

Interaction of various scarification methods with cold stratification and gibberellin on dormancy breaking and growth of *Gundelia tournefortii*

Rayhaneh Amooaghaie^{1,2*}, Abolfazl Khodadadi¹

Extended abstract

Introduction: *Gundelia tournefortii* (L.) is a species of Irano-Turanian origin belonging to the Asteraceae family. The strongly lignified disseminule from the secondary capitulum on seeds causes certain challenges for the propagation of this plant. This study aimed to evaluate the best methods for breaking seed dormancy to enable large-scale production of *Gundelia tournefortii* (L.).

Materials and Methods: Initially, the interaction of various scarification methods (hot water, hydrochloric acid, scalpel, and sandpaper) with cold stratification (0, 1, 2, and 3 weeks) or GA3 (0, 250, 500, and 1000 mg/l) on seed dormancy breaking were investigated in two separate factorial experiments. Subsequently, the combined effect of GA3 and cold stratification on seed dormancy breaking of seeds scarified with a scalpel was assessed in a third experiment.

Results: The results indicated that all scarification methods significantly increased the emergence percentage and growth parameters of plantlets. Cold stratification and GA3 treatments enhanced these attributes more effectively in plantlets grown from seeds scarified with a scalpel or sandpaper compared to seeds treated with acid or hot water. In the first experiment, the highest emergence percentage (77%) was achieved from seeds scarified with a scalpel combined with 3 weeks of cold stratification. In the second experiment, the maximum emergence percentage (77%), plantlet length (17 cm), and the minimum mean emergence time (11 days) were obtained from seeds scarified with a scalpel and treated with 500 mg/l GA3. The results of the third experiment showed that the application of GA3 reduced the required duration of cold stratification by approximately 1 week to achieve the maximum emergence percentage, dry weight of plantlets, and the minimum mean emergence time.

Conclusions: The findings demonstrate that *Gundelia tournefortii* (L.) seeds exhibit a combination of physical and non-deep physiological dormancy. The highest emergence percentage (81.5%) and the lowest mean emergence time (8 days) can be achieved through scarification with a scalpel followed by cold stratification or GA3 treatment.

Keywords: Cold stratification, GA3, Hot water, Hydrochloric acid, Sandpaper, Scalpel, Seed dormancy

Highlights:

1. The most significant effect on dormancy breaking was achieved through scarification, particularly with a scalpel.
2. There was a significant interaction between various scarification methods and levels of cold stratification or GA3 concentrations.
3. Applying cold stratification or GA3 to non-scarified seeds had little to no effect on emergence percentage and seedling growth.

¹ Plant Science Department, Faculty of Science, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

² Biotechnology Research Institute, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

*Corresponding author, E-mail: amooaghaie@sku.ac.ir

DOI: [10.61186/yujs.11.2.77](https://doi.org/10.61186/yujs.11.2.77)



ISSN: 2383-1480 (On-Line); 2383-1251 (Print)



Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Received: 7.7.2024; Revised: 11.1.2025;
Accepted: 15.1.2025; Online Published: 21.3.2025

برهمکنش شیوه‌های مختلف خراش‌دهی، چینه سرمایی و جیبرلین بر شکست خواب و رشد کنگر وحشی (*Gundelia tournefortii*)

ریحانه عموآقایی^{۱*} و ابوالفضل خدادادی^۲

چکیده مبسوط

مقدمه: کنگر وحشی *Gundelia tournefortii* L. یک گونه ایران-تورانی از تیره کاسنی است. پوشش به شدت لیگنی شده حاصل از کاپیتول ثانویه روی بذر تکثیر این گیاه را با مشکلاتی روبرو می‌کند. این مطالعه کمک می‌کند تا بهترین روش‌های شکست خواب بذر برای تولید کنگر در مقیاس وسیع ارزیابی شود.

مواد و روش‌ها: ابتدا در دو آزمایش فاکتوریل جداگانه برهمکنش شیوه‌های مختلف خراش‌دهی (آب داغ، اسید کلریدریک، اسکالپل و سنباده) با سطوح چینه سرمایی (صفر، ۱، ۲ و ۳ هفته) و یا با جیبرلین (صفر، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) روی شکست خواب بذر تحقیق شد. سپس اثر ترکیبی جیبرلین و سرمادهی مرطوب بر شکست خواب بذرهای خراش‌دهی شده با اسکالپل در آزمایش سوم ارزیابی شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که همه شیوه‌های مختلف خراش‌دهی، در حد معنی‌داری درصد ظهور و رشد گیاهچه را افزایش دادند. تیمار سرمادهی مرطوب و یا جیبرلین، این صفات را برای بذرهای خراش‌دهی شده با اسکالپل و سنباده بطور مؤثرتری نسبت به بذرهای تیمار شده با اسید یا آب داغ، تقویت کرد. در اولین آزمایش، بالاترین درصد ظهور (۷۷٪) در بذرهای خراش‌دهی شده با اسکالپل همراه با ۳ هفته چینه سرمایی حاصل شد. در دومین آزمایش، بیشترین درصد ظهور (۷۷٪) و طول گیاهچه (۱۷ سانتی‌متر) و کمترین میانگین زمان جوانه‌زنی (۱۱ روز) در بذرهای خراش‌دهی شده با اسکالپل و تیمار شده با ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین بدست آمد. نتایج آزمایش سوم نشان داد که کاربرد جیبرلین طول دوره چینه سرمایی مورد نیاز برای حصول بیشترین درصد ظهور و وزن خشک گیاهچه و کمترین میانگین زمان ظهور را تقریباً یک هفته کاهش داد.

نتیجه‌گیری: نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که بذرهای کنگر یک خواب ترکیبی شامل خواب فیزیکی و خواب فیزیولوژیکی غیرعمیق دارند و می‌توان با تیمارهای خراش‌دهی با اسکالپل و سپس چینه سرمایی یا تیمار با جیبرلین به بیشترین درصد ظهور (۸۱/۵٪) و کمترین میانگین زمان ظهور (۸ روز) دست یافت.

واژه‌های کلیدی: اسید کلریدریک، اسکالپل، آب داغ، جیبرلین، خواب بذر، سنباده، سرمادهی مرطوب

جنبه‌های نوآوری:

- ۱- بیشترین اثر مستقل روی شکست خواب بوسیله خراش‌دهی بخصوص با اسکالپل بدست آمد.
- ۲- بین شیوه‌های مختلف خراش‌دهی با سطوح چینه سرمایی و یا با غلظت‌های جیبرلین برهمکنش معنی‌داری وجود داشت.
- ۳- کاربرد چینه سرمایی و یا جیبرلین روی دانه‌های خراش‌دهی نشده هیچ اثری نداشت و با اثر کمی روی درصد ظهور و رشد گیاه داشت.

DOI: 10.61186/yuj.11.2.77

^۱ گروه زیست گیاهی، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

^۲ مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

*رایانامه نویسنده مسئول: amooaghaie@sku.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۴/۱۷؛ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۱۰/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۲۶؛ تاریخ انتشار برخط: ۱۴۰۳/۱۲/۲۹

شاپا: ۱۴۸۰-۲۳۸۳ (برخط): ۱۲۵۱-۲۳۸۳ (چاپی)



مقدمه

خواب بذر وضعیت ویژه‌ای است که حتی وقتی بذرهای یک گیاه در شرایط مناسب محیطی (رطوبت، دما و...) قرار گیرند، باز هم جوانه‌زنی رخ ندهد (بیولی^۱ و همکاران، ۲۰۱۳، باسکین و باسکین^۲، ۲۰۱۴). خواب بذر ممکن است ناشی از نقص جنین یا مربوط به سختی مکانیکی یا نفوذناپذیری پوسته بذر نسبت به آب یا گازهایی مانند اکسیژن یا دی‌اکسید کربن باشد. بذرهای برخی از گیاهان دارای خواب دوگانه از نوع فیزیکی و فیزیولوژیکی هستند (کیلدیشوا^۳ و همکاران، ۲۰۲۰). شکست خواب ترکیبی فیزیکی و فیزیولوژیکی یک فرآیند دو مرحله‌ای است: در مرحله اول، لازم است که به لایه سلول‌های نفوذناپذیر آسیب وارد شود تا امکان جذب آب در دانه فراهم شود. در مرحله دوم، بذرها باید یک سیگنال محیطی دریافت کنند تا رشد جنین را برای غلبه بر محدودیت مکانیکی بافت‌های اطراف جنین تقویت کنند (باسکین و باسکین، ۲۰۱۴). روش‌های مختلفی مانند خراش‌دهی شیمیایی (تیمار با اسیدها یا آنزیم‌های هیدرولیتیک) یا مکانیکی (مانند ساییش با سنباده یا اشیای دیگر) برای تحریک جوانه‌زنی بذرهای دارای خواب فیزیکی مانند بذرهای زالک (*Crataegus spp.*) و گون مرتعی (*Astragalus cyclophyllu*) پیشنهاد شده است (همتی‌فر^۴ و همکاران، ۲۰۱۸، رستمی‌پور^۵ و همکاران، ۲۰۲۰). این در حالی است که تیمار با جیبرلین، و سرمادهی مرطوب قادر به شکست خواب بذرهایی است که خواب فیزیولوژیک دارند (ایستا^۶، ۲۰۲۰). خواب بعضی از بذرهایی که همزمان با خواب مکانیکی، دارای خواب فیزیولوژیکی نیمه عمیق هم هستند پس از خراش‌دهی با یک دوره تیمار سرمادهی مرطوب برطرف می‌شود (پروین^۷ و همکاران، ۲۰۱۵). مهربانی و حاجی‌نیا^۸ (۲۰۱۹) در پژوهشی دریافتند که بذر گون سفید (*Astragalus gossypinus*) دارای خواب از نوع فیزیکی و فیزیولوژیکی

است و بهترین روش تحریک جوانه‌زنی آن تیمار سرمادهی مرطوب به مدت دو هفته و خراش‌دهی با اسید سولفوریک به مدت ۱۰ دقیقه می‌باشد. یک مطالعه دیگر نشان داد که تیمار ترکیبی خراش‌دهی با سنباده و فرو بردن در جیبرلین به مدت ۴۸ ساعت جوانه‌زنی بذر گیاه گرگ‌خار (*Ammodendron persicum*) را در حد مطلوبی افزایش داد (ارست^۹ و همکاران، ۲۰۱۶).

خواب فیزیولوژیکی رایج‌ترین نوع خواب بذر است که در بازدانگان و تمام کلادهای اصلی نهاندانگان رخ می‌دهد (بیولی و همکاران، ۲۰۱۳). باسکین و باسکین (۲۰۲۳) هم در بررسی انواع خواب در تیره کاسنی گزارش کردند که در اغلب گیاهان این تیره، خواب بذر از نوع خواب فیزیولوژیکی غیرعمیق است. در بذرهای دارای خواب فیزیولوژیکی، جنین پتانسیل رشد کمی دارد و بدون دریافت نشانه‌ها از محیط اطراف، نمی‌تواند بر محدودیت‌های مکانیکی بافت‌های اطراف خود (مانند آندوسپرم، پوسته بذر یا پوسته میوه) غلبه کند (کیلدیشوا و همکاران، ۲۰۲۰). نشانه‌های محیطی مانند سرما یا نور، مسیر پیام‌رسانی شیمیایی داخلی (مانند تغییر در نسبت و حساسیت به هورمون‌های داخلی بذر) را راه‌اندازی می‌کنند که موجب شکست خواب و پیشرفت جوانه‌زنی می‌شود (ویتبرجت^{۱۰} و همکاران، ۲۰۱۱). به همین دلیل، چینه‌سرمایی یا سرمادهی مرطوب اغلب یک روش جانشین، برای شکست زود هنگام خواب فیزیولوژیکی بذرها است. این روش شامل قراردادن بذرهایی که آب جذب کرده‌اند در دمای کمتر از ۱۰ درجه سلسیوس است و شرایطی مشابه دوره سرمای زمستانی در طبیعت را ایجاد می‌کند (کیلدیشوا و همکاران، ۲۰۲۰). سرمادهی مرطوب بسیاری از مراحل متابولیسم و نمو جنین را تحت تاثیر قرار می‌دهد. بطوری که در بذرهای سرمادهی شده، جذب اکسیژن و انرژی در سلول‌های محور جنینی و همچنین فعالیت آنزیم‌های آمیلاز، فسفاتاز، لیپاز و پراکسیداز افزایش می‌یابد و با ایجاد تغییرات فیزیولوژیکی ویژه موجب رشد رویان بذر می‌شود (بیولی و همکاران، ۲۰۱۳). همچنین تحقیقات نشان داده است که پس از سرمادهی ژن *GA30x1* در محور جنینی بیان می‌شود و

¹ Bewley² Baskin and Baskin³ Kildisheva⁴ Hematifar⁵ Rostamipoor⁶ ISTA⁷ Parvin⁸ Mehrabi and Hajinia⁹ Arast¹⁰ Weitbrecht

پاداکسیدانی بذر این گیاه به دلیل دارا بودن مقدار زیادی از توکوفرول‌ها، اسیدهای چرب و استرول‌ها به مراتب بیشتر از سایر اجزای این گیاه است (ماتاووس و ازکون^۶، ۲۰۱۱). همچنین ثابت شده است که با توجه به سطوح بالای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها از عصاره این گیاه می‌توان در صنایع دارویی، غذایی و پزشکی و در تولید محصولات بهداشتی و آرایشی به عنوان یک منبع پاد-اکسیدانی جایگزین استفاده کرد (اوزکون^۷ و همکاران، ۲۰۱۱). در ایران هم علاقه برای مصرف این گیاه، با ارزش از حیث دارویی، اقتصادی، خوراکی و علوفه دام روزافزون است. لیکن برداشت غیر علمی و نادرست این گیاه ارزشمند از رویشگاه‌های طبیعی از یک طرف و خواب بذر آن از طرف دیگر باعث محدودیت عرصه‌های طبیعی این گیاه شده است و برای کشت و زرع این گیاه، یافتن روش‌های عملی برای شکست خواب و القای جوانه‌زنی بذرهای ضروری است.

بررسی منابع نشان می‌دهد که نتایج گزارش شده درباره خواب بذر کنگر وحشی بسیار متناقض است. مثلاً ویسی^۸ و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که بدون رفع ممانعت فیزیکی پوسته، هیچ تیماری برای شکست خواب بذر کنگر موثر نیست. در مقابل، پناهی و ارست^۹ (۲۰۱۹b) اعلام کردند تیمار تلفیقی جیبرلین با غلظت ۵۰۰ میلی گرم در لیتر و چینه‌سرمایی به مدت ۱۴ روز منجر به ۸۰ درصد جوانه‌زنی بذرهای خراش‌دهی نشده این گیاه شد. بنابراین، در پژوهش حاضر برهمکنش شیوه‌های مختلف خراش‌دهی پوسته، با سرمادهی مرطوب و جیبرلین برای شکست خواب بذر و رشد بعدی گیاهچه‌های کنگر وحشی بطور گسترده‌تری نسبت به مطالعات مذکور مورد بررسی قرار گرفت تا بهترین تیمارها برای دستیابی به حداکثر جوانه‌زنی بذر و استقرار مطلوب گیاهچه‌های کنگر معرفی شود.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق بذرهای کنگر وحشی از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد که بر اساس گزارش این شرکت از

جیبرلین بطور قوی در آندوسپرم ناحیه سفت^۱ تجمع پیدا می‌کند که پیشنهاد می‌کند تولید و الگوی توزیع جیبرلین بعد از سرمادهی تغییر می‌کند. علاوه بر این چینه‌سرمایی بیان ژن‌های مربوط به متابولیسم و مسیر پیام‌رسانی وابسته به آبسیزیک اسید (ABA) را هم تغییر می‌دهد. در مجموع سرمادهی می‌تواند باعث افزایش جیبرلین و کاهش مقدار آبسیزیک اسید در بذرهای شود که نقش تحریک کننده برای جوانه‌زنی دارد (ویتبرچت و همکاران، ۲۰۱۱). مطالعه چن^۲ و همکاران (۲۰۱۵) هم نشان داد که پس از ۱۲ هفته سرمادهی، محتوای آبسیزیک اسید بذر کاهش و سطح جیبرلین در بذر *Acer morrisonense* بطور معنی‌داری افزایش یافت. به همین دلیل در برخی بذرهای، مانند کما (*Ferula ovina* Boiss) جیبرلین (غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر) توانست جایگزین نیاز سرمایی بذر شده و به شکست خواب بذر کمک کند (عموآقایی^۳، ۲۰۰۹). جیبرلین با افزایش عملکرد RNA - پلیمرز باعث افزایش میزان رونویسی DNA می‌شود و یا در مراحل ترجمه و رونویسی بعضی ژن‌ها و ساخت برخی پروتئین‌ها تغییراتی را ایجاد می‌نماید. از جمله آن‌که باعث تحریک ساخت آنزیم‌های هیدرولیز کننده ذخیره بذر (مانند آلفا امیلاز) می‌گردد که این آنزیم‌ها با تولید انرژی و تامین ترکیبات ساختاری مورد نیاز برای رشد و ظهور جنین باعث جوانه‌زنی بذر می‌شوند (پیری^۴ و همکاران، ۲۰۲۱). علاوه بر آن جیبرلین، پتانسیل رشد رویان بذر که قبلاً به واسطه حضور آبسیزیک اسید محدود شده، را بالا می‌برد و در نتیجه با افزایش توان رویان از یک سو و تضعیف لایه‌های آندوسپرم از سوی دیگر، جوانه‌زنی تسهیل می‌شود (دیبوجون و کورنف^۵، ۲۰۰۰).

گیاه کنگر با نام علمی (*Gundelia tournefortii* (L.) از جمله گیاهان با ارزش تیره کاسنی یا آفتابگردان (Asteraceae) است که گل، برگ، بذر و ریشه آن مصرف دارویی و خوراکی دارد و خواص ضد باکتریایی و پاداکسیدانی آن به اثبات رسیده است. ظرفیت

¹ Micropyle

² Chen

³ Amooaghaie

⁴ Piri

⁵ Debeaujon and Koornnef

⁶ Matthaus and Ozcan

⁷ Ozkan

⁸ Vaisi

⁹ Panahi and Arast

از رابطه ۱ و ۲ محاسبه شد (عموآقایی و خدادادی، ۲۰۲۳).

رابطه ۱:

$$100 \times \frac{\text{کل دانه رسته‌های ظهور کرده در روز آخر}}{\text{تعداد کل دانه های کاشته شده}} = \text{درصد ظهور}$$

رابطه ۲:

$$MET = \frac{\sum Dn}{\sum n}$$

که در آن n = تعداد نشاهای جدیداً ظاهر شده در روز D و D = روزهای پس از کاشت و $\sum n$ همان ظهور نهائی است. همچنین پس از ۴۵ روز گیاهچه‌های کنگر وحشی از پرلیت خارج و طول بخش هوایی و ریشه آنها اندازه‌گیری شد.

بررسی برهمکنش شیوه‌های خراش‌دهی و سطوح مختلف جیبرلین بر ظهور و رشد گیاهچه کنگر وحشی

در آزمایش دوم، برهمکنش روش‌های مختلف خراش‌دهی (شاهد بدون خراش‌دهی، ۲۰ دقیقه تیمار در اسید کلریدریک ۲۰ درصد، ده دقیقه سنباده‌زنی، شکاف پوشش دانه با اسکالپل و ۶۰ دقیقه خیساندن در آب جوش) و ۴ سطح هورمون جیبرلین در یک آزمایش فاکتوریل با طرح کاملاً تصادفی با ۶ تکرار بررسی شد. پس از خراش‌دهی بذر با روش‌های ذکر شده در بالا، مطابق طرح آماری بذرهای هر گروه و همچنین بذرهای دست نخورده گروه شاهد به مدت ۱۲ ساعت در محلول هورمون GA_3 با غلظت‌های صفر، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر خیسانده شدند. این سطوح جیبرلین بر اساس آزمایش قبلی روی گیاه مورد انتخاب شد (رفیعی و عموآقایی^۲، ۲۰۲۳). سپس بذرهای از محلول جیبرلین خارج و ۱۵ بذر از هر تیمار به گلدان‌های پر از پرلیت منتقل شدند. گلدان‌ها در دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند و هر روز به میزان مساوی با آب مقطر آبیاری شدند. تعداد نشاهای ظاهر شده در هر گلدان هر روز ثبت گردید و میزان ظهور نهائی و میانگین زمان ظهور مطابق با رابطه‌های ۱ و ۲ محاسبه شد. همچنین پس از ۴۵ روز گیاهچه‌های کنگر وحشی از پرلیت خارج و طول آنها اندازه‌گیری شد.

منطقه چلگرد استان چهار محال و بختیاری در سال ۱۴۰۰ جمع‌آوری شده بود. کلیه آزمایش‌های این تحقیق در سال ۱۴۰۱ اجرا شد.

بررسی برهمکنش شیوه‌های خراش‌دهی و سطوح چینه سرمایی بر ظهور و رشد گیاهچه کنگر وحشی

در آزمایش اول، برهمکنش روش‌های خراش‌دهی (بدون خراش‌دهی، خراش با اسید کلریدریک، سنباده‌زنی، شکاف پوشش بذر با اسکالپل و خیساندن در آب جوش) و ۴ سطح چینه سرمایی مرطوب (صفر، ۱، ۲ و ۳ هفته سرمادهی) در یک آزمایش فاکتوریل با طرح کاملاً تصادفی با ۶ تکرار بررسی شد. لازم به یادآوری است که با توجه به درشت بودن ساختار دربرگیرنده بذر کنگر و فضای لازم برای رشد هر گیاه، تعداد بذرهای در هر گلدان محدود اما تکرارها بیشتر در نظر گرفته شد تا حداقل ۹۰ بذر مورد آزمون قرار گیرد.

برای اعمال تیمارها، با توجه به اینکه پوشش حاصل از کاپیتول ثانویه روی بذر کنگر به شدت سخت و لیگنینی شده بود، در یک گروه بذرهای با اسکالپل یک شکاف (شبیه باز کردن ملایم دهانه دو نیمه پوست پسته) ایجاد شد. در گروه دوم بذرهای این پوشش ۱۰ دقیقه با سنباده خراش داده شد. در گروه سوم بذرهای ۲۰ دقیقه تیمار در اسید کلریدریک ۲۰ درصد و در گروه چهارم بذرهای ۶۰ دقیقه در آب جوش فرو برده شدند. در گروه پنجم هم بذرهای تیمار نشده و دست نخورده بعنوان گروه شاهد در نظر گرفته شدند. پس از خراش‌دهی بذرهای با شیوه‌های فوق، ۱۵ بذر از هر تیمار به گلدان‌های ۲ کیلوگرمی پر از پرلیت منتقل شدند و مطابق طرح آماری با قرار دادن تعدادی از این گلدان‌ها در یخچال با دمای ۴ درجه سلسیوس، چینه سرمایی مرطوب به مدت ۱، ۲ یا ۳ هفته اجرا شد. لازم به ذکر است که این سطوح سرمادهی و روش‌های خراش-دهی بر اساس یک آزمایش قبلی انتخاب شده است (عموآقایی و خدادادی^۱، ۲۰۲۳). پس از اتمام زمان سرمادهی، گلدان‌ها در دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند و هر روز به میزان مساوی با آب مقطر آبیاری شدند. تعداد نشاهای ظاهر شده در هر گلدان هر روز ثبت گردید. میزان ظهور نهائی و میانگین زمان ظهور (MET)

² Rafiei and Amooaghaie

¹ Amooaghaie and Khodadadi

بررسی برهمکنش جیبرلین و سرمادهی بر ظهور و رشد گیاهچه حاصل از بذره‌های خراش‌دهی شده با اسکالپل

دو آزمایش قبلی نشان داد که در بین انواع شیوه‌های خراش‌دهی، شکاف پوشش بذر با اسکالپل بهترین اثر را در شکست خواب بذر داشت و سرمادهی و جیبرلین هم توانستند ظهور و رشد گیاهچه‌های حاصل از بذره‌های خراش‌دهی شده با اسکالپل را در حد مطلوبی افزایش دهند. بنابراین، در آزمایش سوم اثر کاربرد ترکیبی جیبرلین و سرمادهی بر ظهور و رشد گیاهچه حاصل از بذره‌های خراش‌دهی شده با اسکالپل بررسی شد.

آزمایش بصورت فاکتوریل با طرح کاملاً تصادفی با دو سطح جیبرلین (صفر و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و ۴ سطح چینه‌سرمایی (مرطوب (صفر، ۱، ۲ و ۳ هفته سرمادهی) با ۶ تکرار اجرا شد. برای این منظور بذره‌های خراش‌دهی شده با اسکالپل در لابلای پرلیت مرطوب به مدت ۱، ۲ و ۳ هفته در یخچال سرمادهی شدند. پس از خروج بذره‌های هر گروه از یخچال، بذرها به ۲ دسته تقسیم شدند و یک دسته در آب مقطر (صفر میلی‌گرم در لیتر جیبرلین) و دسته دیگر در محلول ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین خیس‌اندازه شدند. پس از شستشو، بذرها به گلدان‌های حاوی پرلیت جدید منتقل و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند و هر روز به میزان مساوی با آب مقطر آبیاری شدند. تعداد نشاهای ظاهر شده در هر گلدان هر روز ثبت گردید و میزان ظهور نهائی و میانگین زمان ظهور مطابق با رابطه‌های ۱ و ۲ محاسبه شد. همچنین پس از ۴۵ روز گیاهچه‌های کنگر وحشی از پرلیت خارج و پس از خشک کردن در آون ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت، وزن خشک آنها با ترازوی حساس برآورد شد.

تجزیه آماری

تجزیه واریانس با نرم افزار SPSS ورژن ۲۲ و مقایسه میانگین، با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج

برهمکنش خراش‌دهی پوسته و سرمادهی بر ظهور و رشد گیاهچه کنگر وحشی

تجزیه واریانس نشان داد که اثر انواع شیوه‌های خراش‌دهی و سطوح مختلف سرمادهی و برهمکنش آنها بر همه شاخص‌های ظهور و رشد گیاهچه کنگر وحشی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بوده است (جدول ۱).

بررسی برهمکنش شیوه‌های مختلف خراش‌دهی و سطوح مختلف سرمادهی بر درصد ظهور نشان داد درحالی‌که سرمادهی به تنهایی اثر کمی بر درصد ظهور بذره‌های خراش‌دهی نشده داشت، در اکثر بذره‌های خراش‌دهی شده، درصد ظهور را در حد معنی‌داری افزایش داد (شکل ۱). بیشترین اثرات چینه‌سرمایی برای افزایش درصد ظهور و کاهش میانگین زمان ظهور برای بذره‌های خراش‌دهی شده با اسید کلریدریک با ۱ هفته سرمادهی، اما برای بذره‌های خراش‌دهی شده با سنباده و یا اسکالپل و بذره‌های تیمار شده با آب جوش با ۳ هفته سرمادهی بدست آمد (شکل ۱). شایان توجه است که ۳ هفته سرمادهی اثر منفی بر درصد ظهور در بذره‌های خراش‌دهی شده با اسید کلریدریک داشت و درصد ظهور این بذرها در مقایسه با بذره‌های خراش‌دهی شده با اسید و ۱ یا ۲ هفته سرمادهی شده و همچنین در مقایسه با بذره‌های خراش‌دهی شده با سنباده، اسکالپل و آب داغ به طور معنی‌داری کاهش یافت و میانگین زمان ظهور افزایش یافت (شکل ۱B). به عبارت دیگر بذره‌های خراش‌دهی شده با اسید در مدت ۳ هفته سرمادهی آسیب دیدند به طوری که درصد ظهور آنها کاهش و در مقابل میانگین زمان ظهور آنها افزایش یافت.

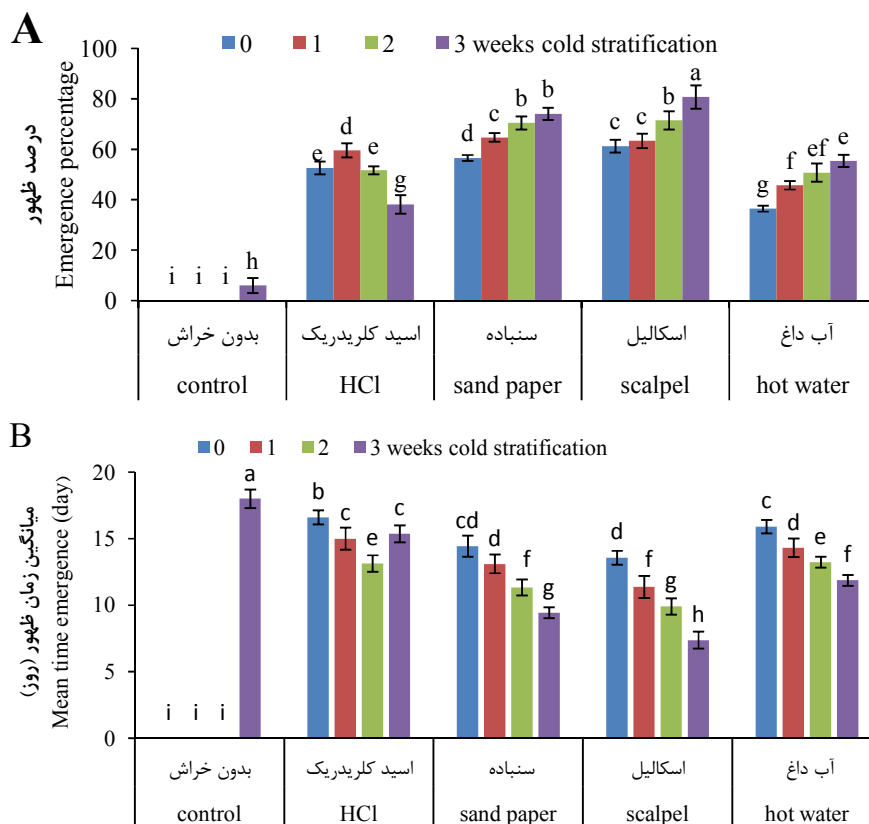
جدول ۱- تجزیه واریانس داده‌های حاصل از اثر شیوه‌های مختلف خراش‌دهی و سطوح سرمادهی بر شاخص‌های ظهور بذر و رشد گیاهچه کنگر وحشی

Table 1. The analysis of variance related to the effect of various scarification methods and cold stratification levels on emergence indices and growth of *Gundelia tournefortii*

S. O. V	منبع تغییرات	درجه آزادی df	درصد ظهور Emergence percentage	میانگین زمان ظهور Mean emergence time	طول بخش هوایی Shoot length	طول ریشه Root length
Scarification methods	شیوه‌های خراش‌دهی	4	7782**	343**	236**	305**
Stratification levels	سطوح چینه سرمایی	3	179 **	41.81**	3.56**	5.67**
Scarification × Stratification	چینه سرمایی × خراش‌دهی	12	290**	6.31**	2.47**	3.71**
Error	خطا	100	6.87	1.15	0.51	0.74
C.V. (%)	ضریب تغییرات (درصد)		11.4	16.4	10.2	19.9

** معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد

** Significant differences at 1% probability level



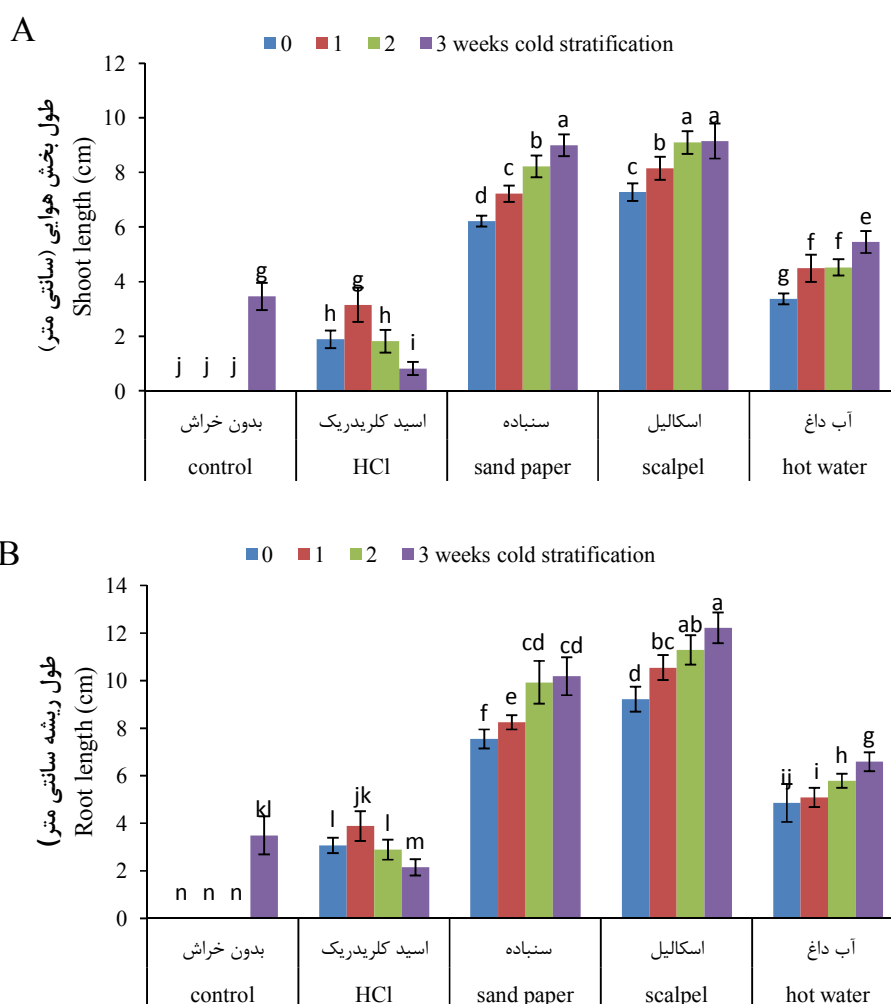
شکل ۱- برهمکنش شیوه‌های مختلف خراش‌دهی پوسته بذر و سطوح سرمادهی بر درصد ظهور (A) و میانگین زمان ظهور (B) کنگر وحشی. ستون‌های دارای حروف مشترک بر طبق آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

Fig. 1. The interaction of various methods of seed scarification and cold stratification levels on emergence percentage (A) and mean emergence time (B) of *Gundelia tournefortii*. The same letters indicate non-significant differences between treatments according to Duncan's multiple range tests at $P<0.05$.

عموآقایی و خدادادی: برهمکنش شیوه‌های مختلف خراش‌دهی، چینه‌سرمایی و جیبرلین بر شکست خواب...

اسید کلریدریک با سه هفته سرمادهی کمترین طول بخش هوایی و ریشه بدست آمد (شکل ۲). یک هفته سرمادهی طول بخش هوایی و ریشه این گیاهچه‌ها را به صورت معنی‌داری افزایش داد اما ۳ هفته سرمادهی این بذرها باعث شد طول ریشه و بخش هوایی گیاهچه‌ها حتی از بذره‌ای سرمادهی نشده هم کمتر شود که نشان می‌دهد سرمادهی طولانی نه تنها جوانه‌زنی بذره‌ای خراش‌دهی شده با اسید را کم می‌کند بلکه تاثیر منفی و نامطلوبی بر رشد بعدی گیاه حاصل از این بذرها دارد.

بررسی برهمکنش شیوه‌های مختلف خراش‌دهی و سطوح چینه‌سرمایی بر طول بخش هوایی (شکل ۲-۱) و طول ریشه (شکل ۲-۲) هم نشان داد با افزایش دوره سرمایی از صفر به ۳ هفته طول بخش هوایی و ریشه بذره‌ای خراش‌دهی شده با سنباده و اسکالپل و آب داغ در حد معنی‌داری افزایش یافت. بیشترین طول بخش هوایی و ریشه در بذره‌ای خراش‌دهی شده با اسکالپل با ۲ و ۳ هفته سرمادهی و سپس در بذره‌ای سنباده‌زده با سه هفته سرمادهی بدست آمد؛ اما در بذره‌ای تیمار شده با



شکل ۲- برهمکنش شیوه‌های مختلف خراش‌دهی پوسته بذر و سطوح سرمادهی بر رشد بخش هوایی (A) و ریشه (B) کنگر وحشی. ستون‌های دارای حروف مشترک بر طبق آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

Fig. 2. The effect of various methods of seed scarification and cold stratification levels on shoot (A) and root (B) length of *Gundelia tournefortii*. The same letters indicate non-significant differences between treatments according to Duncan's multiple range tests at $P < 0.05$.

برهمکنش انواع شیوه‌های خراش‌دهی پوسته و جیبرلین بر ظهور و رشد گیاهچه کنگر وحشی
 نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر مستقل و برهمکنش انواع شیوه‌های خراش‌دهی و سطوح مختلف جیبرلین بر درصد و میانگین زمان ظهور و طول گیاهچه در سطح احتمال ۱ یا ۵ درصد معنی‌دار بوده است (جدول ۲).

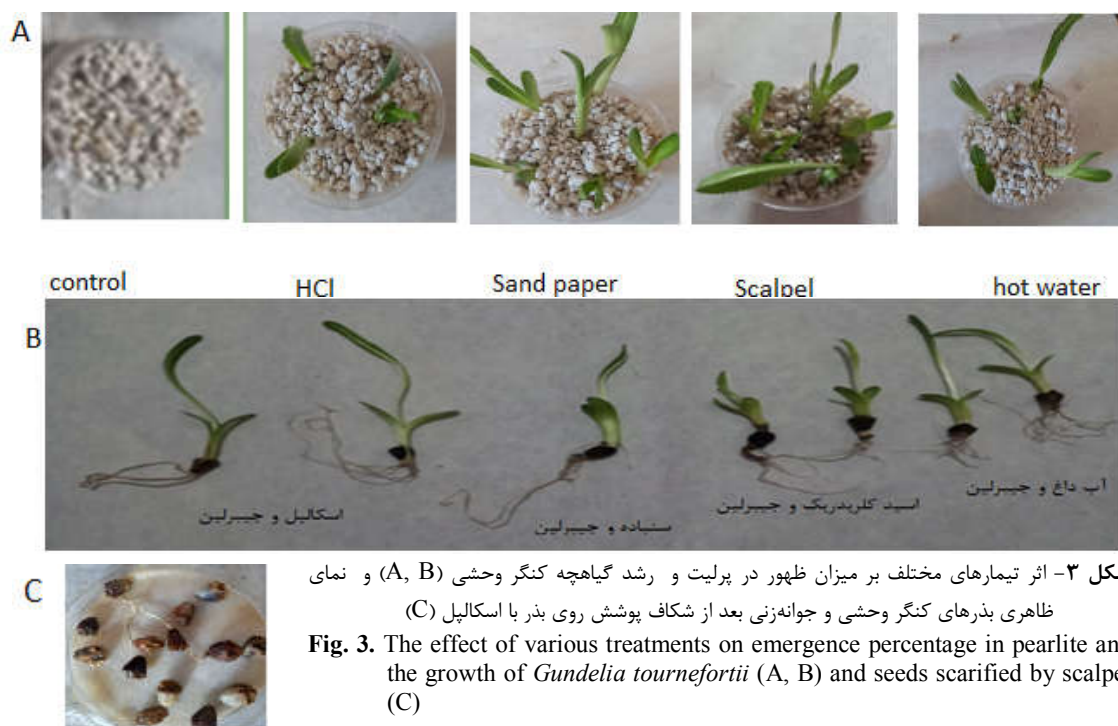
جدول ۲- تجزیه واریانس داده‌های حاصل از انواع خراش‌دهی و غلظت‌های مختلف جیبرلین بر درصد ظهور، میانگین زمان ظهور و طول گیاهچه کنگر وحشی

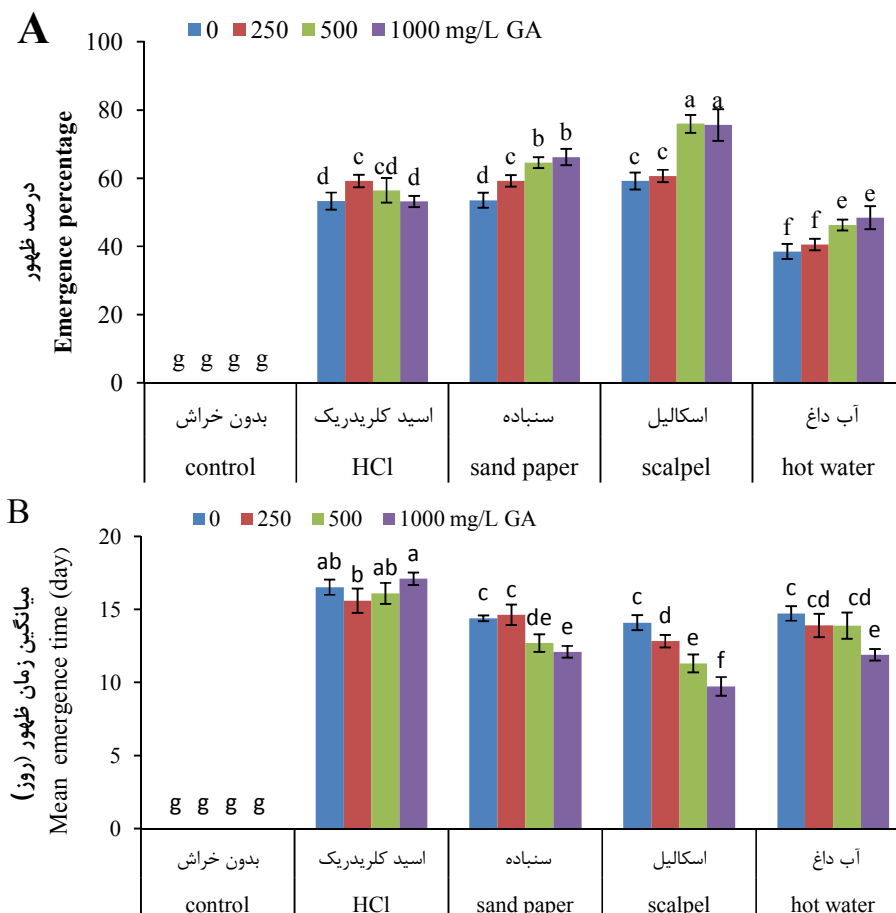
Table 2. The analysis of variance related to the effect of various scarification methods and GA₃ concentrations on emergence indices and length of *Gundelia tournefortii*

S. O. V	منبع تغییرات	درجه آزادی df	درصد ظهور Emergence percentage	میانگین زمان ظهور Mean time of emergence	طول گیاهچه Plant length
Scarification methods	شیوه‌های خراش‌دهی	4	7165**	411**	15416**
GA ₃ concentrations	غلظت‌های جیبرلین	3	174**	25.03**	6.65**
GA ₃ × S	جیبرلین × خراش‌دهی	12	28.71**	5.31**	1.16**
Error	خطا	100	1.72	1.10	0.45
C.V. (%)	ضریب تغییرات (%)		4.3	15.7	5.6

** معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد

** Significant differences at 1% probability level



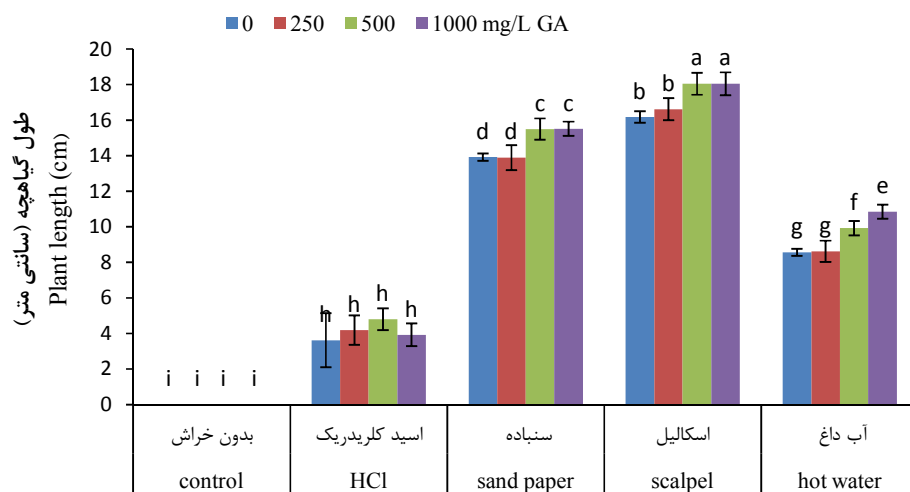


شکل ۴- برهمکنش انواع شیوه‌های خراش‌دهی پوسته بذر و غلظت‌های مختلف جیبرلین بر درصد ظهور (A) و میانگین زمان ظهور (B) کنگر وحشی. ستون‌های دارای حروف مشترک بر طبق آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

Fig. 4. The interaction of various methods of seed scarification and GA₃ concentrations on emergence percentage (A) and mean emergence time (B) of *Gundelia tournefortii*. The same letters indicate non-significant differences between treatments according to Duncan's multiple range tests at $P < 0.05$.

بررسی برهمکنش خراش‌دهی و جیبرلین بر رشد گیاهچه (شکل ۵) نیز نشان داد که برای گیاهچه‌های حاصل از بذره‌ای خراش‌دهی شده با اسکالپل و سنباده؛ کاربرد غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین و در گیاهچه‌های حاصل از بذره‌ای خراش‌دهی شده با آب داغ غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین بیشترین طول گیاهچه را ایجاد کرد. طول گیاهچه حاصل از بذره‌ای خراش‌دهی شده با اسید کلریدریک از گیاهچه‌های سایر روش‌های خراش‌دهی بطور چشمگیری کمتر بود و فقط با کاربرد غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین طول گیاهچه به ملایمت افزایش یافت که از نظر آماری معنی‌دار نبود.

همانطور که شکل ۳ و ۴ نشان می‌دهد انواع شیوه‌های خراش‌دهی با سنباده، اسکالپل و آب داغ در حد معنی‌داری درصد ظهور را افزایش داد و بیشترین درصد ظهور و در مقابل کمترین میانگین زمان ظهور در این بذرها با کاربرد ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد. اما در بذره‌ای خراش‌دهی شده با اسید کلریدریک تنها کاربرد جیبرلین ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر به طور معنی‌داری درصد ظهور افزایش داد و اثر هیچ یک از غلظت‌های جیبرلین بر میانگین زمان ظهور معنی‌دار نبود و میانگین زمان ظهور این تیمار با بذرها خراش‌دهی شده با اسید و تیمارنشده با جیبرلین تفاوت معنی‌داری نداشت.



شکل ۵- برهمکنش انواع شیوه‌های خراش‌دهی پوسته بذر و غلظت‌های مختلف جیبرلین بر رشد طولی گیاهچه کنگر وحشی. ستون‌های دارای حروف مشترک بر طبق آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

Fig. 5. The interaction of various methods of seed scarification and GA₃ concentrations on plant length of *Gundelia tournefortii*. The same letters indicate non-significant differences between treatments according to Duncan's multiple range tests at $P < 0.05$.

جدول ۳- تجزیه واریانس داده‌های حاصل از اثر سطوح مختلف سرمادهی مرطوب و جیبرلین بر شاخص‌های ظهور و رشد گیاهچه کنگر وحشی حاصل از بذره‌های خراش‌دهی شده با اسکالپل

Table 3. The analysis of variance related to the effect of various stratification levels and GA₃ concentrations on emergence indices and dry weight of *Gundelia tournefortii* grown from seeds scarified by scalpel

منبع تغییرات S. O. V	درجه آزادی df	درصد ظهور Emergence percentage	میانگین زمان ظهور Mean emergence time	وزن خشک گیاهچه Dry weight of plantlet
سطوح سرمادهی Cold stratification levels	3	1237**	138**	0.20**
غلظت‌های جیبرلین GA ₃ concentrations	1	247**	39.78**	0.05**
سرمادهی × جیبرلین GA ₃ × Stratification	3	9.99**	5.31**	1.16**
خطا Error	40	1.58	0.61	0.01
ضریب تغییرات (%) C.V. (%)		2.3	11.4	5.1

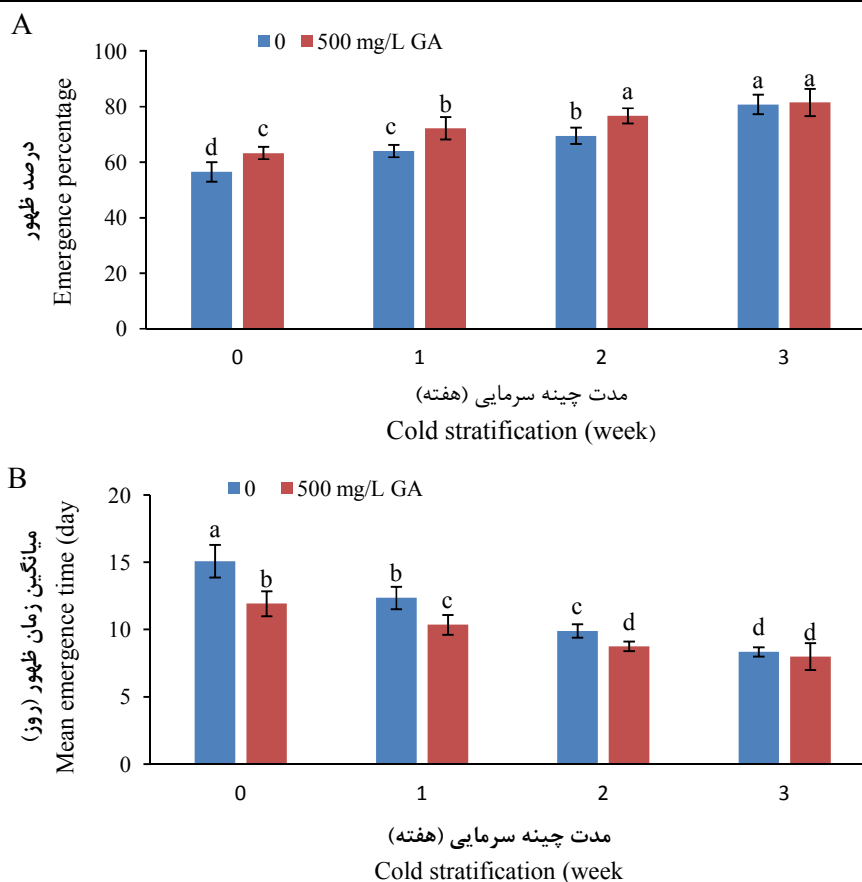
**معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد

** Significant differences at 1% probability level

جیبرلین و سرمادهی بر ظهور و رشد گیاهچه حاصل از بذره‌های خراش‌دهی شده با اسکالپل بررسی شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر مستقل و همچنین برهمکنش فاکتورهای سرمادهی مرطوب و جیبرلین بر شاخص‌های ظهور و رشد گیاهچه کنگر وحشی حاصل از بذره‌های خراش‌دهی شده با اسکالپل در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بوده است (جدول ۳).

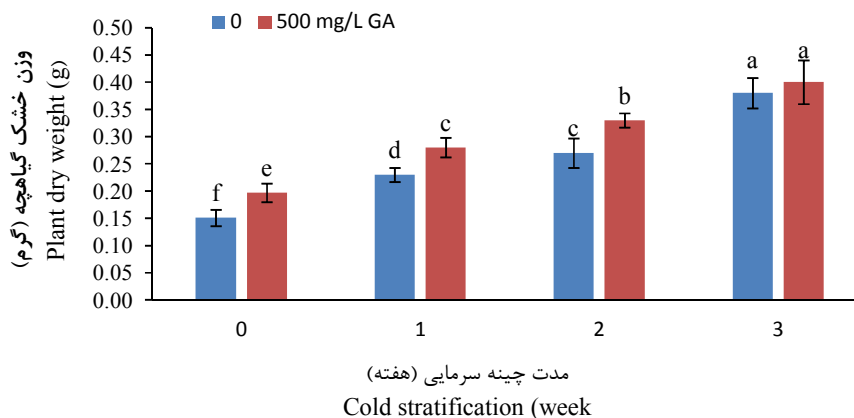
برهمکنش سرمادهی و جیبرلین بر ظهور و رشد گیاهچه حاصل از بذره‌های خراش‌دهی شده با اسکالپل

با توجه به اینکه نتایج آزمایش‌های اول و دوم نشان داد که اسکالپل بهترین تیمار خراش‌دهی بود و هر دو تیمار جیبرلین و سرمادهی، درصد ظهور و رشد گیاهچه کنگر وحشی را افزایش دادند، در آزمایش سوم اثر تلفیقی



شکل ۶- برهمکنش سطوح مختلف چینه سرمایی و جیبرلین بر درصد ظهور (A) و میانگین زمان ظهور (B) گیاهچه کنگر وحشی حاصل از بذرهای خراش‌دهی شده با اسکالپل. ستون‌های دارای حروف مشترک بر طبق آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

Fig. 6. The interaction of various stratification levels and GA₃ concentrations on emergence percentage (A) and mean emergence time (B) of *Gundelia tournefortii* plants grown from seeds scarified by scalpel. The same letters indicate non-significant differences between treatments according to Duncan's multiple range tests at



شکل ۷- برهمکنش سطوح مختلف چینه سرمایی و جیبرلین بر وزن خشک گیاهچه‌های کنگر وحشی حاصل از بذرهای خراش‌دهی شده با اسکالپل. ستون‌های دارای حروف مشترک بر طبق آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

Fig. 7. The interaction of various stratification levels and GA₃ concentrations on dry weight of *Gundelia tournefortii* plants grown from seeds scarified by scalpel. The same letters indicate non-significant differences between treatments according to Duncan's multiple range tests at $P < 0.05$.

که نشان می‌دهد این تیمار برای غلبه بر مقاومت مکانیکی پوشش مذکور موثرتر بوده است و در نتیجه سرعت و قدرت جوانه‌زنی بذر را بالا و همین امر موجب ظهور سریع‌تر و رشد بیشتر گیاهچه شده است. محمد^۱ و همکاران (۲۰۲۰) هم گزارش کردند بیشترین درصد جوانه‌زنی بذرهای کنگر وحشی با برداشتن پوشش روی دانه و سپس خیساندن در آب بدست آمد.

به هر حال نتایج این تحقیق نشان داد که حتی خراش‌دهی با اسکالپل حداکثر ۶۰ الی ۷۰ درصد جوانه‌زنی را باعث شد و سرمادهی مرطوب در حد معنی‌داری درصد ظهور، طول بخش هوایی و طول ریشه را افزایش و میانگین زمان ظهور را کاهش داد و اثر ۳ هفته سرمادهی بر همه صفات مطلوب‌تر از سایر سطوح سرمادهی بود (شکل ۱ و ۲). این نتایج تایید می‌کند که بخشی از خواب بذر کنگر وحشی هم از نوع فیزیولوژیکی است. سرمادهی مرطوب ممکن است با تاثیر بر افزایش ساخت اسیدهای نوکلئیک و تحریک فعالیت چرخه پنتوز فسفات در بذر شکست خواب و جوانه‌زنی را راه اندازی کند (بیولی و همکاران، ۲۰۱۳). از سوی دیگر بخوبی اثبات شده است که سرمادهی مرطوب مسیرهای پیام‌رسانی خاصی را راه‌اندازی می‌کند که با کاهش محتوای هورمون‌های بازدارنده مثل آبسزیک اسید و در مقابل افزایش تولید جیبرلین در رویان بذر نسبت جیبرلین به آبسزیک اسید را در بذر افزایش داده و در نتیجه زمینه شکست خواب و جوانه‌زنی بذر و رشد دانه‌رست را فراهم می‌کنند (شو^۲ و همکاران، ۲۰۱۶).

بدون خراش‌دهی (گروه شاهد) ۱ تا ۲ هفته چینه سرمایی مرطوب بر درصد ظهور و رشد گیاهچه کنگر وحشی هیچ اثر معنی‌داری نداشت و با ۳ هفته سرمادهی کمتر از ۵ درصد جوانه‌زنی رخ داد. در مقابل، چینه سرمایی مرطوب بطور معنی‌داری جوانه‌زنی بذرهای خراش‌دهی شده با اسید کلریدریک، اسکالپل، سنباده و آب جوش را افزایش داد و بهترین تیمار ترکیبی خراش‌دهی بذر با اسکالپل و ۳ هفته سرمادهی بود که درصد ظهور را به ۷۷ درصد رساند و کمترین میانگین زمان ظهور و بیشترین طول ریشه‌چه و

بررسی برهمکنش سرما و جیبرلین نشان داد که کاربرد غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین در بذرهای خراش‌دهی شده با اسکالپل و بدون سرمادهی و همچنین در بذرهای خراش‌دهی شده با اسکالپل و ۱ یا ۲ هفته سرمادهی شده اثر معنی‌داری بر افزایش درصد ظهور داشت اما در بذرهای ۳ هفته سرمادهی شده کاربرد جیبرلین نتوانست درصد ظهور را در حد معنی‌داری بالا ببرد (شکل ۶) که نشان می‌دهد با افزایش دوره سرمادهی نیاز به کاربرد جیبرلین برای شکست خواب فیزیولوژیکی بذرهای خراش‌دهی شده با اسکالپل برطرف شده است. بطور جالبی کاربرد جیبرلین در بذرهای خراش‌دهی شده با اسکالپل در شرایط بدون سرمادهی بیشترین اثر را بر میانگین زمان ظهور داشت و در بذرهای ۱ یا ۲ هفته سرمادهی شده هم مقدار عددی این شاخص را در حد معنی‌داری کاهش داد. اما در بذرهای ۳ هفته سرمادهی شده، کاربرد جیبرلین تاثیر معنی‌داری در کاهش بیشتر میانگین زمان ظهور نداشت (شکل ۶-۵).

برهمکنش سرمادهی و جیبرلین بر بذرهای خراش‌دهی شده با اسکالپل و سرمادهی شده به مدت ۰، ۱ و ۲ هفته به طور معنی‌داری وزن خشک گیاهچه حاصل از این بذر را افزایش داد اما جیبرلین بر افزایش وزن گیاهچه حاصل از بذرهای خراش‌دهی شده با اسکالپل و ۳ هفته سرمادهی شده اثر معنی‌داری نداشت (شکل ۷).

بحث

همه شیوه‌های مختلف خراش‌دهی در حد معنی‌داری درصد ظهور، طول بخش هوایی و طول ریشه را افزایش و میانگین زمان ظهور را کاهش داد (شکل ۱ و ۲). با توجه به این‌که بذر کنگر وحشی را یک ساختار حاصل از نهج کاپیتول ثانویه که بشدت لیگنینی شده است (شبیه پوست پسته) در برگرفته است، این نتیجه کاملاً مورد انتظار بود. به هر حال، این نشان می‌دهد بخش اعظم خواب بذر کنگر وحشی از نوع فیزیکی و مربوط به مقاومت این پوشش است. بیشترین درصد ظهور، طول ریشه و طول بخش هوایی و کمترین میانگین زمان ظهور با خراش‌دهی با اسکالپل بدست آمد

¹ Mohammad

² Shu

بخش هوایی گیاهچه هم در این تیمار بدست آمد (شکل ۱ و ۲). ویسی و همکاران (۲۰۱۸) هم گزارش کردند که چینه‌سرمایی مرطوب بر درصد و سرعت بذرهای خراش‌دهی نشده اثر معنی‌داری نداشت ولی ۳ و ۶ هفته سرمادهی مرطوب فقط ۷ و ۲۳ درصد جوانه‌زنی بذرهای خراش‌دهی شده با اسکالپل را افزایش داد. تفاوت مدت زمان سرمادهی لازم و میزان تاثیر آن بر ظهور نهایی در مطالعه حاضر با نتایج گزارش شده توسط این محققان، ممکن است ناشی از تفاوت اکوتیپ‌های کنگر وحشی مورد آزمایش یا شیوه و زمان اجرای دوره سرمادهی باشد. در این مطالعه سرمادهی و ارزیابی ظهور در گلدان‌های حاوی پرلیت انجام شد اما در مطالعه ویسی و همکاران (۲۰۱۸) ظاهراً اعمال تیمار سرمادهی و ارزیابی جوانه‌زنی در پتری بوده است. با توجه به اینکه بذرهای کنگر درشت هستند، ممکن است در پتری بخوبی جذب آب و اثر تیمارها رخ ندهد. علاوه بر این، تفاوت در میزان خواب و تیمار لازم برای شکست آن ممکن مربوط به اختلاف زیستگاه یا اقلیم مناطقی باشد که بذر کنگر وحشی از آنها جمع‌آوری شده است. در زیستگاه‌های مختلف ممکن است در گذر زمان، اکوتیپ‌های ژنتیکی مختلفی بوجود آمده باشد که از نظر برخی صفات مثل خواب بذر با هم فرق دارند (رستمی‌پور و همکاران، ۲۰۲۰). همچنین عمق خواب و شیوه‌های موثر برای شکست آن، برای توده‌های مختلف بذری یک گونه به ژنتیک گیاه مادری و همچنین به شرایط اقلیمی زمان نمو بذر روی گیاه مادری، بستگی دارد (باسکین و باسکین، ۲۰۱۴؛ کیلیدیشوا و همکاران، ۲۰۲۰). بذرهای کنگر وحشی استفاده شده در پژوهش حاضر بر اساس اطلاعات شرکت پاکان بذر از کوهستان‌های زاگرس جمع‌آوری شده‌اند. بنابراین، احتمالاً برای اجتناب از جوانه‌زنی بذر در سرمای زمستانی منطقه، در گذر زمان نوعی خواب فیزیولوژیکی در آنها پدیدار شده است که بوسیله چینه‌سرمایی مرطوب در آزمایشگاه می‌توان آن را شکست. بختیاری^۱ و همکاران (۲۰۲۳) هم در پژوهشی دریافتند که بذر کور یا علف مار (*Capparis spinosa* L.) دارای خواب فیزیکی و فیزیولوژیکی است و

بهترین روش تحریک جوانه‌زنی آن با تیمار تلفیقی یک ماه سرمادهی با پوسته چینی می‌باشد. بر اساس نتایج آزمایش اول، اگر چه ۱ و ۲ هفته سرمادهی جوانه‌زنی بذرهای خراش‌دهی شده با اسید کلریدریک، را افزایش داد اما با ۳ هفته سرمادهی درصد و سرعت ظهور گیاهچه حاصل از این بذرهای خراش‌دهی شده با اسید افت کرد و طول ریشه و بخش هوایی گیاهچه‌های این تیمار هم روند کاهشی نشان داد. در حالی که ۳ هفته سرمادهی اثر منفی بر درصد ظهور، طول ریشه و بخش هوایی گیاهان حاصل از بذرهای خراش‌دهی شده با اسکالپل، سنباده و آب داغ نداشت (شکل ۱ و ۲). این نتایج پیشنهاد می‌کند که بذرهای خراش‌دهی شده با اسید کلریدریک به عوامل محیطی مثل سرمای طولانی، نسبت به بذرهای خراش‌دهی شده با اسکالپل، سنباده و آب داغ حساس‌تر هستند. بطور مشابهی پی‌پینیس^۲ و همکاران (۲۰۱۱) هم دریافتند که سرمادهی به تنهایی اثری بر جوانه‌زنی بذرهای ارغوان (*Cerus siliquastrum*) نداشت و بیشترین درصد جوانه‌زنی بذرها در تیمار ترکیبی خراش‌دهی با اسید سولفوریک غلیظ (۹۷-۹۵٪) و ۲ تا ۳ ماه سرمادهی بدست آمد. اما سرمادهی طولانی‌تر (۴ ماه) بذرهای خراش‌دهی شده با اسید، جوانه‌زنی آنها را کاهش داد. بنابراین طبق نتایج این آزمایش (شکل ۱ و ۲) می‌توان نتیجه‌گیری کرد که تیمار ترکیبی خراش‌دهی مکانیکی با اسکالپل یا ۱۰ دقیقه سنباده‌زنی و سپس ۳ هفته سرمادهی مرطوب بهترین تیمار برای شکست خواب ترکیبی بذر کنگر وحشی می‌باشد و بهتر است از تیمار دوگانه خراش‌دهی با اسید و سرمادهی مرطوب اجتناب کرد.

نتایج آزمایش دوم نشان داد که جیبرلین بر جوانه‌زنی بذرهای کنگر وحشی خراش‌دهی نشده تاثیر معنی‌داری نداشت اما درصد ظهور گیاهچه بذرهای خراش‌دهی شده با اسیدکلریدریک، اسکالپل، سنباده و آب جوش را بطور معنی‌داری افزایش داد و بهترین تیمار ترکیبی خراش‌دهی بذرها با اسکالپل یا سنباده و غلظت ۵۰۰ یا ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین بود که درصد ظهور را به ۶۷ درصد رساند و کمترین میانگین زمان

² Pipinis¹ Bakhtiari

ظهور و بیشترین طول ریشه و بخش هوایی گیاهچه هم در این تیمار بدست آمد (شکل ۳ تا ۵). این نتایج دوباره تایید می‌کند که بخشی از خواب بذر کنگر وحشی فیزیولوژیکی است. بطور مشابهی محمد و همکاران (۲۰۲۰) هم اثر مثبت جیبرلین بر جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه و محتوای رنگیزه‌های برگ کنگر وحشی گزارش کردند. شبلی^۱ و همکاران (۲۰۰۹) هم با مقایسه اثر جیبرلین، نترات پتاسیم و تیوره اعلام کردند بیشینه درصد جوانه‌زنی (۸۳ درصد) کنگر وحشی با خیساندن بذرها در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین بدست آمد. پژوهش‌های دیگر نشان می‌دهد که جیبرلین در شکست خواب فیزیولوژیکی برخی بذرهای تیره کاسنی مانند (*Picris willkommii* (Schultz Bip.) (فرناندز^۲ و همکاران، ۲۰۲۲) نیز موثر است. ثابت شده است که افزایش نسبت جیبرلین‌ها به آبسزیک اسید در بذر، الگوی بیان ژن و تولید پروتئین‌ها از جمله آنزیم‌های هیدرولیز کننده ذخایر بذر مانند آلفا آمیلاز آن را افزایش می‌دهند و افزایش میزان و فعالیت این آنزیم‌ها امکان استفاده ذخایر بذر برای رشد رویان را فراهم نموده و در نتیجه جوانه‌زنی و رشد دانه‌رست را تحریک می‌کنند. علاوه بر این معلوم شده است که جیبرلین‌ها مسیر پیام‌رسانی خاصی را فعال می‌کنند که منجر به کاهش میزان آبسزیک اسید در بذر می‌شود (اسکوباکز و همکاران، ۲۰۱۷).

با توجه به اثر مطلوب شکستن پوسته با اسکالپل و سرمادهی و جیبرلین در دو آزمایش اولیه، در آزمایش سوم اثر ترکیبی جیبرلین و سرمادهی بر ظهور و رشد گیاهچه حاصل از بذرهای خراش‌دهی شده با اسکالپل بررسی شد. نتایج این آزمایش نشان داد که کاربرد جیبرلین و سرمادهی مرطوب به تنهایی یا بطور ترکیبی اثر معنی‌داری بر جوانه‌زنی بذرهای خراش‌دهی شده با اسکالپل داشت و بهترین تیمارها برای افزایش درصد و سرعت ظهور بذرهای خراش‌دهی شده و وزن خشک گیاهچه‌های مربوطه، تیمار ۳ هفته سرمادهی به تنهایی یا ترکیب ۲ هفته سرمادهی با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین بود (شکل ۶ و ۷). بطور مشابهی، ویسی و

همکاران (۲۰۱۸) هم دریافتند که وقتی بذرهای خراش‌دهی شده کنگر تحت تیمار ترکیبی ۶ هفته سرمادهی و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر جیبرلین قرار گرفتند، درصد و سرعت جوانه‌زنی، بنیه و وزن خشک گیاه، افزایش، و میانگین زمان جوانه‌زنی در حد چشمگیری کاهش یافت. پناهی و ارست (۲۰۱۹b) هم گزارش کردند که در تیمار ترکیبی هورمون جیبرلین با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر در مدت زمان ۴۸ ساعت و سرمادهی به مدت ۱۴ روز بالاترین درصد جوانه‌زنی (۸۴/۲۲ درصد) بذر کنگر وحشی حاصل شد و این تیمار سرعت جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه و ساقه‌چه را هم در حد معنی‌داری افزایش داد. به هر حال بر اساس اطلاعات موجود در مقاله، ظاهراً محققان مذکور روی بذرهای بدون خراش‌دهی به این نتایج رسیدند که این با نتایج ما همخوانی نداشت. چون در این مطالعه، کاربرد منفرد (شکل ۵ و ۶) سرمادهی و جیبرلین اثر چشمگیری بر بذرهای خراش‌دهی نشده نداشت. مشابه با نتایج ما، تیمار خراش‌دهی مکانیکی به‌همراه اسید جیبرلیک ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر با سرمادهی ۲۰ روز نسبت به دیگر تیمارهای اعمال شده سبب افزایش درصد جوانه‌زنی کل در اکوتیپ سمیرم گون مرتعی (*Astragalus cyclophyllu*) با میانگین ۸۴/۶۷ درصد شد (رستمی‌پور و همکاران، ۲۰۱۵). همچنین بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی بذرهای بابا آدم (*Arctium lappa*) از تیره کاسنی در اثر اعمال تیمار تلفیقی پیش سرمادهی به مدت دو هفته و اسید جیبرلیک (۴۸ ساعت) به دست آمد (پناهی و ارست، ۲۰۱۹a).

تحقیقات نشان داده است که سرمادهی مرطوب می‌تواند سنتز اسیدهای نوکلئیک و فعالیت چرخه پنتوز فسفات را در بذرها افزایش دهد که این تغییرات لازمه شکست خواب و جوانه‌زنی بذر گیاه هستند. علاوه بر این، سرمادهی مرطوب از طریق فعال کردن تجزیه آبسزیک اسید و در مقابل تحریک سنتز جیبرلین تراز ABA/GA در بذر را متعادل می‌کند و در بذرهایی که خواب فیزیولوژیکی دارند جوانه‌زنی بذر را افزایش می‌دهد. بنابراین، در برخی بذرها می‌توان دوره سرمایی مورد نیاز بذر برای شکست خواب را با کاربرد جیبرلین کاهش داد (بیولی و همکاران، ۲۰۱۳).

¹ Shibli² Fernández

در این مطالعه هم وقتی بذرهای خراش‌دهی شده با اسکالپل کنگر وحشی سرمادهی نشدند یا ۱ یا ۲ هفته سرمادهی را تجربه کردند جیبرلین توانست کمبود دوره سرمادهی را جبران نماید. بطوری‌که افزودن جیبرلین درصد و سرعت ظهور بذرهای خراش‌دهی شده و وزن خشک گیاهچه‌های این تیمارها را بطور معنی‌داری افزایش داد اما با اعمال ۳ هفته سرمادهی این اثر افزایشی و جبرانی جیبرلین مشاهده نشد و بذر کنگر وحشی ۳ هفته سرمادهی شده در حضور یا عدم حضور جیبرلین، بالاترین درصد ظهور را نشان داد (شکل ۶). این نتایج، این فرضیه که احتمالاً سرمادهی مرطوب با افزایش سطح جیبرلین درصد و سرعت ظهور و رشد گیاهچه را تقویت کرده است، را تا حدی تایید کرد. می‌توان احتمال داد ۳ هفته سرمادهی، سطح جیبرلین و آبسزیک اسید بذرهای کنگر وحشی را به سطح مطلوب برای شکست خواب و حصول حداکثر جوانه‌زنی می‌رساند و در نتیجه کاربرد جیبرلین خارجی اثر بیشتری ندارد. در راستای تأیید این نظریه، یانگ^۱ و همکاران (۲۰۲۲) هم با استفاده از تجزیه RNA-seq دریافتند که در مدت سرمادهی مرطوب، بیان ژن‌های مربوط به بیوسنتز و مسیرهای پیام‌رسانی وابسته به جیبرلین و اکسین و همچنین بیان ژن‌های مربوط به کاتابولیسم آبسزیک اسید در بذرالاله واژگون (*Fritillaria taipaiensis*) افزایش یافت. همچنین مشابه با یافته‌های این تحقیق گزارش شده است که بیشترین درصد جوانه‌زنی و کمترین زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی بذر کما با اعمال ۷ هفته سرمادهی مرطوب به تنهایی و یا تیمار ترکیبی سه هفته سرمادهی و جیبرلین بدست آمد که نشان می‌دهد کاربرد جیبرلین توانست دوره سرمایي مورد نیاز برای شکست خواب بذر کما را کاهش دهد (عموآقایی، ۲۰۰۹). یک مطالعه دیگر هم نشان داد که تیمار با آبسزیک اسید اثر مطلوب سرمادهی مرطوب روی جوانه‌زنی بذرهای زیره سیاه (*Bunium persicum*) را تقلیل داد و در مقابل کاربرد جیبرلین جوانه‌زنی این بذرها را افزایش داد و دوره

سرمادهی مرطوب مورد نیاز برای شکست خواب بذر زیره را کاهش داد (عموآقایی و احمدی^۲، ۲۰۱۷). طبق تقسیم بندی باسکین و باسکین (۲۰۱۴)، اگر در بذرهای دارای خواب فیزیولوژیکی، جیبرلین نتواند جایگزین تمام یا بخشی از مدت زمان سرمادهی مورد نیاز بذر شود خواب در گروه خیلی عمیق قرار می‌گیرد اما اگر تیمار با جیبرلین باعث کاهش دوره سرمادهی مورد نیاز بذر شود خواب از نوع غیرعمیق است. بر اساس این طبقه‌بندی، بذر کنگر وحشی علاوه بر خواب فیزیکی، دارای خواب فیزیولوژیکی غیرعمیق است.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که بذرهای کنگر وحشی دارای دو نوع خواب فیزیولوژیکی و فیزیکی هستند و بهترین تیمار برای شکست آن شکاف پوشش روی بذر با اسکالپل و سپس سرمادهی به مدت ۳ هفته است. اما چنانچه دوره سرمادهی کوتاه‌تر باشد کاربرد توام سرمادهی با جیبرلین برای حصول حداکثر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه لازم است.

تشکر و سپاسگزاری

بدینوسیله از دانشگاه شهرکرد برای پشتیبانی مالی این پژوهش در قالب پایان‌نامه کارشناسی ارشد سپاسگزاری می‌شود.

² Amooaghaie and Ahmady

¹ Yang

منابع

- Amooaghaie, R. 2009. The effect mechanism of moist-chilling and GA3 on seed germination and subsequent seedling growth of *Ferula ovina* Boiss. The Open Plant Science Journal, 3: 22-28. <https://doi.org/10.2174/1874294700903010022>
- Amooaghaie, R., and Ahmady, F. 2017. Triangular interplay between ROS, ABA and GA in dormancy alleviation of *Bunium persicum* seeds by cold stratification. Russian Journal of Plant Physiology, 64(4): 588-599. <https://doi.org/10.1134/S1021443717040021>
- Amooaghaie, R., and Khodadadi, A. 2023. Impact of seed scarification, pretreatment with nitrogenous compounds and cold stratification on emergence percentage and growth of *Gundelia tournefortii* L. seedlings. Iranian Journal of Seed Sciences and Research, 10(3): 49-63. [In Persian]
- Arast, M., Tavili, A., and Shojaei, S. 2016. Effect of different treatments on seed dormancy breaking and germination stimulation of *Ammodendron persicum*. Iranian Journal of Seed Research, 2(2): 59-70. [In Persian] <http://dx.doi.org/10.29252/yujs.2.2.59>
- Bakhtiari, F., Matloobi, M. and Motallebi, A. 2023. Possibility of improving caper (*Capparis spinosa* L.) seed germination as an ornamental cover plant using combined methods of dormancy removal. Journal of Agricultural Science and Sustainable Production, 33(1): 177-186. [In Persian]
- Baskin, C.C., and Baskin, J.M. 2014. Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination (2nd edition). New York, USA, Academic Press
- Baskin, C.C., and Baskin, J.M. 2023. Seed dormancy in Asteraceae: a global vegetation zone and taxonomic/phylogenetic assessment. Seed Science Research, 33(2): 1-35. <https://doi.org/10.1017/S0960258523000107>
- Bewley, J.D., Bradford, K.J., Hillhorst, H.W.M., and Nonogaki, H. 2013. Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy, New York: Springer-Verlag. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4693-4>
- Chen, S.Y., Chou, S.H., Tsai, C.C., Hsu, W.Y., Baskin, C.C., Baskin, J.M., Chien, C.T., 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>
- Debeaujon, I., and Koornneef, M. 2000. Gibberellin requirement for arabidopsis seed germination is determined both by testa characteristics and embryonic abscisic acid. Plant Physiology, 122(2): 415-424. <https://doi.org/10.1104/pp.122.2.415>
- Fernández, M., and Tapias, R. 2022. Seed dormancy and seedling ecophysiology reveal the ecological amplitude of the threatened endemism *Picris willkommii* (Schultz Bip.) Nyman (Asteraceae). <https://doi.org/10.3390/plants11151981>
- Hematifar, M., Tehranifar, A., Akbari bishe, H., Abedi, B. 2018. Facilitating seed germination of eight species of hawthorn (*Crataegus* spp.) native of Iran, using chemical scarification and cold stratification. Iranian Journal of Seed Research, 4(2): 13-22. [In Persian] <https://doi.org/10.29252/yujs.4.2.13>
- ISTA. 2020. International rules for seed testing. International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland
- Kildisheva, O.A., Dixon, K.W., Silveira, F.A.O., Chapman, T., Sacco, A.D., Mondoni, A., Turner, S.R., and Cross, A.T. 2020. Dormancy and germination: making every seed count in restoration. Restoration Ecology, 28: S256-S265. <https://doi.org/10.1111/rec.13140>
- Matthaus, B., and Ozcan, M.M. 2011. Chemical evaluation of flower bud and oil of tumbleweed (*Gundelia tournefortii* L.) as a new potential nutrition sources. Journal of Food Biochemistry, 35(4): 1257-1266. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2010.00449.x>

- Mehrabi, A.A., and Hajinia, S. 2019. The effect of seed pre-treatments on germination of *Astragalus gossypinus* Seed. Iranian Journal of Seed Research, 6(1): 95-113. [In Persian] <https://doi.org/10.29252/yujs.6.1.95>
- Mohammad, A.A., Mahmood, A.K., Ahmed, T.A., Omar, D.A., Arkwazee, H.A., Majeed, H.O. and Tahir, N.A. 2020. Impact of some treatments on seed germination and seedling vigour of Kangar (*Gundelia* sp. L.). Applied Ecology and Environmental Research, 18(6): 8159-8170. https://doi.org/10.15666/aeer/1806_81598170
- Ozkan, A., Yumrutas, Ö., Saygideger, S.D., and Kulak, M. 2011. Evaluation of antioxidant activities and phenolic contents of some edible and medicinal plants from turkey's flora. Advances in Environmental Biology, 5(2): 231-236.
- Panahi, F., and Arast, M. 2019a. Study of seed dormancy breaking and germination characteristics in *Arctium lappa*. Iranian Journal of Seed Science and Technology, 7 (2): 45-58. [In Persian] <https://doi.org/10.22034/ijssst.2019.108578.1032>
- Panahi, F., and Arast, M. 2019b. The effect of different treatments on seeds dormancy and germination of *Gundelia tournefortii*. Iranian Journal of Seed Science and Research, 6(3): 347-358. [In Persian] <https://doi.org/10.22124/jms.2019.3817>
- Piri, R., Moradi, A., Salehi, A. and Balouchi, H. R. 2021. Effect of seed biological pretreatments on germination and seedling growth of cumin (*Cuminum cyminum* L.) under drought stress. Iranian Journal of Seed Science and Technology, 9(4): 11-26. [In Persian]. <https://doi.org/10.22034/ijssst.2019.109182.1054>
- Parvin, P., Khezri, M., Tavasolian, I. and Hosseini, H. 2015. The effect of gibberellic acid and chilling stratification on seed germination of eastern black walnut (*Juglans nigra* L.). Journal of Nuts, 6(1): 67-76. [In Persian]
- Pipinis, E., Milios, E., Smiris, P., and Gioumousidis, C. 2011. Effect of acid scarification and cold moist stratification on the germination of *Cercis siliquastrum* L. seeds. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 35: 259-264. <https://doi.org/10.3906/tar-1003-848>
- Raffei, A. and Amooaghaie, R. 2023. The role of GA and ABA in moist chilling-induced effects on germination of scarified seeds of *Myrtus commnius* L.. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology). Online version
- Rostamipoor, A., Mordai, A., and Eisvand, H. 2020. Effect of seed dormancy breaking treatments on germination and α -amylase enzyme activity in seeds of three ecotypes of *Astragalus cyclophyllu*. Iranian Journal of Seed Research, 6(2): 15-29. [In Persian] <https://doi.org/10.29252/yujs.6.2.15>
- Shibli, R.A., Oweis, D.S, Eriefejand, K.I, and Shatnawi, M.A. 2009. In vivo propagation of Akub (*Gundelia tournefortii* L.) by seeds. Jordan Journal of Agricultural Sciences, 5(3): 266-272
- Shu, K., Liu, X.D., Xie, Q. and He, Z.H. 2016. Two faces of one seed: Hormonal regulation of dormancy and germination. Molecular Plant, 9: 34-45. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2015.08.010>
- Vaisi, G., Mohtadi, A., and Moradi, A. 2018. The effect of different treatments on seed germination and dormancy breaking in seeds of (*Gundelia tournefortii* L.). Nova Biologica Reperta, 5(1): 26-37. [In Persian] <https://doi.org/10.29252/nbr.5.1.26>
- Weitbrecht, K., Müller, K., and Leubner-Metzger, G. 2011. First off the mark: early seed germination. Journal of Experimental Botany, 62: 3289-3309. <https://doi.org/10.1093/jxb/err030>
- Yang, Q.X., Chen, D., Zhao, Y., Zhang, X.Y., Zhao, M., Peng, R., Sun, N.X., Baldwin, T.C., Yang, S.C. and Liang, Y.L. 2022. RNA-seq analysis reveals key genes associated with seed germination of *Fritillaria taipaiensis* P.Y.Li by cold stratification. Frontier in Plant Science, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1021572>