مجله اکوفیزیولوژی بذر

جلد اول، شماره دوم، نیمه دوم ۹٤

۲۰۱-۲۱۵

تأثیر بستر سرمادهی و تیمارهای شکست خواب بر جوانه‌زنی بذر باریجه (*Ferula gummosa* Boiss.)

سهیل پارسا [*1]، کرامه احمدی [2]، علی گزانچیان [3]، سهراب محمودی [4]

۱. استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه بیرجند
۲. دانش آموخته علوم و تکنولوژی بذر دانشگاه بیرجند
۳. استادیار مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی خراسان رضوی
۴. دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه بیرجند

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۲/۲۰؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۴/۳۱

چکیده

مقدمه: باریجه از گیاهان دارویی ارزشمند خانواده چتریان است. صمغ استخراج شده از ریشه این گیاه کاربردهای دارویی و صنعتی فراوانی دارد. بذور باریجه به دلیل داشتن نوعی خواب فیزیولوژیک جوانه‌زنی اندکی دارند. خواب فیزیولوژیکی نوع متداول خواب اولیه در خانواده چتریان است (Bewley and Black, 1994). بسته به گونه گیاهی برای شکستن خواب فیزیولوژیکی، بذرها باید در معرض سرما و یا گرما قرار گیرند و یا با جیبرلیک اسید یا مواد شیمیایی دیگر تیمار شوند (Bewley and Black, 1994). تاثیر برخی از انواع هورمون سیتوکنین در رفع خواب بذر به اثبات رسیده است (Sharifi and Pooresmael, 2006). در راستای بستر سازی جهت زراعی نمودن این گیاه، حفظ ذخایر ژنتیکی آن و توسعه صادرات به واسطه ارزش دارویی و صنعتی، این تحقیق به یافتن تیمارهای مناسب به منظور برطرف نمودن خواب بذرگیاه باریجه می پردازد.

مواد و روش‌ها: این تحقیق با هدف بهینه سازی روش‌های شکستن خواب بذر باریجه انجام گرفت. بدین منظور از دو آزمایش مجزا استفاده گردید. آزمایش اول به صورت فاکتوریل برپایه طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار و ۳ فاکتور انجام گرفت. فاکتورهای این آزمایش شامل مدت سرمادهی مرطوب (۰، ۲، ۳ و ۴ هفته)، غلظت جیبرلیک اسید (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ پی‌پی‌ام) و نوع بستر حذف خواب (ماسه و کاغذ صافی) بود. آزمایش دوم نیز درقالب طرحی مشابه آزمایش اول انجام شد. فاکتورهای این آزمایش شامل مدت سرمادهی مرطوب (۰، ۲، ۳ و ۴ هفته)، غلظت بنزیل آمینو پورین (۰، ۰/۲۵ و ۰/۳۵ میلی‌گرم در لیتر) و نوع بستر حذف خواب (ماسه و کاغذ صافی) بود. ضد عفونی بذور با استفاده از هیپوکلریت سدیم ۱ درصد به مدت ۵ دقیقه انجام شد. برای اعمال سرمادهی مرطوب بذرهای مرطوب در لابه‌لای کاغذ صافی استریل شده و همچنین ماسه مرطوب که روزانه آبیاری می‌شدند، به صورت جداگانه قرار گرفتند و در در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شدند. همه نمونه‌ها پس از اعمال تیمارهای فوق به اتاقک رشد با دمای ثابت ۱±۱۲ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. در هر واحد آزمایشی، ۲۰ عدد بذر در پتری‌دیش‌های ۹ سانتی‌متری قرار گرفت. صفات درصد و سرعت جوانه‌زنی در این تحقیق اندازه‌گیری شدند.

نتایج و بحث: نتایج این پژوهش نشان داد که سرمادهی مرطوب عاملی ضروری برای حذف خواب بذر باریجه می‌باشد. همچنین استفاده توام سرمادهی با هورمون سبب بهبود درصد و سرعت جوانه‌زنی بذور این گیاه گردید. در همین راستا زنگوئی و همکاران (Zangoie et al., 2013) بیان کردند که کاربرد توام هورمون جیبرلیک اسید با سرمادهی مرطوب سبب افزایش معنی‌دار سرعت جوانه‌زنی *Dorema ammoniacum* نسبت به تیمار سرمادهی گردید. یاماچی و همکاران (Yamauchi et al., 2004) بیان کردند که دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سبب افزایش بیان ژن و تولید جیبرلیک اسید در ریشه چه و لایه آلورون می‌گردد و بدین صورت استفاده توام سرمادهی و هورمون می‌تواند سبب بهبود جوانه‌زنی بذر گردد. در میان دو هورمون مورد استفاده تاثیر جیبرلیک اسید همراه با سرمادهی بر جوانه‌زنی بذور نسبت به تاثیر بنزیل آمینوپورین توام با سرمادهی بیشتر بود. همچنین مشخص گردید که استفاده از بستر ماسه مرطوب جهت اعمال تیمارهای حذف خواب بذر باریجه نسبت به بستر کاغذ صافی سبب دارای مزیت است. سرمادهی در لابه‌لای ماسه مرطوب به عنوان روشی بسیار مؤثر برای شکست خواب بذر گونه‌هایی نظیر *Leymus arenariu* (Greipsson, 2001) معرفی شده است. ماسه ماده‌ای معدنی است که امکان تجزیه سریع آن در اثر حمله میکرو ارگانیسم‌ها طی دوره سرمادهی وجود ندارد. از طرف دیگر شرایط رطوبتی مطلوب در بستر ماسه به دلیل خروج آب ثقلی و تنظیم رطوبت در حد ظرفیت نگهداری سبب می‌گردد که رطوبت کافی و مستمر

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیک: Sparsa@birjand.ac.ir

در اطراف بذر وجود داشته باشد (Nasiri, 2008). این پژوهش نشان داد که سرمادهی مرطوب عاملی ضروری برای حذف خواب بذر باریجه می باشد. در میان دو هورمون مورد استفاده تاثیر جیبرلیک اسید همراه با سرمادهی بر جوانه‌زنی بذور بیشتر از بنزیل آمینوپورین توام با سرمادهی بود. همچنین مشخص گردید که استفاده از بستر ماسه مرطوب جهت اعمال تیمارهای حذف خواب بذر باریجه نسبت به بستر کاغذ صافی سبب دارای مزیت است.

واژه‌های کلیدی: بنزیل آمینوپورین، جیبرلیک اسید، سرمادهی مرطوب، ماسه مرطوب.

مقدمه

باریجه (*Ferula gummosa* Boiss.) از گیاهان مهم دارویی، صنعتی و علوفه‌ای خانواده چتریان می‌باشدکه از اهمیت اقتصادی ویژه‌ای برخوردار است (Batooli, 1997). این گیاه در بخش‌های شمالی ایران از جمله دامنه‌های البرز و نیز خراسان و منطقه لار می‌روید (Omodbaigi, 2007). باریجه به دلیل داشتن صمغی که از ریشهٔ ذخیره‌ای آن استحصال می‌شود یکی از مهم‌ترین محصولات مرتعی ایران می‌باشد که در حجم زیاد به کشورهای اروپایی صادر می‌گردد (Eslami Manoochehri, 1994). این گیاه در طب سنتی ایران به عنوان خلط آور در بیماری‌های تنفسی و نیز ضد اسپاسم دستگاه گوارش استفاده می‌شود، ولی مصرف عمده آن در صنایع جواهرسازی (چسب الماس) و نیز به عنوان تثبیت کنندهٔ عطر در صنایع آرایشی می‌باشد (Nejatali et al., 2001).

جوانه‌زنی در چرخه زندگی گیاهان از اهمیت بالایی برخوردار است و اغلب پویایی جمعیت را کنترل می‌کند (Keller and Kollmann, 1999). یکی از مشکلات عمده‌ای که کشت بسیاری از گونه‌های وحشی این خانواده با آن مواجه است، جوانه‌زنی اندک به دلیل خواب بذر است (Robinson, 1954) که عبارت است از توقف جوانه‌زنی بذرهای سالم و زنده حتی در شرایط محیطی مناسب از قبیل نور، اکسیژن، نیترات و آب که خواب بذر نامیده می‌شود (Hilhorst, 1995) که یکی از مهم‌ترین مکانیزم‌ها در تاخیر جوانه‌زنی و حفظ بقا در گیاهان به شمار می‌رود (Koornneef et al., 2002). خواب فیزیولوژیکی نوع متداول خواب اولیه در خانواده چتریان است (Bewley and Black, 1994). بسته به گونه گیاهی برای شکستن خواب فیزیولوژیکی، بذرها باید در معرض سرما و یا گرما قرار گیرند و یا با جیبرلیک اسید یا مواد شیمیایی دیگر تیمار شوند (Bewley and Black, 1994). بررسی‌های انجام شده نشان دادند که بذر بسیاری از گیاهان تیره چتریان، درجات مختلفی از الگوی خواب فیزیولوژیکی را نشان می‌دهند که سرمادهی تا حد زیادی می‌تواند به رفع آن کمک نماید (Baskin et al., 2004؛ Vandelook et al., 2007 ؛ Walck and Hidayati, 2004).

تاثیر کاربرد جیبرلین‌ها در افزایش جوانه‌زنی و حذف خواب بذر در گونه‌های مختلف از جمله *Heracleum sosnowski* (Sidorenko, 1989) و برای گونه *Ptilianium nuttali* (Baskin et al., 1999) و *Perideridia gairdneri* (Phillips et al., 2003) از تیره چتریان نیز گزارش شده است. بسیاری از محققان معتقدند که بر طرف شدن خواب از طریق تعادل بین مواد بازدارنده رشد مانند اسید آبسیزیک و مواد تحریک کننده رشد مانند اسید جیبرلیک حاصل می‌شود (Chiwocha et al., 2005). اسید جیبرلیک مسیرهای انتقال سیگنال ویژه‌ای را فعال می‌کند که باعث می‌شود میزان اسید آبسیزیک بذور کاهش و در مقابل میزان اکسین‌ها و سیتوکنین‌های بذر به حد مناسبی جهت القای شکست خواب ارتقا یابد (Qiang et al., 2005). توماس و همکاران (Thomas et al., 1985) نشان دادند که کاربرد اسید جیبرلیک در بذرهای کرفس سطوح سایر هورمون‌ها و همچنین جریان برخی یون‌ها از جمله پتاسیم و کلسیم از خلال غشاها را تغییر می‌دهد و این تحولات موجب انتقال سیگنال‌های ویژه و تحریک سنتز یا فعالیت متابولیت‌ها و آنزیم‌های محرک جوانه‌زنی بذر می‌شود. تاثیر برخی انواع هورمون سیتوکنین در رفع خواب

بذر به اثبات رسیده است (Prasad et al., 1983). برخی ترکیبات سیتوکنینی نظیر بنزیل آمینو پورین و کینیتین موجب رفع خواب و القاء جوانه‌زنی در بذرهای زیره کوهی از خانواده چتریان گردید، بررسی اثر متقابل بین تیمارهای هورمونی بر بذر زیره کوهی، نشان داد در بذرهایی که پس از پیش تیمار سرمای مرطوب در معرض بنزیل آمینو پورین ۱۰- ۵ مولار قرار گرفتند درصد جوانه‌زنی در مقایسه با شاهد (آب مقطر) به طور معنی‌داری افزایش یافت (Sharifi and Pooresmael, 2006).

در راستای بستر سازی جهت زراعی نمودن این گیاه، حفظ ذخایر ژنتیکی آن و توسعه صادرات به واسطه ارزش دارویی و صنعتی، این تحقیق به یافتن تیمارهای مناسب به منظور برطرف نمودن خواب بذر گیاه باریجه می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

بذرهای باریجه از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی تهیه گردید. به منظور ارزیابی تاثیر سرمادهی مرطوب، برخی تیمارهای هورمونی و بستر سرمادهی بر شکست خواب و القاء جوانه‌زنی در بذرهای این گیاه، دو آزمایش مجزا در آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند اجرا گردید. آزمایش اول به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار و ۳ فاکتور انجام گرفت. فاکتورهای این آزمایش شامل مدت سرمادهی مرطوب (۰، ۲، ۳ و ۴ هفته)، غلظت جیبرلیک اسید (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ پی‌پی‌ام) و نوع بستر حذف خواب (ماسه و کاغذ صافی) بود. آزمایش دوم نیز درقالب طرحی مشابه آزمایش اول صورت گرفت. فاکتورهای این آزمایش شامل مدت سرمادهی مرطوب (۰، ۲، ۳ و ۴ هفته)، غلظت بنزیل آمینو پورین (۰، ۰/۲۵ و ۰/۳۵ میلی گرم در لیتر) و نوع بستر حذف خواب (ماسه و کاغذ صافی) بود. در غلظت صفر تیمارهای هورمونی از آب مقطر استریل استفاده گردید. اتانول ۵۰ درصد و اسید کلریدریک ۱ نرمال به ترتیب به عنوان حلال‌های جیبرلیک اسید و بنزیل آمینو پورین استفاده شدند. ابتدا در آزمایشگاه، بذرها از مواد خارجی، بذرهای نرسیده، پوک و شکسته جدا شدند، آنگاه بذرهای انتخاب شده به منظور پیشگیری از هر گونه آلودگی، با استفاده از محلول هیپوکلریت سدیم ۱ درصد، به مدت ۵ دقیقه ضدعفونی و پس از سه بار شستشو با آب مقطر استریل، برای تیماردهی آماده شدند. به منظور اطمینان و تایید قوه نامیه بذرها، آزمون تترازولیوم بر روی آنها انجام گرفت. بذرهای مرطوب در لابه‌لای کاغذ صافی استریل شده و همچنین ماسه مرطوب که روزانه آبیاری می‌شدند، به صورت جداگانه قرار گرفتند و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شدند (سرمادهی مرطوب). در همه تیمارها هورمون یا آب مقطر به کار برده شده به میزان ۱۵ میلی‌لیتر به مدت ۲۴ ساعت بلافاصله پس از اتمام دوره سرمادهی بود. همه نمونه‌ها پس از اعمال تیمارهای فوق به اتاقک رشد با دمای ثابت ۱±۱۲ درجه سانتی‌گراد با دوره نوری متناوب ۱۲ ساعت تاریکی و روشنایی و رطوبت نسبی ۷۰ درصد منتقل شدند. در هر واحد آزمایشی، ۲۰ عدد بذر در پتری‌دیش‌های ۹ سانتی-متری قرار گرفت و جهت تامین رطوبت مورد نیاز بذرها، حدود ۵ میلی‌لیتر آب مقطر به پتری‌ها اضافه شد.جوانه-زنی بذرها هر ۲۴ ساعت و به مدت ۲۱روز کنترل شد و مبنای جوانه‌زنی خروج ریشه‌چه به میزان ۲ میلی‌متر بود. در پایان با استفاده از روابط زیر درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی بذور محاسبه گردید:

$$GP = \frac{n}{N} \times 100$$

در این فرمول GP درصد جوانه‌زنی، n تعداد بذر جوانه‌زده در پایان آزمایش و N تعداد کل بذور می باشند. برای محاسبه سرعت جوانه‌زنی از رابطه زیر استفاده گردید (Maguire, 1962).

$$RS = \sum_{i=1}^{n} \frac{Si}{Di}$$

در این فرمول RS سرعت جوانه‌زنی (بذر در روز)، S_i تعداد بذر جوانه‌زده در هر شمارش و D_i تعداد روز تا شمارش n ام می‌باشند. داده‌هایی که بر حسب درصد بودند قبل از آنالیز واریانس جهت نرمال سازی توزیع، تبدیل زاویه‌ای شدند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SAS ver. 9.2 استفاده شد. رسم جداول و نمودارها با استفاده از Excel انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD و در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌های این تحقیق در جدول ۱ و ۲ نشان داده شده است. مشاهده گردید که اثر مدت زمان سرمادهی مرطوب بر درصد جوانه‌زنی در هر دو آزمایش در سطح احتمال ۱ درصد و بر سرعت جوانه‌زنی در آزمایش نخست در سطح احتمال ۱ درصد و در آزمایش دوم در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول۱ و ۲). در هر دو آزمایش افزایش مدت زمان سرمادهی مرطوب سبب افزایش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی بذر باریجه گردید به گونه‌ای که بالاترین درصد جوانه‌زنی در هر دو آزمایش در تیمار ۴ هفته سرمادهی مرطوب بدست آمد. همچنین به ازای هر یک هفته افزایش مدت زمان سرمادهی، درصد جوانه‌زنی به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد. حداکثر درصد جوانه‌زنی در آزمایش نخست ۵۵ و در آزمایش دوم ۵۰/۳ درصد بود (شکل ۱ و ۳). واکنش مشابهی در سرعت جوانه‌زنی نیز مشاهده گردید بدین ترتیب که افزایش مدت زمان سرمادهی مرطوب در محدوده زمانی صفر (عدم سرمادهی) تا ۴ هفته سبب افزایش معنی‌دار سرعت جوانه‌زنی بذر باریجه در هر دو آزمایش گردید (شکل ۲ و ۴). عمو آقایی (Amoo Aghaii, 2007) گزارش داد که افزایش مدت زمان سرمادهی در محدوده ۰ تا ۹ هفته سبب افزایش معنی‌دار درصد و زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی در بذور *Ferula ovina* Boiss. گردید؛ کاهش زمان جوانه‌زنی نشان دهنده افزایش سرعت جوانه‌زنی بذر می‌باشد که با نتایج این پژوهش تطابق دارد. کرشمر (Kretshmer, 1999) گزارش کرد که کاربرد سرمادهی مرطوب برای شکست خواب بذر اکثر چتریان ضروری است. آنچه مسلم است سرما بعنوان محرک ثانویه تولید هورمون اسید جیبرلیک در بذر عمل می‌کند، و با افزایش این هورمون، میزان اسید آبسیزیک کاهش می‌یابد، سپس اسید جیبرلیک به لایه آلورن رفته و آنزیم‌های مختلفی را فعال می‌کند. یکی از این آنزیم‌ها، آلفا آمیلاز است که موجب شکسته شدن قندها و نشاسته بذر شده و آنها را به مواد قابل استفاده جنین تبدیل می‌کند (Peng and Harberd, 2002).

اثر غلظت جیبرلیک اسید بر درصد جوانه‌زنی (P> ۰/۰۱) معنی‌دار بود. افزایش غلظت جیبرلیک اسید از صفر به ۱۵۰، از ۱۵۰ به ۵۰۰ و از ۵۰۰ به ۱۵۰۰ پی‌پی‌ام سبب افزایش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی بذر باریجه شد. بالاترین درصد جوانه‌زنی در غلظت ۱۵۰۰ پی‌پی‌ام جیبرلیک اسید (۴۶/۷ درصد) بدست آمد (شکل ۵). در همین راستا کوچکی و عزیزی (Koochaki and Azizy, 2005) گزارش کردند که با افزایش غلظت جیبرلیک اسید از ۱۰۰ به ۲۵۰ پی‌پی‌ام درصد جوانه‌زنی بذر کلپوره به طور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین چاکرابورتی و همکاران (Chakraborty et al., 2003) نشان دادند که کاهش غلظت جیبرلیک اسید سبب کاهش درصد جوانه-زنی *Basilicum polystachyon* گردید به طوری که غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام این هورمون هیچ اثری بر جوانه‌زنی بذر گیاه مذکور نداشت.

اثر غلظت هورمون بنزیل آمینوپروین بر درصد جوانه-زنی(P> ۰/۰۱) معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج نشان دادند که استفاده از هورمون بنزیل آمینوپورین سبب افزایش درصد جوانه‌زنی بذور نسبت به شاهد گردید و غلظت ۰/۳۵ میلی‌گرم بر لیتر این هورمون درصد جوانه‌زنی را نسبت به شاهد به طور معنی‌داری افزایش داد (شکل ۶). حسنی و همکاران (Hassani et al., 2009) مشاهده کردند که استفاده از هورمون بنزیل آمینوپورین سبب افزایش

جدول ۱. میانگین مربعات مربوط به اثر هورمون اسید جیبرلیک، سرمادهی و بستر بر شاخص‌های جوانه‌زنی باریجه

Table 1. Mean square related to the effect of GA_3 , moist chilling and media on galbanum germination indices

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	سرعت جوانه‌زنی Germination Rate	درصد جوانه‌زنی Germination Percentage
مدت سرمادهی Moist Chilling Duration (D)	3	16.156**	38.226 **
غلظت اسید جیبرلیک GA_3 Concentration (C)	6	0.419 ns	64.166 **
نوع بستر Media Type (M)	1	6.801 ns	77.585 **
مدت سرمادهی × غلظت جیبرلیک اسید C ×D	18	0.213**	65.114**
مدت سرمادهی × نوع بستر M × D	3	1.247**	59.115**
غلظت اسید جیبرلیک × نوع بستر M× C	6	0.487**	694.04 **
مدت سرمادهی × غلظت جیبرلیک اسید × نوع بستر D × C × M	18	0.182 ns	54.143 ns
خطا Error	112	0.084	19.59
ضریب تغییرات (٪) CV	-	**17.87**	**21.13**

ns, * و ** : به ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد را نشان می دهند.

ns, * and ** shows non significant and significant at %5 and %1 levels respectively.

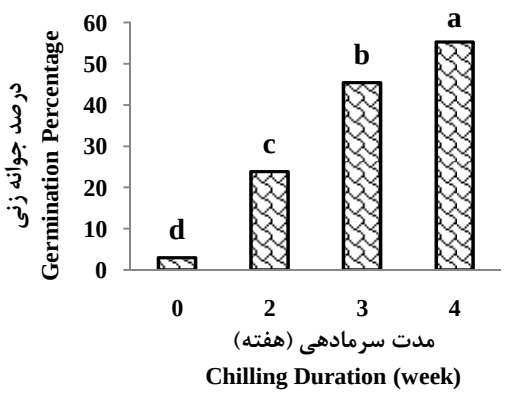
جدول ۲. میانگین مربعات مربوط به اثر هورمون بنزیل آمینوپورین، سرمادهی و بستر بر شاخص‌های جوانه‌زنی باریجه

Table 2. Mean square related to the effect of BAP , moist chilling and media on galbanum germination indices

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	سرعت جوانه‌زنی Germination Rate	درصد جوانه‌زنی Germination Percentage
مدت سرمادهی Moist Chilling Duration (D)	3	7.23*	33.797**
غلظت بنزیل آمینو پورین BAP Concentration (C)	2	0.14 ns	43.481**
نوع بستر Media Type (M)	1	1.43ns	96.107ns
مدت سرمادهی × غلظت بنزیل آمینو پورین C ×D	6	0.23 ns	55.78ns
مدت سرمادهی × نوع بستر M × D	3	0.25 ns	34.18ns
غلظت بنزیل آمینو پورین × نوع بستر M× C	2	0.63 **	30.57**
مدت سرمادهی × غلظت بنزیل آمینو پورین × نوع بستر D × C × M	6	0.25 ns	68.128 ns
خطا Error	48	0.12	19.77
ضریب تغییرات (٪) CV	-	**15.30**	**20.13**

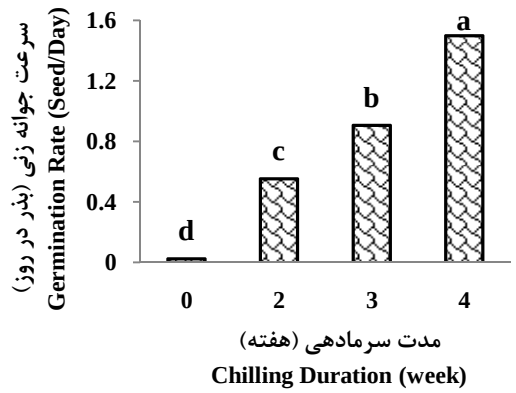
ns, * و ** : به ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد را نشان می دهند.

ns, * and ** shows non significant and significant at %5 and %1 levels respectively.



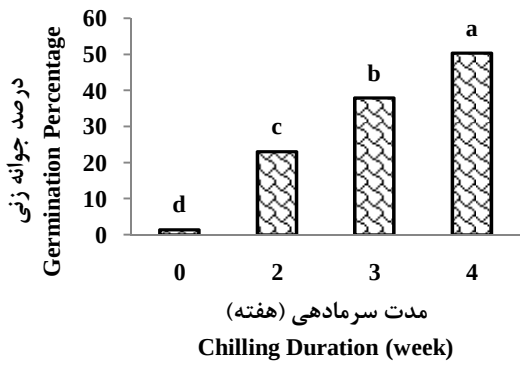
شکل ۱. اثر مدت زمان سرمادهی مرطوب بر درصد جوانه‌زنی بذور باریجه درآزمایش اول

Fig 1. Effect of moist chilling duration on the galbanum seed germination percentage at first experiment



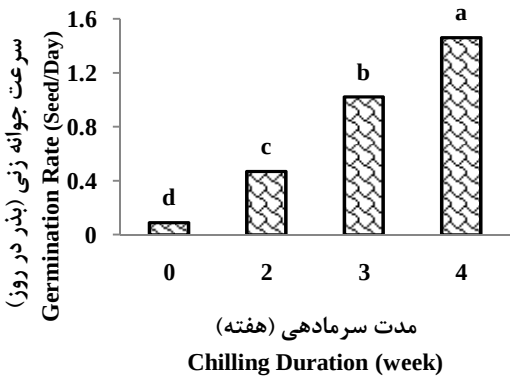
شکل ۲. اثر مدت زمان سرمادهی مرطوب بر سرعت جوانه‌زنی بذور باریجه درآزمایش اول

Fig 2. Effect of moist chilling duration on the galbanum seed germination rate at first experiment



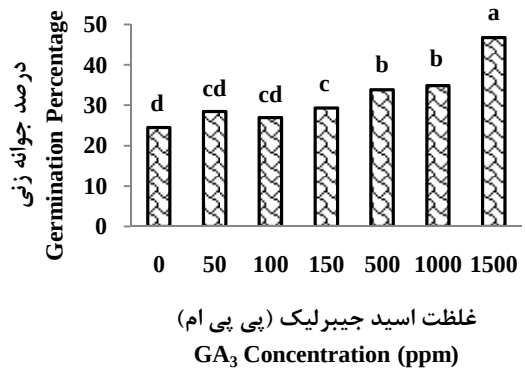
شکل ۳. اثر مدت زمان سرمادهی مرطوب بر درصد جوانه‌زنی بذور باریجه در آزمایش دوم

Fig 3. Effect of moist chilling duration on the galbanum seed germination percentage at second experiment



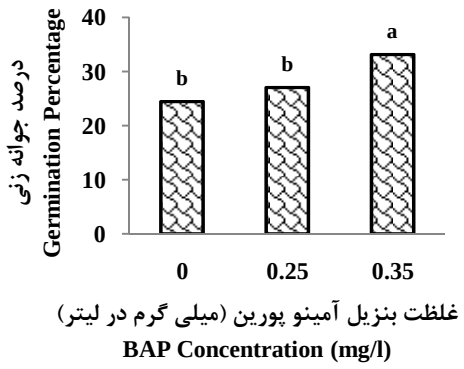
شکل ۴. اثر مدت زمان سرمادهی مرطوب بر سرعت جوانه‌زنی بذور باریجه در آزمایش دوم

Fig 4. Effect of moist chilling duration on the galbanum seed germination rate at second experiment



شکل ۵. اثر غلظت هورمون اسید جیبرلیک بر درصد جوانه-زنی بذور باریجه

Fig 5. Effect of GA_3 concentration on the galbanum seed germination percentage



شکل ۶. اثر غلظت هورمون بنزیل آمینوپورین بر درصد جوانه‌زنی بذور باریجه

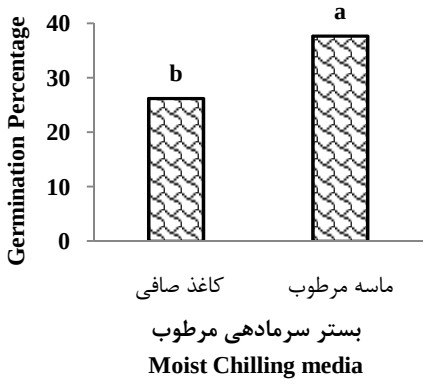
Fig 6. Effect of BAP concentration on the galbanum seed germination percentage

معنی‌دار درصد جوانه‌زنی بذور آنغوزه *Ferula assa-foetida* L. گردید. گزارش شده که سیتوکینین به تنهایی سبب شکستن خواب بذور بسیاری از گیاهان می‌شود؛ هرچند واکنش جوانه‌زنی گیاه به سیتوکینین‌های مختلف متفاوت می‌باشد (Kucera et al., 2005). ثابت شده که بنزیل آمینوپورین نسبت به دیگر سیتوکینین‌ها در جوانه-زنی و شکستن خواب بذر در کرفس و کاهو تاثیر بیشتری دارد (Kucera et al., 2005 ؛Kabar, 1998).

نوع بستر سرمادهی در آزمایش اول، درصد جوانه‌زنی را در سطح احتمال ۱ درصد تحت تاثیر قرار داد (جدول ۱). درصد جوانه‌زنی در بستر ماسه مرطوب (۳۷/۶ درصد) به طور معنی‌داری بیشتر از درصد جوانه‌زنی مشاهده شده در بستر کاغذ صافی (۲۶/۲ درصد) بود (شکل ۷). در همین راستا نصیری و همکاران (Nasiri et al., 2004) گزارش دادند که از میان ۳۱ گونه گیاه جنگلی و مرتعی مورد بررسی که دارای کمون بذر بودند ۱۱ گونه به تیمارهای حذف خواب در بستر ماسه واکنش بهتری نشان دادند، همچنین ۱۸ گونه به بستر کاغذ صافی بهتر واکنش نشان دادند و در دو گونه نیز اختلافی بین درصد جوانه‌زنی در دو بستر مذکور مشاهده نگردید. همچنین این بررسی نشان داد که اغلب گونه‌های مربوط به خانواده چتریان به سرمادهی مرطوب در بستر ماسه‌ای بهتر از کاغذ صافی واکنش می‌دهند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

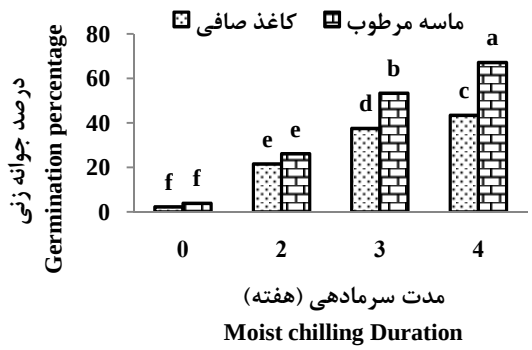
اثر متقابل مدت زمان سرمادهی در نوع بستر بذر بر درصد ($P>$ ۰/۰۱) و سرعت جوانه‌زنی ($P>$ ۰/۰۱) در آزمایش اول معنی‌دار بود (جدول ۱). مشاهده گردید که در کلیه زمان‌های سرمادهی مرطوب با استفاده از بستر ماسه درصد جوانه‌زنی نسبت به بستر کاغذ صافی بالاتر بود و این اختلاف در دو تیمار ۳ و ۴ هفته سرمادهی به لحاظ آماری معنی‌دار بود (شکل ۸). واکنش مشابهی در سرعت جوانه‌زنی تحت تاثیر برهمکنش بستر و مدت زمان سرمادهی مشاهده گردید به گونه‌ای که در دو تیمار سرمادهی به مدت ۲ و ۴ هفته اختلاف قابل توجهی در این صفت توسط بستر ماسه‌ای ایجاد گردید (شکل ۹). با توجه به اینکه بستر ماسه امکان خروج بازدارنده‌های جوانه‌زنی و اسمولیت‌های خارج شده را از محیط بذر فراهم می‌آورد، می‌تواند منجر به بازدهی بیشتر تیمار سرمادهی مرطوب برای شکستن خواب بذر باریجه گردد. بدین ترتیب طی سرمادهی مرطوب با یک مدت معیین بذوری که در بستر ماسه قرار گرفته اند نسبت به آن‌هایی که در بستر کاغذ صافی سرمادهی شده‌اند، بهتر جوانه می‌زنند.

بر همکنش غلظت هورمون بنزیل آمینوپورین در نوع بستر بر درصد و سرعت جوانه‌زنی ($P>$ ۰/۰۱) معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج نشان دادند که نوع بستر در شرایط عدم استفاده از بنزیل آمینو پورین اختلاف معنی‌داری در درصد جوانه‌زنی ایجاد ننمود ولی در غلظت‌های ۰/۲۴ و ۰/۳۵ میلی‌گرم بر لیتر ، بستر ماسه سبب افزایش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی بذور گردید به گونه‌ای که اختلاف درصد جوانه‌زنی بدست آمده در تیمار ۰/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر توام با بستر ماسه با تیمار ۰/۳۵ میلی‌گرم بر لیتر همراه با بستر ماسه (که بالاترین درصد جوانه‌زنی را داشت) معنی-دار نبود. بنابراین مشخص گردید که استفاده از بستر ماسه در حذف خواب بذر باریجه با هورمون بنزیل آمینوپورین سبب افزایش کارایی تیمار ۰/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر این هورمون در شکستن خواب بذر گیاه شد (شکل ۱۰). واکنش مشابهی در شاخص سرعت جوانه‌زنی بذور تحت تاثیر برهمکنش غلظت بنزیل آمینوپورین با نوع بستر مشاهده گردید به طوری که در در کلیه سطوح غلظتی بنزیل آمینوپورین استفاده از بستر ماسه سبب افزایش معنی‌دار سرعت جوانه‌زنی گردید به طوری که بین دو تیمار غلظتی ۰/۲۵ و ۰/۳۵ میلی‌گرم در لیتر توام با بستر ماسه اختلاف معنی‌داری در سرعت جوانه‌زنی مشاهده نگردید (شکل ۱۱).



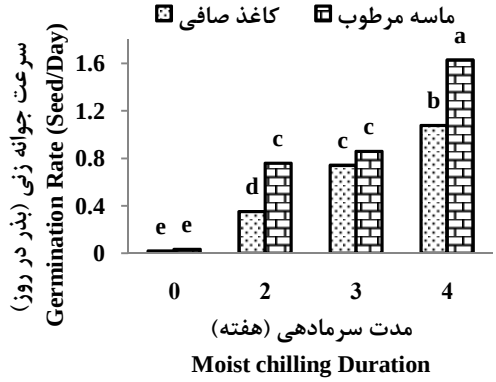
شکل ۷. اثر نوع بستر سرمادهی بر درصد جوانه‌زنی بذور باریجه در آزمایش اول

Fig 7. Effect of moist chilling media on the galbanum seed germination percentage at first experiment



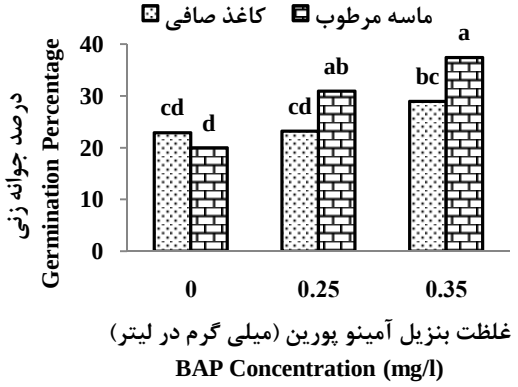
شکل ۸. اثرمتقابل مدت سرمادهی در نوع بستر بر درصد جوانه‌زنی بذور باریجه درآزمایش اول

Fig 8. Interaction effect between moist chilling duration and media on the galbanum seed germination percentage at first experiment



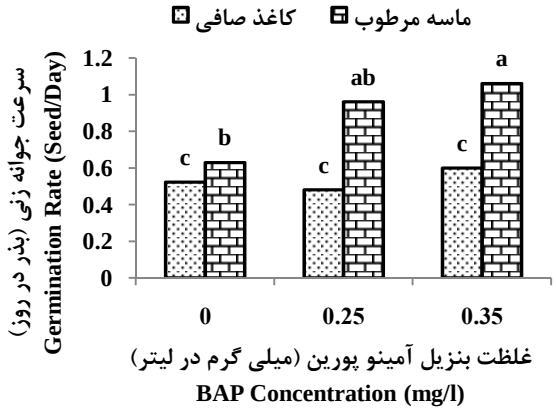
شکل ۹. اثرمتقابل مدت زمان سرمادهی در نوع بستر بر سرعت جوانه‌زنی بذور باریجه درآزمایش اول

Fig 9. Interaction effect between moist chilling duration and media on the galbanum seed germination rate at first experiment



شکل ۱۰. اثر متقابل غلظت هورمون بنزیل آمینوپورین در نوع بستر سرمادهی بر درصد جوانه‌زنی بذور باریجه

Fig 10. Interaction effect between BAP concentration and media on the galbanum seed germination percentage



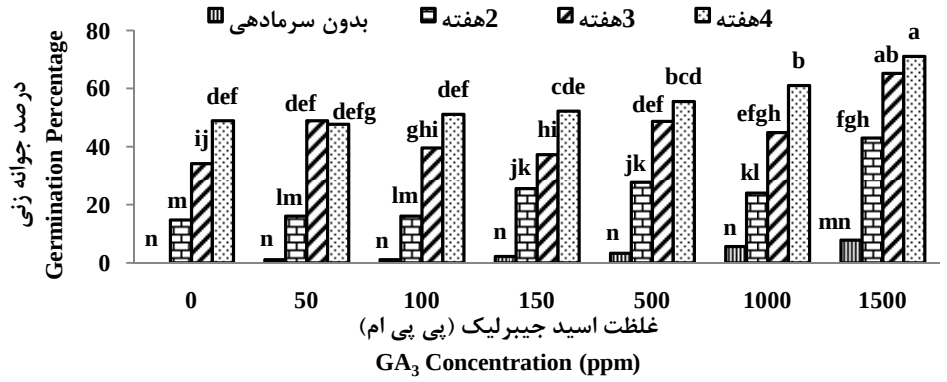
شکل ۱۱. اثر متقابل غلظت هورمون بنزیل آمینوپورین در نوع بستر سرمادهی بر سرعت جوانه‌زنی بذور باریجه

Fig 11. Interaction effect between BAP concentration and media on the galbanum seed germination rate

اثر متقابل مدت سرمادهی در غلظت جیبرلیک اسید بر سرعت جوانه‌زنی (P> ۰/۰۱) معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج نشان دادند که استفاده از جیبرلیک اسید با غلظت-های مختلف بدون اعمال سرمادهی مرطوب تاثیری بر سرعت جوانه‌زنی بذر باریجه نداشت. با افزایش مدت زمان سرمادهی در اکثر سطوح غلظتی جیبرلیک اسید سرعت جوانه‌زنی به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد. بیشترین سرعت جوانه‌زنی در تیمار ۴ هفته سرمادهی توام با ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ پی‌پی‌ام جیبرلیک اسید مشاهده شد. استفاده از غلظت‌های بالای جیبرلیک اسید سبب افزایش قابل توجه سرعت جوانه‌زنی بذر در تیمار سرمادهی مرطوب به مدت ۴ هفته گردید (شکل ۱۳). در همین راستا زنگوئی و همکاران (Zangoie et al., 2013) بیان کردند که کاربرد توام هورمون جیبرلیک اسید با سرمادهی مرطوب سبب افزایش معنی‌دار سرعت جوانه‌زنی گیاه دارویی کندل *Dorema ammoniacum* نسبت به تیمار سرمادهی گردید. گزارش شده که اثر جیبرلیک اسید هنگامی که با سرما همراه گردد، افزایش می‌یابد زیرا سرما نقش مهمی در فراهم شدن شرایط لازم برای غلبه بر خواب بذر دارد. سرما سبب القای افزایش غلطت جیبرلیک اسید می‌گردد (Bretzloff, 1979). یاماچی و همکاران (Yamauchi et al., 2004) بیان کردند که دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سبب افزایش بیان ژن و تولید جیبرلیک اسید در ریشه‌چه و لایه آلورون می‌گردد.

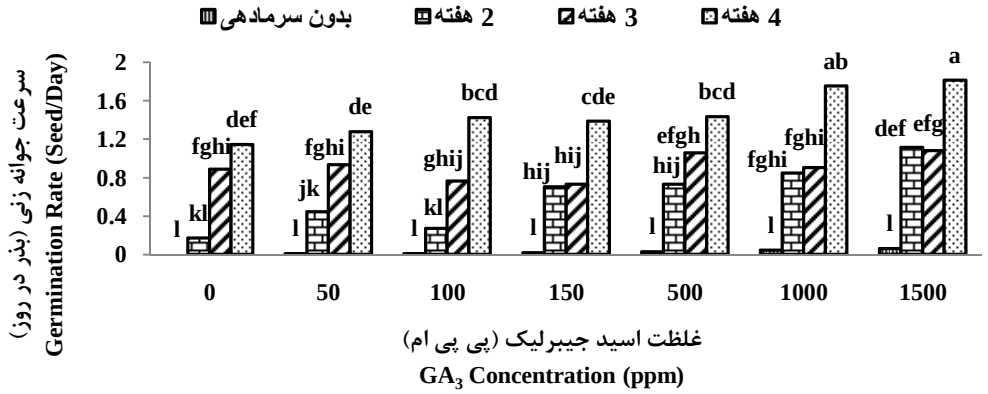
برهمکنش غلظت جیبرلیک اسید در نوع بستر بر درصد جوانه‌زنی (P> ۰/۰۱) معنی‌دار بود (جدول ۱). در بستر کاغذ صافی اختلاف معنی‌داری بین درصد جوانه‌زنی تحت تاثیر غلظت‌های مختلف جیبرلیک اسید در محدوده صفر تا ۵۰۰ پی‌پی‌ام وجود نداشت. با افزایش غلظت این هورمون به ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام درصد جوانه‌زنی به صورت معنی‌داری افزایش پیدا کرد. ولی در بستر ماسه مرطوب استفاده از جیبرلیک اسید با غلظت ۵۰ پی‌پی‌ام سبب افزایش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی نسبت به سطح صفر پی-پی‌ام گردید. بالاترین درصد جوانه‌زنی در تیمار ۱۵۰۰ پی-پی‌ام توام با بستر ماسه مرطوب بدست آمد که نسبت به تیمار بستر کاغذ صافی در همان غلظت (۱۵۰۰ پی‌پی‌ام) درصد جوانه‌زنی را به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش داد. افزایش درصد جوانه‌زنی بذر باریجه تحت تاثیر استفاده از بستر ماسه مرطوب در کلیه سطوح غلظتی جیبرلیک اسید مشهود بود (شکل ۱۴). نصیری (Nasiri, 2008) گزارش داد که استفاده از بستر ماسه سبب افزایش درصد جوانه-زنی نسبت به بستر کاغذ صافی طی سرمادهی مرطوب بذور کیکم *Acer monospessulanum* L. گردید.

اثر متقابل غلظت جیبرلیک اسید در نوع بستر بر سرعت جوانه‌زنی (P> ۰/۰۱) معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج نشان داد که با افزایش غلظت جیبرلیک اسید به تدریج سرعت جوانه‌زنی در هر دو بستر مورد استفاده افزایش یافت به گونه‌ای که بین مقادیر این شاخص در غلظت‌های بالا با غلظت‌های پایین مورد استفاده تفاوت معنی‌داری وجود داشت. یامگوچی و کامیا (Yamaguchi and Kamiya, 2000) گزارش کردند که اسید جیبرلیک سبب سنتز آنزیم آلفا آمیلاز در لایه آلورون می‌شود و این آنزیم در تجزیه نشاسته و ذخیره غذایی آندوسپرم و انتقال این مواد به رویان در حال رشد مؤثر می‌باشد، و در نهایت سبب افزایش درصد و سرعت سبز شدن می‌شود. در کلیه سطوح غلظتی جیبرلیک اسید، بستر ماسه مرطوب سرعت جوانه‌زنی را نسبت به بستر کاغذ صافی افزایش داد (شکل ۱۵). نتایج این پژوهش حاکی از اثرات مثبت بستر ماسه-ای نسبت به کاغذ صافی جهت شکستن خواب بذر باریجه است. سرمادهی در لابه‌لای ماسه مرطوب به عنوان روشی بسیار مؤثر برای شکست خواب بذر گونه‌هایی نظیر *Leymus arenariu* (Greipsson, 2001) و *Panax* (Stoltz and Snyder, 1985) می‌باشد. ماسه ماده‌ای معدنی است که امکان تجزیه سریع آن در اثر حمله میکرو ارگانیسم‌ها طی دوره سرمادهی وجود ندارد. در معرض نبودن مستقیم بذر با عوامل بیماری‌زا و امکان افزایش مدت سرمادهی



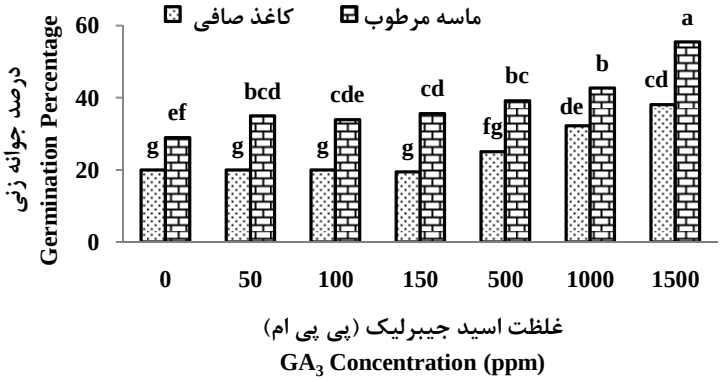
شکل ۱۲. اثرمتقابل مدت زمان سرمادهی در غلظت هورمون اسید جیبرلیک بر درصد جوانه‌زنی بذور باریجه

Fig 12. Interaction effect between moist chilling duration and GA_3 concentration on the



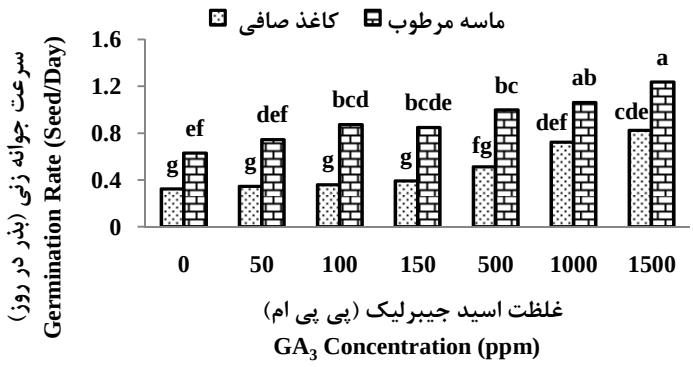
شکل ۱۳. اثر متقابل مدت زمان سرمادهی در غلظت هورمون اسید جیبرلیک بر سرعت جوانه‌زنی بذور باریجه

Fig 13. Interaction effect between moist chilling duration and GA_3 concentration on the galbanum seed germination rate



شکل ۱۴. اثرمتقابل غلظت هورمون اسید جیبرلیک در نوع بستر بر درصد جوانه‌زنی بذور باریجه

Fig 14. Interaction effect between GA_3 concentration and media on the galbanum seed germination percentage



شکل ۱۵. اثرمتقابل غلظت هورمون اسید جیبرلیک در نوع بستر برسرعت جوانه‌زنی بذور باریجه

Fig 15. Interaction effect between GA_3 concentration and media on the galbanum seed germination rate

در چنین شرایطی منجر به شکستن خواب درصد بیشتری از بذور می‌گردد. از طرف دیگر شرایط رطوبتی مطلوب در بستر ماسه به دلیل خروج آب ثقلی و تنظیم رطوبت در حد ظرفیت نگهداری سبب می‌گردد که رطوبت کافی و مستمر در اطراف بذر وجود داشته باشد (Nasiri, 2008).

نتیجه گیری

این پژوهش نشان داد که سرمادهی مرطوب عاملی ضروری برای حذف خواب بذر باریجه می‌باشد. همچنین استفاده توام از سرمادهی با هورمون‌های جیبرلیک اسید و بنزیل آمینوپورین سبب بهبود جوانه‌زنی بذور این گیاه گردید. در میان دو هورمون مورد استفاده تاثیر جیبرلیک اسید همراه با سرمادهی بر جوانه‌زنی بذور نسبت به بنزیل آمینوپورین توام با سرمادهی بیشتر بود. همچنین مشخص گردید که استفاده از بستر ماسه مرطوب جهت اعمال تیمارهای حذف خواب بذر باریجه نسبت به بستر کاغذ صافی سبب دارای مزیت است.

منابع

Amoo Aghaii, R., 2007. Effect of Gibberellic acid and moist chilling on the seed dormancy breaking *Ferula ovina* Boiss. Water and Soil Sciences. 11(40), 471-482. [In Persian With English Summary]

Baskin, C. C., Baskin, J. M., Chester, E. W., 1999. Seed dormancy in the wetland winter annual *Ptilianium nuttalli* (Apiaceae). Wetland. 19, 23-29.

Baskin, C. C., Hawkins, T. S., Baskin, J. M., 2004. Ecological life cycle of *Chaerophyllum procumbens* variety shortii (Apiaceae), a winter annual of the North American eastern deciduous forest. Torrey Botanical Society. 131, 126–139.

Batooli, H., 1997. Effects of harvesting methodes on the galbanum (*Ferula gummosa*) survival and production. First Confrence of Rangland and its Management in Iran. Faculty of Natural Resources, Isfahan, Iran. [In Persian]

Bewley, J. D. Black, M., 1994. Seeds: Physiology of Development and Germination. Second Edition. Plenum Press., Systems Biology Center New York. Pp. 181–189.

Bretzloff, I. V., Pellett, N. W., 1979. Effect of stratification and gibberllic acid on the germination of *Carpinus caroliniana* Walt. Horticultural Science. 14, 621- 622.

Chakraborty, D., Bhattacharya, K., andyopadhyay, A., Gupta, K., 2003. Studies on the germination behavior of *Basilicum polystachyon*- an ethnobotanically important medicinal plant. Medicinal and Aromatic Plants. 25, 58-62.

Chiwocha, S. D. S., Culter, A. J., Abrams, A. J., Ambrose, S. J., Yang, J., Ross A. R. S., Kermode, A. R., 2005. The ert1-2 mutation in *Arabidopsis thaliana* affects the abscisic acid, auxin, cytokinin and gibberellin metabolic pathwaysduring maintenance of seed dormancy, moist chilling and germination. Plant. 42,35-45.

Eslami Manoochehri, B., 1994. Using of non woody and pastoral products in Iran. Rangeland and Forests. 25, 53-60. [In Persian]

Greipsson, S., 2001. Effects of stratification and GA3 on seed germination of a sand stabilizing grass *Leymus arenarius* used in reclamation. Seed Science and Technology. 29 (1), 1–10.

Hassani, S. B., Saboora, A., Radjabian, T., Fallah Hosseini, H., 2009. Effect of temperature, GA3 and cytokinines on breaking seed dormancy of Ferula assa-foetida L. Iranian Journal of Science and Technology. 33 (1), 75-85.

Hilhorst, H. W. M., 1995. A critical update on seed dormancy. I. Primary dormancy. Seed Science Research. 5, 61-73.

Jiangshan, L., Oingmei, L., Zhongqiang, X., 2003. Seed germination characteristics of the endangered plant Abies chensiensis. Acta Phytoecological Sinica. 27 (5), 661-666.

Kabar, K., 1998. Comparative effects of kinetin, benzyladenine, and gibberellic acid on abscisic acid inhibited seed germination and seedling growth of red pine and arbor vitae. Turkish Journal of Botany. 22, 1-6.

Keller, M., Kollmann, J., 1999. Effects of seed provenance on germination of herbs for agricultural compensation sites. Agricultural Ecosystems and Environment. 72, 87-99.

Koochaki, A., Azizy, G., 2005. Effect of different seed dormancy breaking treatments on the *Teucrium polium* seed germination. Iranian Field Crop researches. 3 (1), 81-88. [In Persian With English Summary]

Koornneef, M., Bentsink, L., Hilhorst, H., 2002. Seed dormancy and germination. Plant Biology. 5, 33-36.

Kretshmer, M., 1999. Optimal germination temperature range and dormancy in Apiaceae seeds. Gemus-Munchen. 35, 526-528.

Kucera, B., Cohn, M. A., Leubner-Metzger, G., 2005. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. Seed Science Research. 15, 281-307.

Maguire, J. D., 1962. Speed of Germination-Aid in Selection and Evaluation for Seedling Emergence and Vigor. Crop Science. 2, 176-177.

Nasiri, M., Maddah Arefi, H., Eisevand, H. R., 2004. Invistigation of viability variations and seed dormancy breaking on some of existence species in natural resources gene bank. Rangeland and Forestry Plant breeding and Genetic Researches. 12 (2), 165-182. [In Persian With English Summary]

Nasiri, M., 2008. Evaluation of appropriate treatment for seed dormancy breaking and germination increasing on *Acer monospesolanum* L. Rangeland and Forestry Plant breeding and Genetic Researches. 16 (1), 94-105. [In Persian With English Summary]

Nejatali, S., Ezeddin, H., Taherian, V., 2001. Investigation of cultivation and propagation methods on the galbanum. Pajouhesh and Sazandgi. 52, 90-95. [In Persian]

Omodbaigi, R.,2007. Production and Processing of Medicinal Plants. Astan Quds Razavi Poblications. Pp. 93-95. [In Persian]

Peng, J., Harberd, B ., 2002. The role of GA-mediated signalling in the control of seed germination. Current Opinion in Plant Biology. 5 (5), 376–381.

Phillips, N., Drost, D., Varga, W., 2003. Chemical treatments enhanced seed germination in *Perideridia gairdneri*. Acta Horticultura. 618, 477-482.

Prasad, V. N., Gupta, V. N. P., Bajracharya, D., 1983. Alleviation by gibberellic acid and kinetin of the inhibition of seed germination in Maize (*Zea mays* L.) under submerged conditions. Annals of Botany. 52: 649-652.

Qiang.W., Xiao, R., Qichuan, Y., 2005. Study on the effect of plant hormones and prechilled treatment to break dormancy and germination of *Rhodiola rosea* seeds. J. zhejiang Univers Agricultur and life Science. 31, 423-432.

Robinson, R. W., 1954. Seed germination problems in the umbellrferae. Botanical Reviews. 20, 531-550.

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

Sidorenko, T. V., 1989. Effect of giberlic acid on germination seed having dfferent types of dormancy. Ukrains Kii Botanichii. 46, 66-68.

Stoltz, L. P., Snyder, J. C., 1985. Embryo growth and germination of American ginseng seed in response to stratification temperatures. Horticultural Science. 20, 261–262.

Thomas, T. H., Sambrooks, R. Y., 1985 . Possible control of gibberellin – induced release of temperature –dependent primary dormancy in seeds of celery (*Apium graveolens*) by transmembrane ion fluxes. Plant Growth Regulation. 3, 191-199.

Vandelook, F., Bolle, N., Van Assche, J. A., 2007. Multiple environmental signals required for embryo growth and germination of seeds of *Selinum carvifolia* (L.) L. and *Angelica sylvestris* L. (Apiaceae). Seed Science Research. 17, 283–291.

Walck, J. L., Hidayati, S. N., 2004. Germination ecology of the western North American species Osmorhiza depauperata (Apiaceae): implications of preadaptation and phylogenetic niche conservatism in seed dormancy evolution. Seed Science Research. 14, 387–394.

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 gibberellins biosynthesis and response pathways by low temperature during imbibition of *Arabidopsis thaliana* seeds. Plant Cell. 16, 367–378.

Zangoie, M., Parsa, S., Mahmoodi, S., Jami Al-Ahmadi, M., 2013. Invistigation of different seed dormancy breaking methods in *Dorema ammuniacum*. Watershed Management Research. 100, 86-94. [In Persian With English Summary]

Journal of Seed Ecophysiology

Vol 1, No 2, 2016

201 - 215

University of Birjand

Effect of chilling medium and dormancy breaking treatments on seed germination of galbanum (*Ferula gummosa* Boiss)

Soheil Parsa [1*], Kerameh Ahmadi [2], Ali Gazanchian [3], Sohrab Mahmoodi[4]

1. Asistant Professor, Deportment of Agronomy and Plant Breeding, University of Birjand, Iran
2. M. Sc of Seed Science and Technology, University of Birjand, Iran
3. Assistant Professor of Agricultural Research and Education Center of Razavi Khorasan, Iran
4. Associate Professor, Deportment of Agronomy and Plant Breeding, University of Birjand, Iran

Received 10 March 2016; Accepted 21 July 2016

Abstract

Introduction: Galbanum is a valuable medicinal plant belonging to apiaceae family. Gum extracted from its root there are many industrial and medical applications. Because of physiological dormancy the galbanum seeds have a little germination. Physiological dormancy is common type of primary dormancy in the apiaceae family (Bewley and Black, 1994). To breaking the physiological dormancy depending on the plant species, seeds should be exposed to cold, heat, treated with Gibberllic acid or other chemicals (Bewley and Black, 1994). The effect of cytokinines on the release of seed dormancy has been proven (Sharifi and Pooresmael, 2006). To context for domestication of this plant, conservation of genetic resources and the development of medical and industrial experts, this study carryout to find the appropriate treatments for galbanum seed dormancy breaking.

Materials and methods: This study was conducted to optimize the methods of galbanum seed dormancy breaking. For this purpose, were used two separate experiments. The first experiment was conducted by a factorial experiment based on completely randomized design with three factor and replications. This experiment factors were consisted of moist chilling duration (0, 2, 3 and 4 weeks), Gibberllic acid concentrations (0, 50, 100, 150, 500, 1000 and 1500 ppm) and type of the breaking dormancy media (sand and filter paper). The second experiment was conducted with similar plan of first experiment. This experiment factors were consisted of moist chilling duration (0, 2, 3 and 4 weeks), benzyl amino pourine concentrations (0, 0.25 and0.35 mg/L) and type of the breaking dormancy media (sand and filter paper). The seeds disinfected by using of 1 percentage sodium hypochlorite for 5 minutes. To apply moist chilling treatment, the seeds replaced within sterile filter paper layers or wet sand media as well as daily watering. Then transferred to refrigerator by 4 degree centigrade temperature. All samples after the treatments were transferred to a growth chamber with a constant temperature 12 degree centigrade. In each experiment, 20 seeds replaced on the Petri dishes with diameter of 9 cm were used. Germination percentage and rate were measured in this study.

Results and discussion: The results showed that moist chilling was essential factor to breaking the galbanum seed dormancy. Moist chilling combined with hormones also improves the germination rate and percentage. In this regard, Zangoie et al reported that the use of Gibberllic acid combined with moist chilling was significantly increased the germination rate of *Dorema ammoniacum* than the single moist chilling treatment (Zangoie et al., 2013). Also Yamauchi et al (Yamauchi et al., 2004) reported that 4 degree centigrade was increased the gene

*Correspondent author Email: Sparsa@birjand.ac.ir

expression and Gibberllic acid production on the radical and aleuronic layer, thus the combination of moist chilling and hormonal treatments can improve the germination of seeds (Yamauchi et al., 2004). Between two used hormones, the Gibberllic acid along with moist chilling showed that better seed germination compared to benzyl amino pourine along with moist chilling. Also it was found that use of sand media would have advantages for seed dormancy breaking compare with filter paper media. Stratification in moist sand as a very effective method to seed dormancy breaking on the some species such as *Leymus arenariu* (Greipsson, 2001). Sand composed from mineral particles that not allows for rapid decomposition in an attack by micro-organisms during stratification period. On the other hand, appropriate moisture condition in sand media due to gravity water drainage from sand resulted in moisture adjustment to the extent of field capacity, that causes adequate moisture was exist around the seeds (Nasiri, 2008). This study showed that stratification was essential agent to remove galbanum seed dormancy. Application of Gibberllic acid with moist chilling on seed germination was effective than Benzyl Amino pourine with moist chilling. It was also found that the use of moist sand media for galbanum seed dormancy breaking was better than filter paper media.

Key words: Benzyl amino pourine, Gibberllic acid, Sand, Stratification.