) با مقایسه رفتار جوانه‌زنی و همچنین پاسخ جوانه‌زنی بذرهای گلپر نشان دادند هر جمعیت از رفتار جوانه‌زنی متمایزی برخوردار بوده و همچنین میزان تأثیرگذاری تیمارهای سرمادهی بر رفتار جوانه‌زنی بذرها نیز در بذر جمعیت‌های مختلف، متفاوت بود. تفاوت در رفتار جوانه‌زنی و سطوح خفتگی بذرها در ارقام یا جمعیت‌های مختلف یک‌گونه در سایر گونه‌های خودرو و حتی گونه‌های زراعی همانند تاتوره، موسیر و جو نیز گزارش‌شده است (قائمی‌زاده[2] و همکاران، ۲۰۱۱؛ بازیار[3] بازیار[3] و همکاران، ۲۰۱۵، ملک[4] و همکاران، ۲۰۲۰). ترکیبی از عوامل مختلف محیطی و ژنتیکی می‌تواند موجب تفاوت در رفتار جوانه‌زنی بذرهای جمعیت‌های مختلف یک‌گونه شود (فینچ-سواج و لوبنر-متزگر، ۲۰۰۶). البته نقش تفاوت‌های ژنتیکی در این امر بسیار کمتر بوده و معمولاً اختلافات کمی از لحاظ ساختار ژنتیکی بذر جمعیت‌های مختلف یک‌گونه وجود دارد. در مقابل عوامل محیطی مهم‌ترین عامل بروز این تفاوت‌ها می‌باشد. به‌طوری‌که شرایط اقلیمی مختلف ازجمله دما، طول روز و میزان بارش در دوره رشد و نمو گیاهان به‌ویژه شرایط محیطی در دوره پر شدن و نمو بذرها از مهم‌ترین عوامل مؤثر در رفتار جوانه‌زنی و همچنین سطوح خفتگی بذرها می‌باشد (بیولی و بلک[5]، ۲۰۱۲). برای مثال بذرهایی که در دوره نمو روی پایه مادری شرایط آب و هوایی سردتری را تجربه می‌کنند معمولاً دارای سطوح خفتگی بیشتری از بذرهایی هستند که در شرایط آب‌وهوایی گرم‌تری نمو می‌یابند. همچنین معمولاً بذرهایی که در دوره پر شدن بذر طول روزهای بلندتری را تجربه می‌کنند معمولاً سطوح عمیق‌تری از خفتگی را دارا هستند (بیولی[6] و همکاران، ۲۰۱۳).

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی نتایج این مطالعه حاکی از تفاوت سطوح خفتگی در جمعیت‌های مختلف باریجه بود. همچنین، از آنجا که تیمار سرمادهی مرطوب و پیش‌تیمارهای هورمونی به‌طور قابل‌توجهی موجب رفع خفتگی بذرها شد، می‌توان گفت که بذرها دارای خفتگی مورفوفیزیولوژیک هستند. از طرفی با توجه به تأثیر قابل‌توجه پیش‌تیمارهای هورمونی بر رفع خفتگی بذرها می‌توان نتیجه گرفت بخشی از بذرها دارای سطح حد واسط (نیمه‌عمیق) فیزیولوژیک هستند. این در صورتی است که سایر محققان خفتگی بذرهای باریجه را بیشتر از نوع خفتگی مورفوفیزیولوژیک عمیق و پیچیده معرفی کردند. بنابراین انجام مطالعات تکمیلی در این خصوص بر روی جمعیت‌های مختلف باریجه ضروری می‌باشد. همچنین طبق نتایج این مطالعه و سایر پژوهش‌های انجام شده بر روی بذرهای باریجه مؤثرترین تیمار در رفع خفتگی بذرهای این‌گونه گیاهی تیمار سرمادهی مرطوب می‌باشد. از طرفی اعمال و استفاده از این تیمار تنها در مقیاس آزمایشگاهی قابل‌اجرا بوده و زمانی که نیاز به کشت این گیاه در مزارع یا مراتع می‌باشد استفاده از این تیمار نمی‌تواند کاربردی باشد چراکه نمی‌توان بذرها را با رطوبت بالا برای کاشت استفاده کرد. همان‌طور که بر اساس نتایج این مطالعه مشخص شد خشک‌کردن بذرها پس از اعمال تیمار سرمادهی موجب کاهش قابلیت جوانه‌زنی بذرها می‌گردد. بنابراین انجام مطالعات بیشتر در رفع این مشکل و به عبارتی بهینه‌سازی و کاربردی‌سازی این تیمارهای رفع خفتگی به‌ویژه سرمادهی مرطوب، یکی از ضروریات تحقیقاتی در رفع خفتگی و زراعی‌سازی این‌گونه ارزشمند گیاهی می‌باشد.

---

[1] Nasiri
[2] Ghaemizadeh
[3] Bazyar
[4] Malek
[5] Bewley and Black
[6] Bewley

منابع

Aihua, L., Shunyuan, J., Guang, Y., Ying, L., Na, G., Tong, C., Liping, K. and Luqi, H. 2018. Molecular mechanism of seed dormancy release induced by fluridone compared with cold stratification in *Notopterygium incisum*. BMC Plant Biology, 18(1): 1-16. https://doi.org/10.1186/s12870-018-1333-2

Bagheri, S.M., Mohamadsadeghi, H. and Hejazian, E.S. 2017. Antinociceptive effect of seed's essential oil of *Ferula assa-foetida* in mice. International Journal of Clinical and Experimental Physiology, 4(1): 34-37. https://doi.org/10.4103/ijcep.ijcep_5_17

Baskin, C.C. and Baskin, J.M. 2014. Seeds ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. Second edition. San Diego, CA: Academic Press.

Baskin, J.M. and Baskin, C.C. 2004. A classification system for seed dormancy. Seed Science Research, 14: 1-16. https://doi.org/10.1079/SSR2003150

Bazyar, S., Najafi, H. and oveysi, M. 2015. Differences in germination of Datura weed seed mass influenced by different climatic conditions during different seasons. Journal of Weed Research, 7: 43-51. [In Persian with English Summary].

Bewley, J.D, Black, M. and Halmer, P. 2006. The encyclopedia of seeds: science, technology and uses. Wallingford, UK: CAB International.

Bewley, J.D. and Black, M. 2012. Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination: volume 2: viability, dormancy, and environmental control. Springer Science & Business Media. 306-312.

Bewley, J.D., Bradford, K.J. Hilhorst, H.W.M. and Nonagaki, H. 2013. Seeds: physiology of development, germination and dormancy, 3th Edition. Springer. New York Heidelberg Dordrecht London, Switzerland. 392p.

Butler, L.H., Hay, F.R., Ellis, R.H., Smith, R.D. and Murray, T.B. 2009. Priming and re-drying improve the survival of mature seeds of *Digitalis purpurea* during storage. Annals of Botany, 103: 1261-1270. https://doi.org/10.1093/aob/mcp059

Chen, S.Y., Chou, S.H., Tsai, C.C., Hsu, W.Y., Baskin, C.C., Baskin, J.M., and Kuo-Huang, L.L. 2015. Effects of moist cold stratification on germination, plant growth regulators, metabolites and embryo ultrastructure in seeds of *Acer morrisonense* (Sapindaceae). Plant Physiology and Biochemistry, 94: 165-173. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.06.004

El-Kassaby, Y. A., Moss, I., Kolotelo, D. and Stoehr, M. 2008. Seed germination: mathematical representation and parameters extraction. Forest Science, 54(2): 220-227.

Finch-Savage, W.E. and Leubner-Metzger, G. 2006. Seed dormancy and the control of germination. New Phytologist, 171(3): 501-523. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01787.x

Geshnizjani, N., Ghaderi-Far, F., Willems, L.A., Hilhorst, H.W. and Ligterink, W. 2018. Characterization of and genetic variation for tomato seed thermo-inhibition and thermo-dormancy. BMC Plant Biology, 18: 1-12. https://doi.org/10.1186/s12870-018-1455-6

Ghaemizadeh, F., Dashti, F. and Ghahremani-majd, H. 2011. Study of dormancy and seed germination in different populations of shallots, 7th Iranian Congress of Horticultural Sciences, Isfahan. [In Persian with English Summary].

Hassani, S. 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, 33(1): 75-85.

Hutchison, C.E. and Kieber, J.J. 2002. Cytokinin signaling in Arabidopsis. The Plant Cell, 14: 47-59. https://doi.org/10.1105/tpc.010444

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

Kakimoto, T. 2003. Biosynthesis of cytokinins. Journal of Plant Research, 116(3): 233-239. https://doi.org/10.1007/s10265-003-0095-5

Karssen, C.M., Zagorski, S., Kepczynski, J. and Groot, S. 1989. Key role for endogenous gibberellins in the control of seed germination. Annals of Botany, 63(1): 71-80. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a087730

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(1): 45-51.

Khan, A.A. 1971. Cytokinins: permissive role in seed germination. Science, 171: 853-859. https://doi.org/10.1126/science.171.3974.853

Khan, A.A. 1994. Induction of dormancy in non-dormant seeds. Journal of the American Society for Horticultural Science, 119(3): 408-413. https://doi.org/10.21273/JASHS.119.3.408

Koster, K.L. and Leopold, A.C. 1988. Sugars and desiccation tolerance in seeds. Plant Physiology, 88(3): 829-832. https://doi.org/10.1104/pp.88.3.829

Labbafi-hoseinabadi, M., Mehrafarin, A., Naghdiabadi, H., Tavakkoli, M. and Ghorbani-nohuji, M. 2018. Evaluation of the effect of different chemical and non-chemical treatments on seed dormancy failure of *Ferula gummosa* Boiss.. Ecophytochemistry of Medicinal Plants, 6: 80-88. [In Persian with English Summary].

Malek, M., Hamidi, S., Ghaderi-Far, F., Gorzin, M., Pahlavani, M.H. and Esmaeilzadeh Moghaddam, M. 2020. Quantification of temperature effects on germination and induction of secondary dormancy in barley cultivars. Environmental Stresses in Crop Sciences, 13: 995-1007. [In Persian with English Summary]

Mozaffarian, V. 2004. Dictionary of Iranian Plants. Contemporary culture. Tehran, pp. 228-229. [In Persian].

Nasiri, M., Yazdanbakhsh, N. and Falahati Anbaran, M. 2016. Investigation of the effect of chilling duration on seed germination of different populations of *Heracleum persicum*. Iran, 19th National Congress and 7th International Congress of Iranian Biology, Tabriz. [In Persian with English Summary].

Paparella, S., Araújo, S.S., Rossi, G., Wijayasinghe, M., Carbonera, D. and Balestrazzi, A. 2015. Seed priming: state of the art and new perspectives. Plant Cell Reports, 34(8): 1281-1293. https://doi.org/10.1007/s00299-015-1784-y

Parsa, S., Ahmadi, K., Gazanchian, A. and Mahmoodi, S. 2016. Effect of chilling medium and dormancy breaking treatments on seed germination of galbanum (*Ferula gummosa* Boiss.). Journal of Seed Ecophysiology, 1: 201-215. [In Persian with English Summary].

Pouresmaeil, M. and Sharifi, M. 2003. Dormancy-Breaking in *Bunium persicum* seeds by stratification and some cytokinins. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 19: 183-193. [In Persian with English Summary].

Powell, A.A., Yule, L.J., Jing, H.C., Groot, S.P., Bino, R.J. and Pritchard, H.W. 2000. The influence of aerated hydration seed treatment on seed longevity as assessed by the viability equations. Journal of Experimental Botany, 5: 2031-2043. https://doi.org/10.1093/jexbot/51.353.2031

Rahnama-Ghahfarokhi, A. and Tavakkol-Afshari, R. 2007. Methods for dormancy breaking and germination of galbanum seeds (*Ferula gummosa*). Asian Journal of Plant Sciences, 6(4): 611-616. https://doi.org/10.3923/ajps.2007.611.616

Rostami, M. and Tavakkol-Afshari, R. 2014. Determining the type of dormancy of Galbanum seeds of Damavand mass (*Ferula gummosa* Bioss.) And determining the seed requirements for dormancy breaking. Journal of Crop Science, 2: 255-263. [In Persian]

Rouhi, H.R., Rahmati, H., Saman, M., Shahbodaghloo, A.R., Karimi, F.A., Moosavi, S.A. and Karimi, F. 2012. The effects of different treatments on dormancy-breaking of Galbanum seeds (*Ferula gummosa* Boiss.). International Journal of AgriScience, 2(7): 598-604.

Salar, N.A., EZ, A.H. and Taherian, K. 2002. A survey on cultivation and propagation methods of *Ferula gummosa* in Semnan Province.

Sharifi, H., Khajeh-Hosseini, M. and Rashed-Mohassel, M. H. 2015. Study of seed dormancy in seven medicinal species from Apiaceae. Iranian Journal of Seed Research, 2 (1): 25-36

Sharifi, H., Nemati, A. and Gerdakaneh, M. 2017. Breaking seed dormancy and improve germination of four medicinal species of Apiaceae by gibberellic acid and prechilling treatments. Iranian Journal of Seed Science and Research, 4: 27-38. [In Persian with English Summary]

Sharifi, M., and Pouresmael, M., 2006. Breaking seed dormancy in *Bunium persicum* by stratification and chemical substances. Asian Journal of Plant Sciences, 5: 695-699

Shayanfar, A., Ghaderi-Far, F., Behmaram, R., Soltani, A. and Sadeghipour, H. R. 2018. Assessment of germination and secondary dormancy behaviours of lines and cultivars of canola. Journal of Crops Improvement, 19(4). [In Persian with English Summary]

Soltani, E., Baskin, C.C., Baskin, J.M., Soltani, A., Galeshi, S., Ghaderi-far, F. and Zeinali, E. 2016. A quantitative analysis of seed dormancy and germination in the winter annual weed *Sinapis arvensis* (Brassicaceae). Botany, 94: 289-300. https://doi.org/10.1139/cjb-2015-0166

Wang, Y., Li, L., Ye, T., Zhao, S., Liu, Z., Feng, Y. Q., and Wu, Y. 2011. Cytokinin antagonizes ABA suppression to seed germination of Arabidopsis by downregulating ABI5 expression. The Plant Journal, 68(2): 249-261. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04683.x

Werner, T., and Schmülling, T. 2009. Cytokinin action in plant development. Current Opinion in Plant Biology, 12(5): 527-538. https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.07.002

Zardari, S. 2020. Factors affecting seed dormancy breakage in two medicinal plants; Giant Fennel (*Ferula ovina* Boiss.) and Galbanum (*Ferula gummosa* Boiss.). PhD thesis. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran. [In Persian with English Summary]

Zardari, S., Ghaderi-Far, F., Sadeghipour, H. R., Zeinali, E., Soltani, E., and Baskin, C.C. 2019. Deep and intermediate complex morphophysiological dormancy in seeds of *Ferula gummosa* (Apiaceae). Plant Species Biology, 34(3): 85-94. https://doi.org/10.1111/1442-1984.12238

Iranian Journal of Seed Research, 2022, 9(1): 127-146

Research Article

Dormancy and germination response of Galbanum seeds (*Ferula gummosa*) under different hormonal pre-treatments and cold stratification

Mohsen Malek[1], Farshid Hassani[2,*], Enayat Rezvani Khorshidi[2], Ali Shayanfar[2], Bita Oskoee[2], Abbas Dehshiri[2]

Extended Abstract

Introduction: Galbanum is one of the most important native medicinal plants in Iran, and nowadays the use of its products and derivatives has become widespread in various industries. Thus, the excessive harvest of this species within its natural habitats has increased. Therefore, the species is enlisted as prone to extinction. Due to the lack of information about germination behavior and dormancy alleviating or breaking methods of Galbanum seeds, less attention has been paid to this plant species by seed science researchers. Hence, this study was designed and performed to investigate the effects of different treatments on Galbanum seed dormancy-breaking.

Materials and Methods: In this study, two Galbanum seed populations were collected from Boyer-Ahmad pastures (Iran, Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad Province) and Pakan Bazr Isfahan Company (Iran). Seeds were exposed to a cold stratification test for 120 days and germinability and dormancy breaking responses were studied. Also, seed drying effects on germinability after exposure to stratification treatment were investigated to evaluate the practical aspects of this treatment. The impacts of different hormonal pre-treatments including gibberellic acid (GA_3) and cytokines (Kinetin, 6-Benzylaminopurine) at different concentrations on germination and dormancy behaviors were investigated so as to assess the effect of these treatments on seed dormancy breaking.

Results: Results showed that germination/dormancy behaviors of Galbanum populations were different and also the effect of different treatments on seeds germination and dormancy varied. An increase in germination was observed when stratification was applied for up to 60 days on two seed populations, thereafter germination decreased by prolonged stratification. Also, it was revealed that desiccation of the treated seeds after stratification reduced seed germination. Examining the cause of this issue revealed that the most important reason for the decrease in seed germination in long periods of stratification was the germination of seeds in the stratification bed and in other words, the difference in seed dormancy levels in different stratification periods. Seed germination behavior and dormancy breaking were improved significantly in both Galbanum populations when the different concentration of gibberellic acid and cytokinins was used.

Conclusion: The results of this study indicated the existence of different levels of seed dormancy in different Galbanum populations. It was also found that cold stratification and hormonal pre-treatment of seeds can be significantly effective in seed dormancy breaking. Eventually, it was concluded that Galbanum seed dormancy was classified as semi-deep and deep morphological dormancy due to the effects of different treatments.

Keywords: Kinetin, 6-Benzylaminopurin, Desiccation tolerance, Medicinal Plants

Highlights:

1- The effect of cold stratification treatments over long periods was investigated on Galbanum seed germination behaviors for the first time.
2- The desiccation of treated seeds under different cold stratification periods was studied on the germinability of Galbanum seeds for the first time.
3- AUC (Area under the curve) index was introduced as a practical index in seed dormancy breaking comparison for the first time in domestic research.

[1] M.Sc. of Seed Science and Technology, Seed and Plant Certification and Registration Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

[2] Assistant Professor, Seed and Plant Certification and Registration Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

[*]Corresponding author, E-mail: F.hassani@areo.ac.ir

http://dorl.net/dor/20.1001.1.23831251.1401.9.1.7.8

DOI: 10.52547/yujs.9.1.127

(Received: 08.24.2021; Accepted: 02.19.2022)