

بررسی اثرات شکستن خواب بر ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر دو گونه گیاه دارویی موسیر (*Allium altissimum*)و روناس (*Rubia tinctorum*)حمید شریفی<sup>۱\*</sup>، الماس نعمتی، محمد گردکانه<sup>۲</sup>

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

۲. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه باغبانی، جهاد دانشگاهی کرمانشاه.

۳. استادیار، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۸/۲۵؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۲/۱۶

## چکیده

**مقدمه:** کشت و اهلی سازی گیاهان دارویی یکی از راهبردهای اصلی برای احیای زیستگاه‌های اصلی این گونه‌های گیاهی است ولی خواب بذر گیاهان دارویی یکی از مشکلات موانع عمده در جهت اهلی‌سازی این گیاهان به شمار می‌رود که بایستی با شکستن خواب بذر زمینه برای کشت و اهلی‌سازی این گیاهان فراهم گردد. تیمارهای سرمادهی و کاربرد هورمون جیبرلیک اسید به عنوان تیمارهایی مناسب برای شکستن خواب بذر معرفی شده‌اند که موثرترین تیمارها برای شکستن خواب بذر می‌باشند. این تحقیق به منظور بررسی تاثیر تیمارهای مختلف سرمادهی و جیبرلیک اسید بر شکستن خواب بذر دو گیاه دارویی موسیر و روناس انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** بذور دو گیاه دارویی موسیر و روناس از رویشگاه‌های طبیعی آن‌ها در شهر کوه‌دشت در تابستان ۱۳۹۳ جمع‌آوری شدند. برای هر گونه آزمایشی جداگانه در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۴ تیمار در ۴ تکرار به صورت مشابه انجام شد. بذور قبل از شروع آزمایش با استفاده از هیپوکلریت سدیم به مدت ۳ دقیقه ضدعفونی سطحی شدند. تیمارهای مورد استفاده شامل سرمادهی در درجه حرارت ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت صفر (شاهد)، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۷۰ و ۹۰ روز، جیبرلیک اسید با غلظت‌های ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ قسمت در میلیون، تیمار ترکیبی ۴۰۰ قسمت در میلیون جیبرلیک اسید به همراه ۳۰ روز سرمادهی و ۴۰۰ قسمت در میلیون جیبرلیک اسید به همراه ۷۰ روز سرمادهی بودند. نمونه‌های بذری پس از تیمار شدن به ژرمیناتوری با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. شمارش بذور جوانه‌زده ۲۴ ساعت پس از شروع آزمایش شروع و تا پایان آزمایش به صورت روزانه انجام گردید. خروج ریشه چه به میزان دو میلی‌متر به عنوان معیار جوانه‌زنی در نظر گرفته شد. در پایان آزمایش درصد، سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر محاسبه گردید.

**نتایج و بحث:** نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان دادند که تاثیر تیمارهای مختلف شکستن خواب بذر در صفات درصد و سرعت جوانه‌زنی و بنیه بذر در هر دو گونه موسیر و روناس در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شدند. بذور موسیر و روناس در تیمار شاهد جوانه نزدند. همچنین تیمارهای مختلف جیبرلیک اسید و سرمادهی به مدت ۱۰ و ۲۰ روز تاثیر معنی‌داری بر خواب بذر دو گونه مورد نظر نداشت. در دو گونه موسیر و روناس بیشترین مقادیر درصد جوانه‌زنی به ترتیب ۸۹ و ۶۴ درصد، بیشترین مقادیر سرعت جوانه‌زنی به ترتیب ۱۱ و ۹/۵ بذر در روز، و بیشترین بنیه بذر با میانگین ۸۸ و ۱۵۴ در تیمار ۹۰ روز سرمادهی مشاهده گردید. به نظر می‌رسد که سرمادهی مرطوب به نحوی هورمون‌های رشد را در بذور هر دو گونه افزایش می‌دهد و با ایجاد یک تعادل هورمونی مناسب فرآیند جوانه‌زنی شروع شده است. همچنین ممکن است که قرار دادن بذر در دمای پایین و سپس انتقال آن‌ها به دمای نرمال، بذر را در معرض شوک دمایی قرار داده که باعث کاهش مقاومت پوسته بذر شده و جوانه‌زنی را افزایش می‌دهد. در این تحقیق تیمارهای مختلف جیبرلیک اسید بر جوانه زنی موسیر و روناس یا بی تاثیر بودند و یا هیچ اثری نداشتند. بنابراین تیمار سرمادهی توأم با تیمارهای جیبرلیک اسید، هورمون جیبرلیک اسید نتوانست جایگزین سرمای مورد نیاز برای شکستن خواب بذر موسیر و روناس گردد. بنابراین می‌توان گفت که به احتمال زیاد عامل دیگری بجز تعادل هورمونی بین جیبرلیک اسید و آبسزیک اسید در جوانه زنی این گونه‌ها موثر می‌باشد.

**واژه های کلیدی:** اسید جیبرلیک، بنیه بذر، خواب بذر، سرمادهی مرطوب، سرعت جوانه‌زنی.

گونه بذرالبنج مشبک (*Hyoscyamus reticulatus* L.) نشان داد که تیمار تلفیقی پیش سرمادهی مرطوب به مدت ۲۱ روز به همراه اسید جیبرلیک ۵۰۰ قسمت در میلیون (ppm) بیشترین تأثیر را بر شکستن خواب بذره‌های این گونه داشت (Rezaeichiyaneh et al., 2014). در تحقیقی که بر روی بذره‌های گیاه دارویی انجدان رومی (*Levisticum officinale* Koch.) انجام گرفت، مشخص شد که سرمادهی مرطوب به مدت ۳ ماه بیشترین تأثیر را بر افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی این گونه دارد (Khatibzadeh et al., 2013). در بررسی دیگری بالاترین درصد جوانه‌زنی در مورد بذره‌های بیلهر (*Dorema aucheri*) در تیمار سرمادهی به مدت چهار هفته به همراه شستشو و اسید جیبرلیک ۱۵۰۰ قسمت در میلیون (ppm) بدست آمد (Salehi et al., 2015). مطالعه‌ی خواب بذر کرفس کوهی (*Kelussia odoratissima* Mozaff.) نشان داد که سرمادهی مرطوب به مدت ۱۲ هفته، دارای اثر معنی‌داری بر سرعت و درصد جوانه‌زنی بذر این گونه می‌باشد. به طوری‌که با افزایش مدت زمان سرمادهی از ۲ تا ۱۲ هفته میزان جوانه‌زنی از صفر تا ۶۳/۳ درصد افزایش یافت (Amooaghaie and Valivand, 2014). همچنین در پژوهشی که بر روی تعدادی از گیاهان دارویی صورت گرفت بهترین تیمار برای شکستن خواب بذر گونه‌های خار پنبه (*Onopordon acanthium*) ۲ هفته سرمادهی، شاهدانه (*Cannabis sativa*) ۴ هفته سرمادهی، کنگر (*Gundelia tournefortii*) ۱۰ هفته سرمادهی و ریواس (*Rheum ribes*) ۱۲ هفته سرمادهی معرفی شد (Sharifi, 2013).

موسیر با نام علمی (*Allium altissimum*) متعلق به تیره آلیاسه (*Alliaceae*) گیاهی چند ساله است (Specht and Keller, 1997). و دارای دانه‌های سیاه رنگ می‌باشد. موسیر دارای خواص، ضد اسهال، ضد عفونی کننده، تقویت کننده سیستم گوارش (Jafarian et al., 2003)، ضد سرطان (Ghodratiazadi et al., 2009) و ضد میکروب (Taran et al., 2006) می‌باشد. روناس با نام

گیاهان دارویی بدلیل ارزش دارویی و اقتصادی از اهمیت بالای برخوردار می‌باشند. تقاضای روز افزون جامعه برای استفاده از این گیاهان باعث بهره‌برداری بی‌رویه آنها از رویشگاه‌های طبیعی شده است. از طرفی چرای فراوان دام‌ها، تبدیل رویشگاه‌های طبیعی به اراضی کشاورزی و خشکسالی سال‌های اخیر باعث کاهش گسترش جغرافیایی و تراکم جمعیت گیاهان دارویی در رویشگاه‌های طبیعی گردیده و بسیاری از آنها را در خطر انقراض و نابودی قرار داده است (Sharifi, 2013). یکی از راهکارهای مهم برای پاسخگویی به این تقاضای روز افزون و همچنین بازسازی رویشگاه‌های طبیعی گونه‌های دارویی، کشت و اهلی‌سازی این گیاهان می‌باشد (Omidbaigi, 2011; Sharifi, 2013). اما عملیات کشت و اهلی‌کردن گیاهان دارویی دارای موانعی است که یکی از این موانع، وجود خواب بذر و مشکل در زمینه جوانه‌زنی بذر آنها می‌باشد (Sharifi, 2013). وجود خواب به دلیل عدم یکنواختی در بستر بذر سبب کاهش در عملکرد می‌شود، به همین دلیل این خصوصیت در بوم نظام‌های زراعی یک خاصیت نامطلوب تلقی می‌شود، که باید با شکستن خواب بذرها زمینه را برای حداکثر یکنواختی و عملکرد فراهم نمود (Sharifi and Goldani, 2016). در سالهای اخیر مطالعات متعددی بر روی شکستن خواب بذر گیاهان دارویی در ایران انجام شده است. در برخی از این آزمایشها اثر تیمارهای مختلف مانند خراشدهی (فیزیکی و شیمیایی)، برداشتن پوسته بذر، سرمادهی مرطوب، اسید جیبرلیک، نیترات پتاسیم و تیمارهای ترکیبی بر شکستن خواب و جوانه‌زنی گیاهان دارویی بررسی شده است (Aghilian et al., 2014; Sharifi, 2013; Ehyae and Khajeh-Hosseini, 2012). در این بین تیمارهای سرمادهی مرطوب (Zhou et al., 2009) و اسید جیبرلیک (Wang, 2009) به عنوان موثرترین تیمارهای شکستن خواب بذر معرفی شده‌اند.

بررسی اثر تیمارهای مختلف بر شکستن خواب بذر

استفاده شد. تیمارهای به کار رفته شامل تیمار سرمادهی مرطوب (شاهد، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۷۰ و ۹۰ روزه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد)، تیمار اسید جیبرلیک در غلظت‌های ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ قسمت در میلیون (ppm)، تیمار تلفیقی اسید جیبرلیک ۴۰۰ قسمت در میلیون (ppm) به همراه سرمادهی به مدت ۳۰ روز و تیمار تلفیقی اسید جیبرلیک ۴۰۰ قسمت در میلیون (ppm) به همراه سرمادهی به مدت ۷۰ روز بودند. برای اعمال تیمار اسید جیبرلیک به ظروف حاوی بذرها اسید جیبرلیک در غلظت‌های معین شده اضافه شد. در تیمار سرمادهی، بذرها ابتدا بر روی کاغذ صافی مرطوب شده قرار گرفتند و سپس به یخچال با دمای چهار درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. در تیمار تلفیقی نیز به جای آب مقطر از اسید جیبرلیک برای مرطوب کردن کاغذ صافی استفاده شد و سپس نمونه‌ها به مدت زمان مورد نظر در یخچال قرار گرفتند.

نمونه‌های بذر پس از اعمال تیمارهای مورد نظر به داخل دستگاه ژرمیناتور (۲۵ درجه سانتی‌گراد) منتقل شدند. سپس شمارش بذره‌های جوانه‌زده ۲۴ ساعت پس از شروع آزمایش انجام و تا پایان آزمایش بصورت روزانه یادداشت گردید. معیار جوانه‌زنی، خروج ریشه‌چه به میزان دو میلی‌متر در نظر گرفته شد. در پایان آزمایش برای بدست آوردن شاخص بنیه بذر تعداد پنج عدد گیاه‌چه از هر پتری انتخاب شده و صفات طول ریشه‌چه و ساقه‌چه آنها اندازه‌گیری شدند. پس از مراحل فوق و در پایان آزمایش درصد جوانه‌زنی کل با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید.

$$GP = (Ni/S) \times 100 \quad (1)$$

در این رابطه GP درصد جوانه‌زنی، Ni تعداد بذور جوانه‌زده در روز  $t_m$  و S تعداد کل بذور کشت شده را نشان می‌دهند. سرعت جوانه‌زنی بر اساس رابطه زیر بدست آمد (Bajji et al., 2002).

علمی (*Rubia tinctorum*) از تیره روناسیان (*Rubiaceae*) گیاهی پایا دارای ریزومی تقریباً قرمز رنگ است. میوه آن سته و سیاه رنگ است. این گیاه در ناراحتی‌های کلیه و مثانه مورد استفاده قرار می‌گیرد و ضد عفونی کننده و آرام‌بخش است. (Zaman, 2013).

با توجه به اهمیت تکثیر گیاهان دارویی و نقش بذر در تولید و پرورش این گیاهان ارزشمند، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر تیمارهای مختلف سرمادهی مرطوب و اسید جیبرلیک بر شکستن خواب بذر گیاهان دارویی روناس و موسیر و یافتن روش‌های موثر در بهبود جوانه‌زنی و جمع‌آوری اطلاعات اولیه مناسب جهت کشت و اهلی کردن این گونه‌ها انجام شد.

## مواد و روش‌ها

به منظور انجام این پژوهش بذر گونه‌های دارویی موسیر و روناس در تابستان ۱۳۹۳ از رویشگاه‌های طبیعی آنها در استان لرستان، شهرستان کوهدشت (کوهدشت از نظر جغرافیایی در ۴۷ درجه و ۳۶ دقیقه طول شرقی و ۳۳ درجه و ۳۲ دقیقه عرض شمالی و ارتفاع ۱۱۹۵ متری از سطح دریا، آب و هوای معتدل و نیمه خشک بوده و بیشترین دمای هوا در این منطقه ۴۲ درجه و کم‌ترین دما ۷- درجه است. میزان بارندگی این شهرستان به طور متوسط ۴۵۰ میلی‌متر در سال است)، جمع‌آوری و سپس به آزمایشگاه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه انتقال داده شدند. به منظور شکستن خواب بذر این گونه‌ها آزمایش‌های جداگانه‌ای، در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۴ تیمار و ۴ تکرار برای هر گونه انجام شد. برای هر تیمار از ۴ پتری که داخل هر کدام از آنها ۲۵ عدد بذر قرار داده شده بود، استفاده گردید که هر ظرف پتری به عنوان یک تکرار محسوب می‌شد. کشت بذرها در پتری با قطر ۹۰ میلی‌متر انجام و در هر پتری یک عدد کاغذ صافی واتمن قرار داده شد. قبل از شروع آزمایش‌های جهت ضدعفونی سطحی بذرها از محلول هیپوکلریت سدیم (واپتکس تجاری محتوی ۵ درصد) به مدت ۳ دقیقه

باشند. پس از جمع‌آوری داده‌ها و اطمینان از نرمال بودن آنها، داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته و مقایسه میانگین‌ها نیز با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گردید.

**نتایج و بحث**

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمارهای مختلف شکستن خواب بذر بر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر موسیر و روناس در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری دارند (جدول ۱ و ۲).

$$GR = \sum Ni/Ti \quad (۲)$$

در این رابطه GR سرعت جوانه‌زنی (برحسب تعداد بذر جوانه‌زده در روز)، Ni تعداد بذور جوانه‌زده در روز نام و Ti تعداد روز تا شمارش نام را نشان می‌دهند شاخص بنیه بذر نیز به صورت زیر محاسبه گردید ( Abdul-Baki and Anderson, 1970):

$$VI = \frac{Ls}{100} Pg \quad (۳)$$

در رابطه فوق VI شاخص بنیه بذر، Ls میانگین طول گیاهچه بر حسب میلی‌متر و Pg درصد جوانه‌زنی کل می‌-

جدول ۱. میانگین مربعات و درجه آزادی صفات جوانه‌زنی روناس تحت تأثیر تیمارهای شکستن خواب بذر.

**Table 1. Mean of squares and degree freedom of *Rubia tinctorum* germination characteristics under effects of seed dormancy breaking treatments.**

S. O. V.	منابع تغییرات	درجه آزادی DF	درصد جوانه‌زنی Germination Percent	سرعت جوانه‌زنی Germination Rate	شاخص بنیه بذر Seed Vigor Index
Treatment	تیمار	13	268.20**	52.99**	666.68**
Residual	اشتباه	42	1.15	0.04	1.67
C.V. %	ضریب تغییرات	-	15.07	6.14	14.11

\*\* معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد

\*\* Significant at 1 percent level of probability

جدول ۲. میانگین مربعات و درجه آزادی صفات جوانه‌زنی موسیر تحت تأثیر تیمارهای شکستن خواب بذر.

**Table 2. Mean of squares and degree freedom of *Allium altissimum* germination characteristics under effects of seed dormancy breaking treatments.**

S. O. V.	منابع تغییرات	درجه آزادی DF	درصد جوانه‌زنی Germination Percent	سرعت جوانه‌زنی Germination Rate	شاخص بنیه بذر Seed Vigor Index
Treatment	تیمار	13	126.72**	36.20**	213.99**
Residual	اشتباه	42	1.02	0.05	0.81
C.V. %	ضریب تغییرات	-	17.74	6.73	15.90

\*\* معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد

\*\* Significant at 1 percent level of probability

بذرها بعد رسیدگی در اواخر تابستان بر روز زمین قرار گرفته، که این باعث می‌شود سرمای زمستان در خاکهای مرطوب را سپری کرده و در بهار جوانه بزنند. به هر حال این موضوع نمی‌تواند به عنوان یک فائده عمومی در جوانه‌زنی بکار رود و دلایل خواب بذر از مکانیسم‌های بسیار ساده تا خیلی پیچیده متغیر است. مکانیسم واقعی رفع خواب در اثر سرما هنوز به درستی شناخته نشده است. در این رابطه فرضیاتی وجود داد که از آن جمله می‌توان به تأثیر سرما در تغییر شکل تجهیزات آنزیمی یا در مکانیسم نوکلئیک اسیدها و یا در ساختار کلوتیدی با افزایش آبدوستی روی می‌دهند را عامل این امر دانسته‌اند. همچنین کاهش یا حذف بازدارنده‌های جوانه‌زنی درون بذر مثلاً کاهش میزان اسید آبسزیک و یا فعال کردن و سنتز جیبرلین اشاره کرد (Yamaguchi and Kamiya, 2000). به نظر می‌رسد که تیمار سرمادهی سبب کاهش تراز هورمون‌های بازدارنده و افزایش تراز هورمون‌های محرک شده و به این ترتیب سبب افزایش پتانسیل جوانه‌زنی بذر می‌شود. کاهش تراز اسید آبسزیک سبب افزایش حساسیت رویان به اسید جیبرلیک در مرحله گذار از حال خواب به حالت غیر خواب در بذر بسیاری از گونه‌ها می‌شود (Kucera, et al., 2005). در مطالعه‌ای که بر روی بذرهای روناس و موسیر صورت گرفت، اعلام شد که بذرهای این دو گونه دارای خواب فیزیکی هستند و خراش‌دهی پوسته بذر با کاغذ سنباده ضمن تخریب پوشش بذر و سلولهای اسکلریدی، اجازه نفوذ آب را جهت فرآیند آگیری می‌دهد و خواب ناشی از سختی پوسته را برطرف می‌کند (Sharifi, 2013). بنابراین احتمال داده می‌شود که یکی از اثرات مهم سرما بر این بذرها، کاهش مقاومت مکانیکی پوشش بذر باشد. قرار دادن بذرها برای مدت مشخص در شرایط سرد و مرطوب، تأثیر تجمعی بر نرم شدن پوسته بذرهای سخت و نشت مواد بازدارنده رشد موجود در پوسته دارند (Milligan, 1999). نتیجه اینکه از عوامل محرک جوانه‌زنی می‌توان به عنوان عوامل کمکی و مکمل استفاده نمود، زیرا فرآیندهای جوانه‌زنی در بذرها در

با توجه به جدول مقایسه میانگین‌ها، اثر تیمارهای شکستن خواب بر درصد جوانه‌زنی بذر موسیر و روناس متفاوت بود. بذرهای روناس و موسیر در تیمار شاهد فاقد جوانه‌زنی بودند، همچنین تیمارهای مختلف اسید جیبرلیک و سرمادهی به مدت زمانهای ۱۰ و ۲۰ روزه نیز تأثیر معنی‌داری بر شکستن خواب بذرهای این دو گیاه نداشتند. در هر دو گونه موسیر و روناس بالاترین درصد جوانه‌زنی به ترتیب به میزان ۸۹ و ۶۴ درصد در تیمار سرمادهی به مدت ۹۰ روز بدست آمد (جدول ۳ و ۴). به طور کلی نتایج این پژوهش نشان دادند که سرمادهی مرطوب عاملی ضروری برای شکستن خواب بذر روناس و موسیر می‌باشد.

نتایج بدست آمده نشان داد که بذرهای موسیر و روناس در تیمار شاهد فاقد جوانه‌زنی می‌باشند، این نتایج می‌تواند دلالت بر وجود خواب در بذرهای این گونه‌ها باشد. بذر بسیاری از گیاهان دارویی حتی در بهترین شرایط نیز درصد پایینی از جوانه‌زنی را دارند. بذرهای این گیاهان به نحوی سازگاری یافته‌اند که حتی در بهترین شرایط رطوبتی و دمایی درصد پایینی از بذرها قادر به جوانه‌زنی باشند، تا در صورت ادامه نیافتن شرایط مساعد رطوبتی و دمایی و یا بروز سرما و گرمای ناگهانی، تنها درصد کمی از بانک بذر گیاه صدمه ببیند (Chesson et al., 2004). همانطور که مشاهده می‌شود تیمار سرمادهی مرطوب به مدت ۹۰ روز در دمای چهار درجه سانتی‌گراد بهترین تیمار برای بهبود جوانه‌زنی موسیر (۶۴ درصد) و روناس (۸۹ درصد) بود. تحقیقات متعدد، بهبود جوانه‌زنی بذر بسیاری از گونه‌های دارویی را پس از تیمار سرمادهی مرطوب نشان داده است، که کنگر و ریواس (Sharifi, 2013)، کرفس کوهی (Amooaghaie and Valivand, 2014)، خردل وحشی (Sharifi and Goldani, 2016) و کوشاد (*Gentiana lutea* L.) (Millaku et al., 2012) از آن جمله‌اند. به نظر می‌رسد که سرمادهی زمستان و نزولات مهترین عامل در شکستن خواب بذر این گیاهان و سبز شدن آنها در رویشگاه‌های طبیعی باشد، بطوری که

۲۵۰ و ۵۰۰ قسمت در میلیون (ppm) تأثیری بر درصد و متوسط زمان جوانه‌زنی ندارد. ایروانی و همکاران (Irvani et al., 2012) گزارش نمودند که تیمار اسید جیبرلیک در غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیچ تأثیری بر شکستن خواب بذرهای گونه *Dorema ammoniacum* ندارد. والک و هدایتی (Walck and Hidayati, 2004) در مطالعات خود دریافتند که حضور اسید جیبرلیک جانشین مناسبی برای سرما در خواب بذرهای گونه *Osmorhiza depauperata* نمی‌باشد. برای جوانه‌دار کردن بذرهای گلپر نیز اسید جیبرلیک محرک خوبی برای جوانه‌زنی بذرها نیست (Moravcova et al., 2005). اگر تنها اثر سرما، افزایش میزان اسید جیبرلیک و ایجاد تعادل هورمونی در بذر باشد، پس استفاده از اسید جیبرلیک خارجی باید باعث سرعت بخشیدن به خواب شکنی بذر می‌گردد. ولی همان گونه که توضیح داده شد، در مورد موسیر و روناس، استفاده از این هورمون یا بی‌تأثیر بود و یا تأثیر ناچیزی بر جوانه‌زنی بذر داشت. بنابراین، سرما علاوه بر افزایش اسید جیبرلیک درون‌زاد نقش مهمی در تهیه محرک‌های لازم برای برطرف نمودن خواب بذر ایفا می‌کند. که احتمالاً یکی از این نقش‌ها می‌تواند کاهش مقاومت پوسته بذر و شکستن پوسته سخت بذرهای روناس و موسیر باشد. بی-اثر یا کم اثر بودن تیمار اسید جیبرلیک بر جوانه‌زنی را می‌توان به نوع بذر، نوع گونه گیاهی، نوع و عمق خواب، غلظت تیمار مورد استفاده و همچنین نحوه و زمان استفاده از این محلول نسبت داد. با توجه به هزینه بالای مواد شیمیایی مثل جیبرلین و اثر خیلی کم آن روی جوانه‌زنی بذر گونه‌های مورد بررسی و همچنین منع مصرف مواد شیمیایی در تولید ارگانیک نیازی به استفاده از آن برای شکستن خواب بذرهای این گونه‌ها نیست.

نتیجه اثر متقابل مجموعه‌ای از عوامل درونی و بیرونی هدایت خواهد شد. شرایطی که مجموعه آنها در طبیعت وجود دارند و باتوجه به نیازهای رویشگاهی گونه‌های مختلف پس از تأمین آنها، شرایط مطلوب جوانه‌زنی حاصل می‌گردد. در این تحقیق نیز با افزایش مدت زمان قرار دادن بذرها در شرایط سردماده‌ی مرطوب جوانه‌زنی نیز افزایش پیدا کرد. به نظر می‌رسد که شرایط سرد و مرطوب تاحدی باعث افزایش هورمون‌های محرک رشد در داخل بذر گونه‌های مورد مطالعه شده و با ایجاد تعادل هورونی در داخل بذر باعث شروع فرآیند جوانه‌زنی شده است. همچنین ممکن است قرار گرفتن بذرها در دمای پایین و سپس وارد شدن آنها به دمای معمولی، شوکی دمایی را برای پوسته بوجود آورده و باعث شکافته شدن پوسته بذر و افزایش جوانه‌زنی شده باشد.

در این تحقیق تیمار غلظت‌های مختلف اسید جیبرلیک بر روی جوانه‌زنی بذر موسیر و روناس یا بی‌اثر بوده و یا تأثیر پایینی داشته است. همچنین در تیمارهای تلفیقی سرما همراه جیبرلین، هورمون جیبرلین نتوانست جانشین بخشی از نیاز سرمای مورد نیاز برای شکستن خواب بذر موسیر و روناس شود. بنابراین احتمالاً عوامل دیگری بجز تعادل هورمونی بین اسید جیبرلیک و اسید آبسازیک در خواب بذر این گیاهان موثر هستند. در مورد بی‌اثر یا کم بودن این تیمار گزارشهای وجود دارد. از جمله شریفی و همکاران (Sharifi et al., 2015) با بررسی اثر سرما و اسید جیبرلیک بر روی بذرهای گلپر (*Heracleum persicum*)، چویل (*Dorema aucheri*) و کرفس وحشی (*Kelussia odoratissima*) به این نتیجه رسیدند که بر عکس تیمار سرماده‌ی مرطوب که باعث شروع فرآیند جوانه‌زنی می‌شود، تیمار اسید جیبرلیک در غلظت‌های

جدول ۳. تأثیر تیمارهای مختلف بر خصوصیات جوانه‌زنی گیاه دارویی روناس (میانگین‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد ندارند).

Table 3. Effects of different treatments on *Rubia tinctorum* seed germination characteristics (Means with similar letters, aren't significant in different 1% probability level).

تیمارها Treatments	درصد جوانه‌زنی Germination Percent	سرعت جوانه‌زنی (بذر در روز) Germination Rate (Seed/ Day)	شاخص بنیه بذر Seed Vigor Index
Control	0 g	0 h	0 g
GA <sub>3</sub> 200 ppm	0 g	0 h	0 g
GA <sub>3</sub> 400 ppm	0 g	0 h	0 g
GA <sub>3</sub> 600 ppm	8 fg	2.3 f	4.3 fg
GA <sub>3</sub> 800 ppm	12 f	2.8 e	7.2 efg
Prechilling 10 days	0 g	0 h	0 g
Prechilling 20 days	3 g	0.3 h	1.3 fg
Prechilling 30 days	16 ef	1.1 g	11 eg
Prechilling 40 days	30 d	3.1 e	25 d
Prechilling 50 days	53 c	5.2 d	53 c
Prechilling 70 days	78 b	7.5 c	110 b
Prechilling 90 days	89 a	11 a	154 a
Prechilling 30 days + GA <sub>3</sub> 400 ppm	22 de	1.4 g	16 de
Prechilling 70 days + GA <sub>3</sub> 400 ppm	78 b	8.1 b	112 b

جدول ۴. تأثیر تیمارهای مختلف بر خصوصیات جوانه‌زنی موسیر (میانگین‌های که دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد ندارند).

Table 4. Effects of different treatments on *Allium altissimum* seed germination characteristics (Means with similar letters, aren't significant in different 1% probability level).

تیمارها Treatments	درصد جوانه‌زنی Germination Percent	سرعت جوانه‌زنی (بذر در روز) Germination Rate (Seed/ Day)	شاخص بنیه بذر Seed Vigor Index
Control	0 g	0 h	0 f
GA <sub>3</sub> 200 ppm	0 g	0 h	0 f
GA <sub>3</sub> 400 ppm	0 g	0 f	0 f
GA <sub>3</sub> 600 ppm	12 de	4 d	13 e
GA <sub>3</sub> 800 ppm	18 cd	5.3 c	18 d
Prechilling 10 days	0 g	0 h	0 f
Prechilling 20 days	0 g	0 h	0 f
Prechilling 30 days	3 fg	1 g	4.7 f
Prechilling 40 days	8 ef	1.7 f	6.3 f
Prechilling 50 days	28 c	2.9 e	21 d
Prechilling 70 days	50 b	5.5 c	50 c
Prechilling 90 days	64 a	9.5 a	88 a
Prechilling 30 days + GA <sub>3</sub> 400 ppm	17 de	4.3 d	4.2 f
Prechilling 70 days + GA <sub>3</sub> 400 ppm	59 a	6.9 b	72 b

موسیر و روناس بترتیب به میزان ۸۸ و ۱۵۴ مربوط به تیمار سرمادهی مرطوب به مدت ۹۰ روز و کمترین شاخص بنیه بذر به میزان صفر مربوط به تیمارهای شاهد، سرمادهی مرطوب به مدت ۱۰ روز و اسید جیبرلیک با غلظت ۲۰۰ و ۴۰۰ قسمت در میلیون (ppm) بود (جدول ۴). عبدالباقی و اندرسون (Abdual-baki and Anderson, 1973) بیان کردند که بنیه بذر به درصد و طول گیاهچه وابسته است، از طرف دیگر بذرهایی که سریعتر جوانه می‌زنند بایستی طول گیاهچه بیشتری داشته باشند. بنابراین انتظار می‌رود تیمارهایی که بیشترین درصد و سرعت جوانه‌زنی را داشته‌اند بالاترین بنیه بذر را نیز داشته باشند. همان گونه که در این پژوهش مشاهده شد بالاترین بنیه بذر مربوط به تیمارهایی بود که بالاترین درصد و سرعت جوانه‌زنی را داشتند.

#### نتیجه‌گیری

در کل با توجه به نتایج بدست آمده احتمال می‌رود که بذره‌های موسیر و روناس دارای خواب فیزیکی (ناشی از پوسته سخت) می‌باشند که تیمار سرمادهی مرطوب به مدت ۹۰ روز به عنوان بهترین تیمار می‌تواند باعث شکستن خواب فیزیکی در بذره‌های این دو گونه می‌شود.

#### سپاسگزاری

شایسته است از زحمات و همراهی صمیمانه آقایان وحید نادری و قاسم نظری که در جمع‌آوری بذر گونه‌های مورد مطالعه همکاری لازم را داشته‌اند، کمال تشکر و قدردانی را داشته باشیم.

با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها تیمار سرمادهی مرطوب به مدت ۹۰ روز بیشترین تأثیر را بر سرعت جوانه‌زنی بذره‌های موسیر و روناس داشت. بطوری‌که در این تیمار سرعت جوانه‌زنی موسیر و روناس بترتیب برابر ۹/۵ و ۱۱ بذر در روز بود. همچنین در بین تیمارهای اعمال شده، تیمارهای شاهد، اسید جیبرلیک با غلظت ۲۰۰ قسمت در میلیون (ppm) و سرمادهی مرطوب ۱۰ و ۲۰ روزه، کمترین تأثیر را بر سرعت جوانه‌زنی موسیر و روناس داشتند، به طوری‌که سرعت جوانه‌زنی در این تیمارها تقریباً صفر بود (جدول ۳ و ۴). سرمادهی مرطوب بیشترین تأثیر را بر سرعت جوانه‌زنی هر دو گونه داشت. به طوری‌که با افزایش مدت زمان سرمادهی از ۱۰ روز به ۹۰ روز صفت مذکور به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد. و بالاترین سرعت جوانه‌زنی در هر دو گونه در تیمار سرمادهی ۹۰ روزه بدست آمد. یاماچی و همکاران (Yamauchi et al., 2004) بیان کردند که دمای چهار درجه سانتیگراد منجر به افزایش بیان ژن و تولید اسید جیبرلیک در ریشه‌چه و لایه آلورن می‌شود. با توجه به اینکه جوانه‌زنی بذره‌های موسیر و روناس عمدتاً در حضور سرمای مرطوب رخ داده بنابراین احتمال دارد که سرمادهی علاوه بر تحریک سنتز هورمون‌ها، با کاهش مقاومت پوسته بذر سبب افزایش سرعت جوانه‌زنی بذر - شود. نرم شدن و کاهش مقاومت پوسته بذر ضمن تسریع جذب آب باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی نیز می‌شود (Baskin and Baskin, 2014). این رخدادها که بطور همزمان رخ می‌دهد باعث شروع فرآیند جوانه‌زنی شده و سرعت جوانه‌زنی را افزایش می‌دهد.

مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر شاخص بنیه بذر این دو گیاه نشان داد بیشترین شاخص بنیه بذر در



- Abdual-baki, A. A., Anderson, J. D., 1973. Relationship between decarboxylation of glutamic acid and vigour in soybean seed. *Crop Science*. 13, 222-226.
- Abdul-Baki, A. A., Anderson, J. D., 1970. Viability and leaching of sugars from germination barley. *Crop Science*. 10, 31-34.
- Aghilian, S., Khajeh-Hosseini, M., Anvarkhah, S., 2014. Evaluation of seed dormancy in forty medicinal plant species. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*. 7, 760-768.
- Amooaghaie, R., Valivand, M., 2014. The effect of duration of moist chilling, concentration, type and application time nitrogen compounds on seed germination and seedling growth of *Kelussia odoratissima* Mozaff. *Journal of Plant Researches*. 27 (3), 465-477. [In Persian with English Summary]
- Bajji, M., Kinet, J. M., Lutts, S., 2002. Osmotic and ionic effects of NaCl on germination, early seedling growth, and ion content of *Atriplex halimus* (Chenopodiaceae). *Canadian Journal of Botany*. 80, 297-304.
- Baskin, C. C., Baskin, J. M., 2014. *Seeds: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination*. Second edition. San Diego: Elsevier/Academic Press. 1600 p.
- Chesson, P., Gebauer, L. E., Schwinning, S., Huntly, K., Wiegand, N. K., Ernest M. S. K., Sher, A., Novoplansky A., Weltzin, J. F., 2004. Resource pulses, species interactions, and diversity maintenance in arid and semi-arid environments. *Acta Oecologia*. 141, 236-253.
- Ehyaee, H., Khajeh-Hosseini, M., 2012. Evaluation of seed germination characteristics and dormancy in thirty lump of medicinal plants. *Iranian Journal of Field Crops Research*. 9 (4), 651-658. [In Persian]
- GhodratiAzadi, H., Riazi, G. H., Ghaffari, S. M., Ahmadian. S., JavdaniKhalife, T., 2009. Effects of *Allium hirtifolium* (Iranian shallot) and its allicin on microtubule and cancer cell lines. *African Journal of Biotechnology*. 8 (19), 5030-5037.
- Khatibzadeh, R., Azizi, M., Aroiee, H., Farsi, M., 2013. The effect superficial disinfection and chilling treatments on seed germination of *Levisticum officinale* Koch. in vitro. *Journal of Horticultural Science*. 27 (2), 130-138
- Irvani, N., Solouki, M., Omidi, M., Saidi, A., Zare, A., 2012. Seed germination and dormancy breaking in *Dorema ammoniacum* D., an endangered medicinal plant. *Trakia Journal of Sciences*. 10 (1), 9-15.
- Jafarian, A., Ghannadi, A., Elyasi, A., 2003. The effects of *Allium hirtifolium* Boiss. On cell-mediated immune response in mice. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2 (1), 51-55.
- Kucera, B., Cohn, M. A., Leubner-Metzger, G., 2005. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. *Seed Science Research*. 15, 281-307.
- Millaku, F., Gashi, B., Abdullai, k., Aliu, S., Osmani, M., Krasniqi, E., Mata, V., Rysha, A., 2012. Effects of cold-stratification, gibberellic acid and potassium nitrate on seed germination of yellow gentian (*Gentiana lutea* L.). *African Journal of Biotechnology*. 68 (11), 13173-13178.
- Milligan, G., 1999. Seed collection, treatment and storage. *International Plant Propagators' Society*. 49, 114-115.
- Moravcova, L., Perglova, I., Pysek, P., Jarosik, V., Pergl, J., 2005. Effects of fruit position on fruit mass and seed germination in the alien species *Heracleum mantegazzianum* (Apiaceae) and the implications for its invasion. *Acta Oecologica*. 28, 1-10.
- Omidbaigi, R., 2011. *Production and processing of medicinal plants*. Astanghods publication. Vol. 1, 283 p. [In Persian]
- Rezaeichiyaneh, E., Tajbakhsh, M., Valizadegan, O., Banaee Asl, F., Mahdavia, H., 2014. The effective methods to break dormancy of *Hyoscyamus reticulatus*. *Iranian Journal of Field Crops Research*. 12 (2), 246-253. [In Persian]

- Salehi, A., Masoumiasl, A., Moradi, A., 2015. Evaluation of the effective methods of seed dormancy breaking in medicinal plant of bilhar (*Dorema aucheri*). Iranian Journal of Seed Research. 2 (1), 65-72. [In Persian with English Summary]
- Sharifi, H., 2013. Investigation of seed dormancy and germination characteristics on thirty species of medicinal plants grown in Lorestan Province. MSc dissertation, Faculty of Agriculture, the Ferdowsi University of Mashhad, Iran. [In Persian with English Summary]
- Sharifi, H., Goldani. M., 2016. Effect of seed coat color and different treatments on seeds dormancy and germination characteristics of mustard (*Sinapis arvensis* L.). Iranian Journal of Seed Research. under Press. [In Persian with English Summary]
- Sharifi, H., Khajeh-Hosseini, M., Rashed-Mohassel, M.H., 2015. Study of Seed Dormancy in Seven Medicinal Species from Apiaceae. Iranian Journal of Seed Research. 2 (1), 25-36.
- Specht, C. E., Keller, E. R. J., 1997. Temperature requirements for seed germination in species of the genus *Allium* L. Genetic Resources and Crop Evaluation. 44, 509-517.
- Taran, M., Rezaeian, M., Izaddoost, M., 2006. Invitro Antitrichomonas Activity of *Allium hirtifolium* (Persian Shallot) in Comparison with Metronidazole. Iranian Journal of Public Health. 35 (1), 92-94.
- Walck, J. L., Hidayati, S. N., 2004. Germination ecophysiology of the Western North American species *Osmorhiza deuperata* (Apiaceae): Implications of preadaptation and phylogenetic niche conservatism in seed dormancy evolution. Seed Sciences Research. 14, 387-394
- Wang, M., 2009. Cultivation practices for *Astragalus membranaceus* in the southeastern United States. MSc dissertation, the Auburn University. Alabama. 119p.
- Yamaguchi, S., Kamiya, Y., 2000. Gibberellin biosynthesis: its regulation by endogenous and environmental signals. Plant Cell Physiology. 41 (3), 251-257.
- Yamauchi, Y., Ogawa, M., Kuwahara, A., Hanada, A., Kamiya, Y., Yamaguchi, S., 2004. Activation of gibberellin biosynthesis and response pathways by low temperature during imbibition of *Arabidopsis thaliana* seeds. Plant Cell. 16, 367-378.
- Zaman, S., 2013. medicinal plants. Ghoghnos Press, Tehran, Iran. 368 p. [In Persian]
- Zhou, Z. Q., Bao, W. K., Wu, N., 2009. Dormancy and germination in *Rosa multibracteata* Hemsl. and E. H. Wilson. Scientia Horticulturae. 119, 434-441.



**Effects of breaking dormancy on seed germination characteristics in two medicinal plants species *Allium altissimum* and *Rubia tinctorum***

**Hamid Sharifi<sup>1\*</sup>, Almas Nemati<sup>2</sup>, Mohammad Gerdakaneh<sup>3</sup>**

1. M.Sc, Department of Crop Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad.
2. M.Sc Student, Department of Horticultural Science, Jihad University of Kermanshah, Kermanshah, Iran.
3. , Assistant Professor, Agricultural and Natural Resources Research and Education Center of Kermanshah Province, Kermanshah, Iran.

**Received 16 November 2015; Accepted 6 March 2016**

**Abstract**

**Introduction:** One of the main strategies to rebuild natural habitats of medicinal species is cultivation and domestication of plants. but seed dormancy in medicinal plants is one of major obstacles for their cultivation and domestication that should provide field for their cultivation and domestication with breaking seed dormancy. Chilling treatments and Gibberellic acid among suitable treatments for breaking seeds dormancy presented as the most effective treatments of seed dormancy. This research done to evaluate the effect of different treatments of chilling and Gibberellic acid on seed dormancy of medicinal plants *Allium altissimum* and *Rubia tinctorum*.

**Materials and Methods:** Seed of medicinal species *Allium altissimum* and *Rubia tinctorum* were obtained from their natural habitats in Koohdasht city in the summer of 1393. For each species, separate experiments done in a completely randomized design with 14 treatments and 4 repeat so that their seed dormancy. Before the start of the experiment, was used of Hypochlorite due to surface sterilization seeds for 3 minute. Used treatments included chilling treatment in temperature 4 °C(Control, 10, 20, 30, 40, 50, 70, 90 days), Gibberellic acid treatment in density 200, 400, 600, 800 PPM, integrated Gibberellic acid treatment (400 PPM) with chilling (for 30 days) and integrated Gibberellic acid treatment (400 PPM) with chilling (for 70 days ). Seed samples after applying treatments transferred to Germinator (25 °C). Counting of germinated seeds 24 hours after of the start of the experiment done and recorded daily by the end of the experiment. Standard germination considered growing root to the 2 mm. at the end of experiment was calculated percent, rate and index vigor seeds.

**Results and Discussion:** Results of data variance showed that the effect of different treatments of seed dormancy have likely 1 percent significant difference on germination percent, germination rate and index vigor of *Allium altissimum* and *Rubia tinctorum* in surface. Seeds of *Allium altissimum* and *Rubia tinctorum* were without germination in control treatment, also different treatments of Gibberellic acid and chilling didn't have any significant effect on their seed dormancy for 10 and 20 days. In each two species *Allium altissimum* and *Rubia tinctorum* gained the highest germination percent respectively 89 and 64 percent, the most germination rate respectively 11 and 9.5 seed at day and the most index vigor respectively 88 and 154 in chilling treatment for 90 days. It seems cold condition and wet increase somehow growth of Hormone in seed of studied species and with making Hormone balance in seed is created the start of germination process . Also it is possible, seed

---

\*Correspondent author Email: [h.sharifi.h@gmail.com](mailto:h.sharifi.h@gmail.com)

placement at low temperature and then bringing them into normal temperature created temperature shock for coat and splitting seed coat and increasing germination. In this research different destinies treatment of Gibberellic acid on germination of *Allium altissimum* and *Rubia tinctorum* whether was without effect or had low effect. So in chilling integrated treatments with Gibberellic acid, Gibberellic Hormone couldn't be successor of required chilling for seed dormancy of *Allium altissimum* and *Rubia tinctorum*. So another factor likely is effective except Hormone balance between Gibberellic acid and ABA in seed dormancy of these plants.

**Key words: Germination rate, Gibberellic acid, Prechilling, Seed dormancy, Seed vigor.**