مقاله پژوهشی، صفحات ۳۷۲-۳۵۹
DOI: 10.22034/jpr.2025.2492

نقش جیبرلین و اسید آبسیزیک در اثرات سرمادهی مرطوب بر جوانه‌زنی دانه‌های خراش‌دهی شده گیاه مورد (*Myrtus commnius* L.)

آزاده رفیعی[۱] و ریحانه عموآقایی[۱و۲*]

[۱] گروه زیست گیاهی، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

[۲] مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۳۰

چکیده

خواب دانه مورد، تکثیر این گیاه از طریق بذر را مشکل می‌کند. بنابراین، در تحقیق حاضر، ابتدا در دو آزمایش جداگانه اثر برهمکنش شیوه‌های مختلف خراش‌دهی (تیمار با آب داغ به مدت ۲۰ دقیقه، اسید سولفوریک ۹۰٪ برای ۵ دقیقه، تیغ و سنباده به مدت ۱۰ دقیقه) با سرمادهی مرطوب (۰، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ روز) و یا با غلظت جیبرلین (۰ ، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) روی شکست خواب بذر ارزیابی شد. نتایج نشان داد که بدون خراش‌دهی، جوانه‌زنی کمتر از ۳ درصد بود امّا کاربرد شیوه‌های مختلف خراش‌دهی، جوانه‌زنی نهایی را به ۳۰ تا ۶۷ درصد رساند. تیمار سرمادهی مرطوب و یا جیبرلین، جوانه‌زنی دانه، بنیه و رشد دانه-رست‌های حاصل از بذرهای خراش‌دهی شده را در حد معنی‌داری افزایش داد و بهترین تیمار خراش‌دهی با تیغ و سنباده همراه با ۳۰ روز سرمادهی بود که جوانه‌زنی را به ۹۱ درصد رساند. در آزمایش بعدی با استفاده از ترکیبات بازدارنده نقش اسید آبسیزیک و جیبرلین در تاثیر سرمادهی مرطوب بر شکست خواب دانه‌های خراش‌دهی شده، بررسی شد. نتایج نشان داد که کاربرد آبسیزیک اسید و همچنین پاکلوبوترازول (بعنوان بازدارنده سنتز جیبرلین) و دینی‌کونازول (بعنوان بازدارنده تجزیه ABA)، اثرات مثبت سرمادهی مرطوب روی جوانه‌زنی دانه‌های خراش‌دهی شده را برگشت داد. در مقابل کاربرد فلوریدون (بعنوان بازدارنده سنتز ABA) جوانه‌زنی دانه‌های خراش‌دهی شده و سرمادهی شده را افزایش داد. این نتایج پیشنهاد کردند که دانه‌های مورد علاوه بر خواب فیزیکی، دارای خواب فیزیولوژیکی هستند که سرمادهی از طریق افزایش نسبت جیبرلین / اسید آبسیزیک آن را برطرف می-کند.

واژه های کلیدی: آب داغ، اسید سولفوریک، تیغ، خواب فیزیولوژیکی، سنباده

* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: rayhanehamooaghaie@yahoo.com

مقدمه

گیاه مورد درختچه‌ای پایا بوده و بدلیل توانایی رشد و نمو در شرایط خاص رویشگاهی مانند مناطق گرم و نامساعد در حفظ محیط زیست نقش زیادی دارد. این گیاه بصورت درختچه‌ای همیشه سبز در زمین‌های شیب‌دار و مناطق آبخیز به راحتی قابل کشت بوده و از فرسایش خاک جلوگیری می‌کند. استفاده از گیاه مورد برای ایجاد فضای سبز به سبب بازدهی مناسب و سریع، نداشتن هزینه‌های کاشت مجدد، عدم نیاز به سم‌پاشی و نداشتن آفت از نظر اقتصادی مقرون به صرفه است [۱]. علاوه بر این، گیاه مورد از جمله گیاهان دارویی است که از روزگاران قدیم از برگ‌های معطر آن، به عنوان یک ماده ضدعفونی‌کننده و از میوه آن برای جلوگیری از خونریزی و بهبود زخم‌ها و بعنوان مقوی معده و ادرارآور استفاده می‌شد. بطور کلی گیاه مورد ضد برونشیت و تسکین‌دهنده سرفه، قابض و ضد اسهال، ضد درد و اسپاسم، و ضد بوی بد دهان است و بصورت موضعی

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۷۲-۳۵۹ DOI: 10.22034/jpr.2025.2492

در درمان تبخال، آکنه، پسوریازیس، بهبود زخم و در درمان بواسیر استفاده می‌شود. همچنین، جوشانده برگ و میوه، ریشه، و مصرف روغن و عصاره آن برای رفع سفیدی مو و سیاه کردن و تقویت و جلوگیری از ریزش مو موثر است [۲۹]. اگرچه گیاه مورد را می‌توان با قلمه زدن تکثیر کرد اما در کشت وسیع آن تکثیر از طریق بذر آسان‌تر و اقتصادی‌تر است و هرگاه هدف از کشت گیاه مورد، بهره‌برداری از جنبه دارویی آن باشد با استفاده از بذر به سهولت می‌توان تعداد زیادی گیاهچه تولید کرد و برگ‌ها و سرشاخه‌های جوان را که دارای میزان بیشتری ماده موثره می‌باشد برداشت کرد و در نتیجه میزان برداشت ماده موثره افزایش خواهد یافت [۱]. به هر حال تحقیقات نشان داده است که بذرهای مورد دارای خواب هستند و این امر تکثیر گیاه از طریق بذر را مشکل می‌سازد [۲ و ۲۰].

در یک بذر در حال خواب، رویان زنده است ولی نمی‌تواند در یک دوره زمانی مشخص و تحت مجموعه‌ای از فاکتورهای محیطی که برای جوانه‌زنی بذر مطلوب هستند، جوانه بزند [۱۷]. حالت خواب در بذرها برای گیاهان سودمند است و در پراکندگی موفق اغلب گونه‌های گیاهی نقش داشته است. زیرا در این حالت بذر روی گیاه مادری جوانه نخواهد زد و فرصت پراکنش دارد. علاوه بر این بذر در حال خواب، از نظر فیزیولوژیکی غیرفعال است و در نتیجه بسیاری از تنش‌های محیطی و شرایط نامناسب اقلیمی را بهتر تحمل می‌کند که این امر تداوم نسل و بقای گونه گیاهی را تضمین می‌کند [۲۲ و ۳۰].

خواب بذر ممکن است به دلیل مشکلاتی در پوسته بذر (مانند نفوذنایذیری پوسته بذر نسبت به آب یا گازها و یا مقاومت مکانیکی پوسته بذر)، یا در رویان (مثلا رویان نابالغ) و یا بدلیل وجود مواد بازدارنده در بذرها ایجاد شده باشد [۲۶ و ۳۰]. ژنتیک گیاه، تعداد لایه‌های پوسته و آندوسپرم دانه، نوع پوشش‌ها و فرابر میوه، موقعیت دانه روی گیاه مادری، اندازه و وزن دانه، زمان برداشت و شرایط محیطی زمان نمو بذر روی گیاه مادری از جمله عواملی هستند که نوع و عمق خواب در دانه‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهند [۲۲ و ۲۴]. بر طبق قوانین انجمن بین‌المللی آزمون بذر (ISTA)[1] روش‌های خراش‌دهی شیمیایی (تیمار با اسیدها یا آنزیم‌های تجزیه‌کننده دیواره سلول‌ها مثل سلولاز) یا مکانیکی (خراش‌دهی با سنباده یا اشیای دیگر) به حل شدن موم، لیگنین و یا سایر ترکیبات درگیر در سختی پوسته‌ها و شکست خواب مرتبط با پوسته دانه کمک می‌کند. استفاده از تیمارهای مختلف مانند سرمادهی مرطوب و یا کاربرد هورمون‌ها از جمله جیبرلین، سیتوکینین و اتیلن نیز برای رفع خفتگی در بذرهایی که خواب فیزیولوژیک دارند از دیرباز در منابع پیشنهاد شده است [۲۶ و۳۰]. بذور برخی از گیاهان دارای خواب دوگانه از نوع فیزیکی و فیزیولوژیکی هستند که می‌تواند با ترکیبی از تیمارهای فوق برطرف شود. برای مثال یک مطالعه نشان داد که بذر گون سفید (*Astragalus gossypinus*) دارای دو نوع خواب فیزیکی و فیزیولوژیکی است و بهترین روش شکست خواب بذر و تحریک جوانه‌زنی آن خراش‌دهی با اسید سولفوریک به مدت ۱۰ دقیقه و سپس تیمار سرمادهی مرطوب به مدت دو هفته و یا تیمار با جیبرلین می‌باشد [۱۰]. همتی‌فر و همکاران [۱۱] هم گزارش کردند که برهمکنش اسید سولفوریک و چینه سرمایی قادر به شکست خواب فیزیکی و فیزیولوژیکی بذرهای زالزالک (*Crataegus* spp.) است. فرهودی و همکاران [۷] هم گزارش کردند تیمار خراش‌دهی بذر بابا آدم (*Arctium lappa*) با آب داغ ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه و به دنبال آن خیساندن بذر در محلول ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک به مدت ۱۲ ساعت بهترین تیمار برای بهبود جوانه زنی و تحریک رشد گیاهچه بابا آدم می‌باشد.

[1] International Seed Testing Association

Preproof A

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۷۲-۳۵۹
DOI: 10.22034/jpr.2025.2492

تحقیقات به خوبی نشان داده است که برای شکست خواب فیزیولوژیک دانه‌ها باید نسبت جیبرلین به اسید آبسیزیک در دانه افزایش یابد [۱۷ و ۳۳]. به همین دلیل کاربرد خارجی جیبرلین جوانه‌زنی بذر خواب بسیاری از گیاهان از جمله کما (*Ferula ovina*)، ازگیل (*Eriobotrya japonica*) و تاج خروس (*Amaranthus retroflexus* L.) را افزایش می‌دهد [۵، ۱۳ و ۲۵]. ثابت شده است که جیبرلین نه تنها با القای بیان ژن‌های کد کننده آنزیم‌های هیدرولیز کننده آندوسپرم نظیر آلفا آمیلاز جوانه-زنی را تحریک می‌نمایند بلکه محدودیت القا شده بوسیله هورمون اسید آبسیزیک برای رشد رویان را نیز برطرف می‌کند [۲۰]. تیمار با جیبرلین موجب شکست خواب دانه تنباکو شد اما تیمار با اسید آبسیزیک یا کاربرد پاکلوبوترازول بعنوان یک مهارکننده بیوسنتز جبرلین جوانه‌زنی بذر این گیاه را کاهش داد [۳۴]. فلوریدون یک ترکیب ممانعت کننده از فعالیت آنزیم فیتوئن دساتوراز بعنوان یکی از آنزیم‌های درگیر در مسیر تبدیل کاروتنوئیدها و در نهایت بیوسنتز اسید آبسیزیک است. یک مطالعه نشان داد کاربرد فلوریدون خواب القا شده با گرما (ترمودورمنسی) را در بذرهای کاهو (*Lactuca sativa*) کاهش داد و اثر مثبت فلوریدون بر کاهش خواب این بذر با کاربرد پاکلوبوترازول خنثی شد. در واقع کاربرد پاکلوبوترازول بعنوان یک ترکیب ممانعت کننده از سنتز جیبرلین جوانه‌زنی بذر کاهو را کاهش داد [۲۱]. از سوی دیگر دینی‌کونازول ترکیبی است که فعالیت آنزیم ABA–۸– هیدروکسیلاز را که یکی از آنزیم‌های درگیر در تجزیه اسید آبسیزیک است، را ممانعت می‌کند. کاربرد دینی‌کونازول تجمع و بقای اسید آبسیزیک در دانه آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*) را افزایش داد و در نتیجه جوانه‌زنی دانه را کاهش داد [۲۸].

شواهد بدست آمده از پژوهش‌های دیگر اثبات کرده‌اند که سرمادهی مرطوب، هم با تاثیر بر بیان ژن‌های درگیر در متابولیسم جیبرلین و اسید آبسیزیک به شکست خواب دانه کمک می‌کند [۱۷]. برای مثال معلوم شده که بیان ژن *GA_3ox10* که کد کننده آنزیمی است که جیبرلین غیرفعال GA_9 را به جیبرلین فعال GA_4 تبدیل می‌کند، بطور اختصاصی به‌وسیله سرما در دانه‌های آرابیدوبسیس فراتنظیم شد و در مقابل بیان ژن‌های مربوط به کاتابولیسم جیبرلین مثل *GA20x2* تحت سرمادهی کاهش یافت. علاوه بر این، در طول سرمادهی مرطوب، مسیر پیام‌رسانی وابسته به اسید آبسیزیک در ایجاد خواب تضعیف شده و کاتابولیسم اسید آبسیزیک فعال می‌گردد و در نتیجه کاهش سطح آبسزیک اسید در بذر، منجر به شکست خواب بذر می‌شود [۳۵]. در مطالعه دیگری آنالیز توالی RNA نشان داد هر دو تیمار فلوریدون و سرمای مرطوب بیان ژن‌های مشابهی را در دانه تحریک کردند و با کاهش سطح اسید آبسیزیک و فعال شدن سنتز جیبرلین موجب شکست خواب دانه *Notopterygium incisum* شدند [۱۲].

چند مطالعه قبلی [۲، ۸، ۱۶] نشان داد که مشکل عمده در تکثیر گیاه دارویی مورد از طریق بذر، سخت پوستی و خواب فیزیکی بذر است که با انواع روش‌های خراش‌دهی پوسته بذر قابل بر طرف شدن است، اما در مورد وجود خواب فیزیولوژیکی و اثر سرمادهی و جیبرلین بر شکست آن گزارش‌ها متناقض است. مثلا اسماعیلی و همکاران [۲] گزارش دادند ۱ یا ۳ ماه سرمادهی اثری بر جوانه‌زنی دانه‌های مورد نداشت. مکی‌زاده و همکاران [۸] هم اعلام کردند که جیبرلین اثر معنی-داری بر جوانه‌زنی بذر مورد دست نخورده نداشت و وجود خواب فیزیولوژیکی را رد کردند. در مقابل، Benvenuti و Machia [۱۶] گزارش کردند که کاربرد جیبرلین و سرمادهی مرطوب به شکست خواب فیزیولوژیکی دانه مورد کمک کرد. بنابر این هدف اصلی این پژوهش آن بود که با استفاده از ترکیباتی که سطح جبرلین و اسید آبسیزیک در دانه را تغییر می‌دهند امکان وجود خواب فیزیولوژیکی دانه و ساز و کار اثر سرمادهی بر تراز جیبرلین و اسید آبسیزیک در دانه بررسی شود و بهترین تیمارها برای حصول حداکثر جوانه‌زنی بذر و استقرار مطلوب گیاهچه‌های مورد، تعیین شود.

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۷۲-۳۵۹ DOI: 10.22034/jpr.2025.2492

مواد و روشها

بررسی برهمکنش شیوه‌های مختلف خراش‌دهی و سرمادهی مرطوب بر جوانه‌زنی دانه و رشد دانه‌رست گیاه مورد

در اولین آزمایش برهمکنش انواع شیوه‌های خراش‌دهی دانه و سطوح مختلف سرمادهی مرطوب بر جوانه‌زنی دانه گیاه مورد بررسی شد. تیمارها شامل انواع شیوه‌های خراش‌دهی دانه (شاهد بدون خراش، پنج دقیقه فرو بردن در اسید سولفوریک ۹۰ درصد، ده دقیقه سنباده‌زنی با کاغذ سنباده ظریف، خراش‌دهی با تیغ و ۲۰ دقیقه خیساندن در آب داغ ۹۰ درجه سانتیگراد) و سطوح مختلف سرمادهی مرطوب (۰، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ روز) بود. دانه‌ها ابتدا با شیوه‌های فوق خراش‌دهی شدند و سپس به روی کاغذ صافی مرطوب در داخل پتری‌ها منتقل و در معرض ۰، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ روز سرمادهی مرطوب در یخچال با دمای ۴ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. پس از اتمام زمان سرمادهی دانه‌ها به پتری‌های جدید منتقل و درصد جوانه‌زنی آنها به مدت ۲۰ روز در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد بررسی شد. پس از تعیین درصد جوانه‌زنی نهایی، طول دانه‌رست‌های هر تیمار هم اندازه‌گیری شد. سپس بنیه طولی دانه از رابطه زیر برآورده شد.

فرمول ۱ درصد جوانه‌زنی نهایی× طول کل دانه‌رست = بنیه طولی دانه‌رست

بررسی برهمکنش شیوه‌های مختلف خراش‌دهی و غلظت‌های جیبرلین بر جوانه‌زنی بذر و رشد دانه‌رست گیاه مورد

در آزمایش دوم نیز ابتدا دانه‌ها با کاربرد تیمارهای ۵ دقیقه فروبردن در اسید سولفوریک ۹۰ درصد، ده دقیقه سنباده‌زنی، برش با تیغ و۲۰ دقیقه خیساندن در آب داغ، خراش‌دهی شدند. سپس دانه‌های هر گروه همراه با دانه‌های گروه شاهد (که دست نخورده بودند) به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد در محلول هورمون جیبرلین از شرکت سیگما (GA_3) با غلظت‌های ۰ ، ۲۵۰ ، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر فرو برده شدند. سپس از محلول جیبرلین خارج و به پتری‌های حاوی کاغذ صافی منتقل و درصد جوانه‌زنی آنها در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد بررسی شد و جوانه‌زنی نهایی پس از ۲۰ روز تعیین شد. در پایان، دانه‌رست‌ها نیز برداشت و طول ریشه‌چه و ساقچه در آنها تعیین گردید.

بررسی اثر بازدارنده‌های سنتز یا تجزیه جیبرلین و اسید آبسیزیک در تاثیر سرمادهی مرطوب بر شکست خواب بذرهای خراش‌دهی شده گیاه مورد

با توجه به اینکه آزمایش‌های ۱و ۲ نشان داد که هردوی سرمادهی مرطوب و جیبرلین، قادر به شکست خواب فیزیولوژیکی دانه‌های مورد هستند، این فرضیه که احتمالاً اثر سرمادهی از طریق تاثیر بر محتوای جیبرلین و اسید آبسیزیک اجرا می‌شود قوت گرفت و سعی شد تا با کمک یک سری از بازدارنده‌ها این فرضیه بررسی شود.

برای این منظور ابتدا دانه‌ها با پنج دقیقه فرو بردن در اسید سولفوریک ۹۰ درصد، ده دقیقه سنباده‌زنی، خراش‌دهی با تیغ و ۲۰ دقیقه خیساندن در آب داغ تیمار شدند. سپس دانه‌های خراش‌دهی شده همراه با دانه‌های شاهد (دست نخورده) به مدت ۱۵ روز در پتری‌های حاوی کاغذ صافی مرطوب در یخچال در دمای ۴ درجه سانتیگراد سرمادهی شدند. پس از خروج دانه‌های هر گروه از یخچال دانه‌های هر گروه به پنج دسته تقسیم شدند و هر کدام در محلول پاکلوبوترازول ۱۰ میکرومولار، فلوریدون ۵۰ میکرومولار، دینی‌کونازول و اسید آبسیزیک ۰/۱ میلی‌مولار بمدت ۶ ساعت فرو برده شدند. لازم به ذکر است پاکلوبوترازول بعنوان بازدارنده سنتز جیبرلین، دینی‌کونازول بعنوان بازدارنده تجزیه اسید آبسیزیک و فلوریدون بعنوان بازدارنده سنتز اسید آبسیزیک در این آزمایش بکار برده شد [۱۴، ۲۱، ۲۸ و ۳۴]. پس از شستشو، دانه‌ها به پتری‌های جدید

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۷۲-۳۵۹ DOI: 10.22034/jpr.2025.2492

منتقل و جوانه‌زنی آن‌ها در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد روزانه بررسی گردید و در نهایت اثر ترکیبات مذکور روی جوانه‌زنی دانه‌ها بررسی شد. همچنین سرعت جوانه‌زنی، از رابطه زیر محاسبه شد.

فرمول ۲ $SG = \frac{\text{تعداد بذر جوانه زده}}{\text{آخرین روز شمارش جوانه زنی}} + \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots + \frac{\text{تعداد بذر جوانه زده}}{\text{اولین روز شمارش جوانه زنی}}$

آنالیز آماری

این پژوهش شامل ۳ آزمایش با تیمارهای متفاوت بود. در کل همه آزمایش‌ها به صورت فاکتوریل با طرح کاملا تصادفی و با ۳ تکرار به اجرا درآمد و هر پتری حاوی ۳۰ دانه بعنوان یک تکرار در نظر گرفته شد. در نهایت آنالیز واریانس با نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج

برهمکنش شیوه‌های مختلف خراش‌دهی و سرمادهی مرطوب بر جوانه‌زنی دانه و رشد دانه‌رست مورد

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر مستقل انواع شیوه‌های خراش‌دهی پوسته بذر، اثر مستقل سرمادهی و همچنین برهمکنش شیوه‌های خراش‌دهی و سرمادهی مرطوب در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

جدول ۱- آنالیز واریانس داده‌های حاصل از اثر سرمادهی و شیوه‌های خراش‌دهی بر درصد جوانه‌زنی، طول دانه‌رست و بنیه طولی گیاه مورد

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		درصد جوانه زنی	طول دانه‌رست	بنیه طولی
سرمادهی	۳	۶۴۹/۲۲۰**	۱۱۷/۴۳۵**	۱۲۱۸۹۵۵/۸۳۵**
شیوه‌های خراش‌دهی	۴	۸۱۷۳/۱۶۷**	۱۰۲/۹۷۴**	۳۴۸۷۷۵۲/۵۷۲**
سرمادهی × شیوه‌های خراش‌دهی	۱۲	۳۳۹/۰۸۹**	۲۹/۶۴۲**	۳۵۹۳۳۲/۵۵۱**
خطا	۴۰	۶/۳۵۰	۰/۳۹۴	۴۱۵۰/۹۰۶
ضریب تغییرات		۲۴/۱	۱۳/۳	۳۱/۹۵

** معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که دانه‌های خراش‌دهی نشده مورد، فقط ۳ درصد جوانه‌زنی داشتند اما کاربرد انواع شیوه‌های خراش‌دهی با اسید سولفوریک، سنباده، تیغ و خیساندن در آب داغ به ترتیب جوانه‌زنی دانه‌ها را به حدود ۶۰، ۶۳، ۶۷ و ۳۲ درصد رساند (شکل ۱).

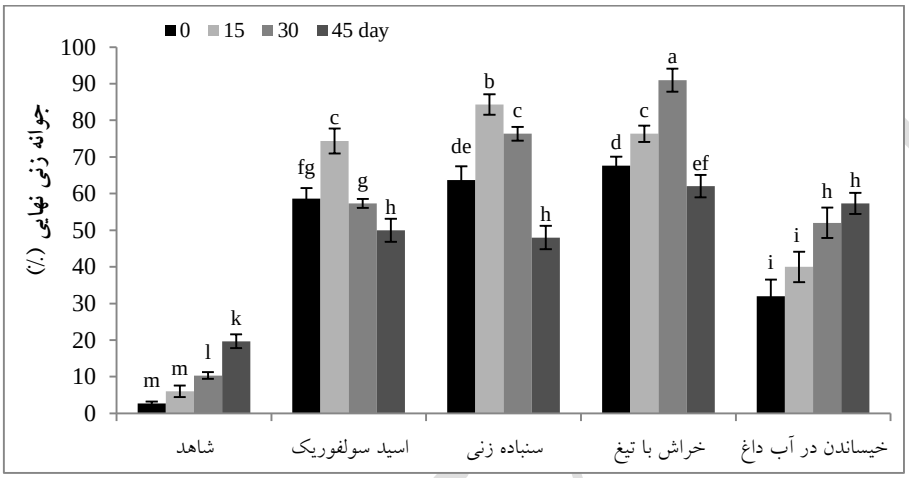
بدون خراش‌دهی پوسته بذر (گروه شاهد)، ۱۵روز سرمادهی اثر معنی‌داری نداشت اما ۳۰ و ۴۵ روز سرمادهی مرطوب، جوانه‌زنی را از ۳ درصد در دانه‌های شاهد به ۱۰ و ۱۴ درصد رساند. اعمال ۱۵ روز سرمادهی مرطوب، جوانه‌زنی دانه‌های خراش‌دهی شده با اسید سولفوریک، سنباده، تیغ و آب داغ را به ترتیب به ۷۴، ۸۴/۳، ۷۶/۳ و ۴۰ درصد رساند (شکل ۱).

مدت بیشتر سرمادهی (۳۰ و ۴۵ روز) روی دانه‌های خراش‌دهی شده با اسید سولفوریک اثر منفی داشت و درصد جوانه‌زنی به حد معادل یا حتی کمتر از دانه‌های خراش‌دهی شده با اسید سولفوریک اما سرمادهی نشده (ستون سیاهرنگ شاهد در این

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۷۲-۳۵۹
DOI: 10.22034/jpr.2025.2492

گروه) رسید. در دانه‌های خراش‌دهی شده با سنباده و تیغ ۳۰ روز سرمادهی هم بطور معنی‌داری جوانه‌زنی را افزایش داد و بهترین تیمار خراش‌دهی شده با تیغ و ۳۰ روز سرمادهی بود که جوانه‌زنی را به ۹۱ درصد رساند. به هر حال با ۴۵ روز سرمادهی دانه‌های خراش‌دهی شده با سنباده و تیغ، جوانه‌زنی آنها بطور معنی‌داری کمتر از دانه‌های شاهد این گروه (یعنی دانه‌های فقط خراش‌دهی شده) شد. در دانه‌های خراش‌دهی شده با آب داغ با افزایش دوره سرمادهی به ۳۰ و ۴۵ روز جوانه-زنی افزایش یافت و به ترتیب به ۵۲ و ۵۷/۳ درصد رسید (شکل ۱).



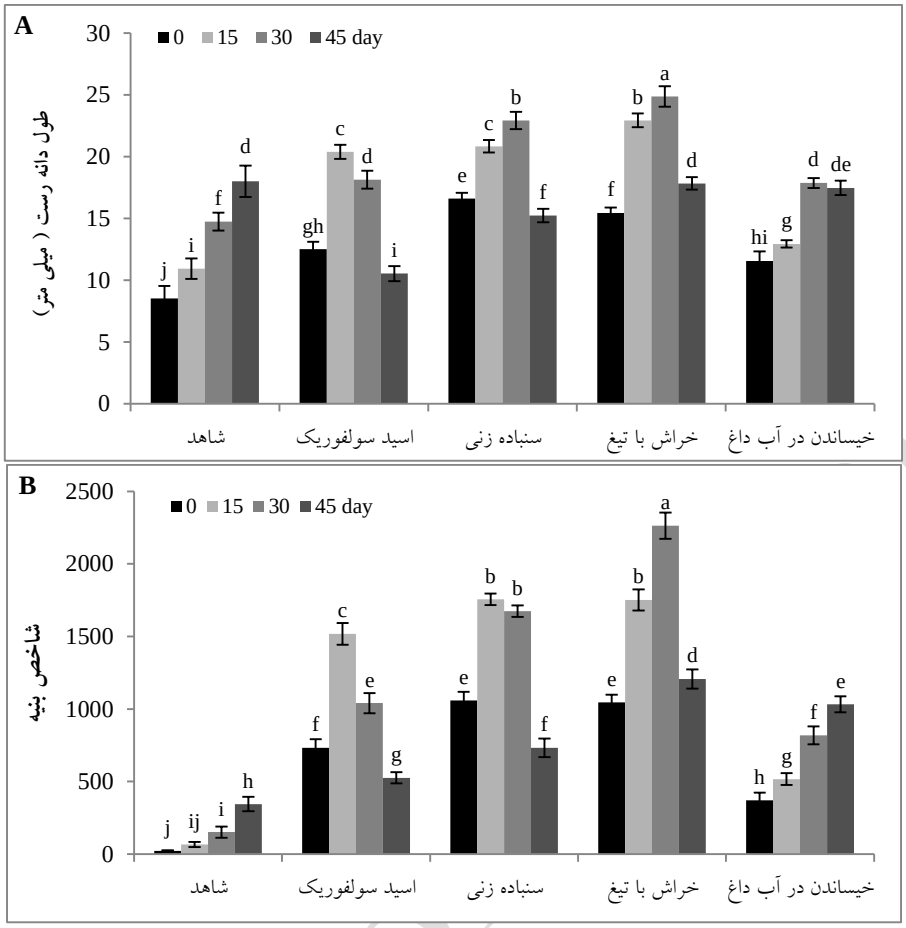
شکل۱- اثر سرمادهی مرطوب (۰، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ روز) بر درصد جوانه‌زنی دانه‌های خراش‌دهی شده گیاه مورد بوسیله تیمار با اسید سولفوریک، سنباده، تیغ و آب داغ

داده‌ها بصورت میانگین ± SE و حروف یکسان نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد است.

بررسی برهمکنش شیوه‌های خراش‌دهی و سرمادهی مرطوب بر طول و بنیه دانه‌رست نیز روندی مشابه درصد جوانه‌زنی بذر نشان داد (شکل ۲). در حالی‌که طول دانه‌رست حاصل از دانه‌های شاهد حدود ۸/۵ میلی‌متر بود، با ۴۵ روز سرمادهی به ۱۸ میلی‌متر رسید. این اثر مثبت سرمادهی بر رشد دانه‌رست حاصل از دانه‌های خراش‌دهی شده هم بخوبی مشهود بود. در دانه-های خراش‌دهی شده با اسید سولفوریک، سنباده و تیغ ۱۵ و ۳۰ روز سرمادهی طول دانه‌رست را نسبت به شاهد این گروه‌ها (دانه‌های فقط خراش‌دهی شده) افزایش داد اما ۴۵ روز سرمادهی اثر منفی داشت و طول دانه‌رست و بنیه را حتی به حد معادل یا کمتر از شاهد این گروه‌ها رساند. در دانه‌های خراش‌دهی شده با آب داغ همه سطوح سرمادهی اثر مطلوبی داشتند و ۱۵، ۳۰ و ۴۵ روز سرمادهی طول دانه‌رست و بنیه را نسبت به شاهد این گروه افزایش داد (شکل ۲).

Preproof

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۷۲-۳۵۹
DOI: 10.22034/jpr.2025.2492



شکل ۲- اثر سرمادهی مرطوب (۰، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ روز) بر طول دانه‌رست (A) و شاخص بنیه (B) گیاه مورد رشد یافته از دانه‌های خراش‌دهی شده با اسید سولفوریک، سنباده، تیغ و آب داغ

داده‌ها بصورت میانگین ± SE و حروف یکسان نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد است.

برهمکنش شیوه‌های مختلف خراش‌دهی و غلظت‌های جبرلین بر جوانه‌زنی بذر و رشد دانه‌رست گیاه مورد

بر اساس نتایج آنالیز واریانس (جدول ۲) اثر مستقل انواع شیوه‌های خراش‌دهی و غلظت‌های مختلف جیبرلین و همچنین برهمکنش آنها بر درصد جوانه‌زنی بذر، طول ریشه‌چه و طول ساقچه رویان مورد، در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود.

جدول ۲-آنالیز واریانس داده‌های حاصل از اثرغلظت‌های جیبرلین و شیوه‌های خراش‌دهی بر درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و طول ساقچه دانه‌رست مورد

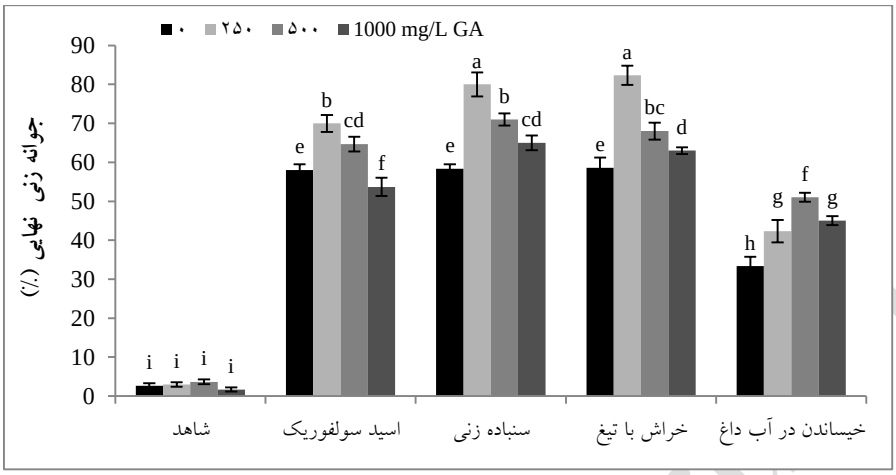
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		درصد جوانه زنی	طول ریشه چه	طول ساقه‌چه
غلظت جیبرلین	۳	۴۵۰/۳۷۸**	۱۶/۵۶۳**	۴۰/۷۷۶**
شیوه‌های خراش‌دهی	۴	۹۱۱۱/۷۳۳**	۲۱/۳۰۴**	۲۳/۳۱۸**
جیبرلین × شیوه‌های خراش‌دهی	۱۲	۹۰/۴۳۳**	۵/۷۹۱**	۱۴/۰۷۱**
خطا	۴۰	۵/۱۱۷	۰/۱۲۳	۰/۲۱۰
ضریب تغییرات		۲۵/۷۵	۱۴/۴	۱۲/۷۵

** معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

Preproof

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۷۲-۳۵۹
DOI: 10.22034/jpr.2025.2492

مقایسه میانگین‌ها نشان داد خراش‌دهی دانه با اسید سولفوریک، تیغ، سنباده و آب داغ بطور معنی‌دار و چشمگیری درصد جوانه‌زنی را در مقایسه با دانه‌های دست نخورده افزایش داد (شکل ۳).



شکل ۳- اثر غلظت‌های جیبرلین (۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بر درصد جوانه‌زنی دانه‌های گیاه مورد خراش‌دهی شده با اسید سولفوریک، سنباده، تیغ و آب داغ

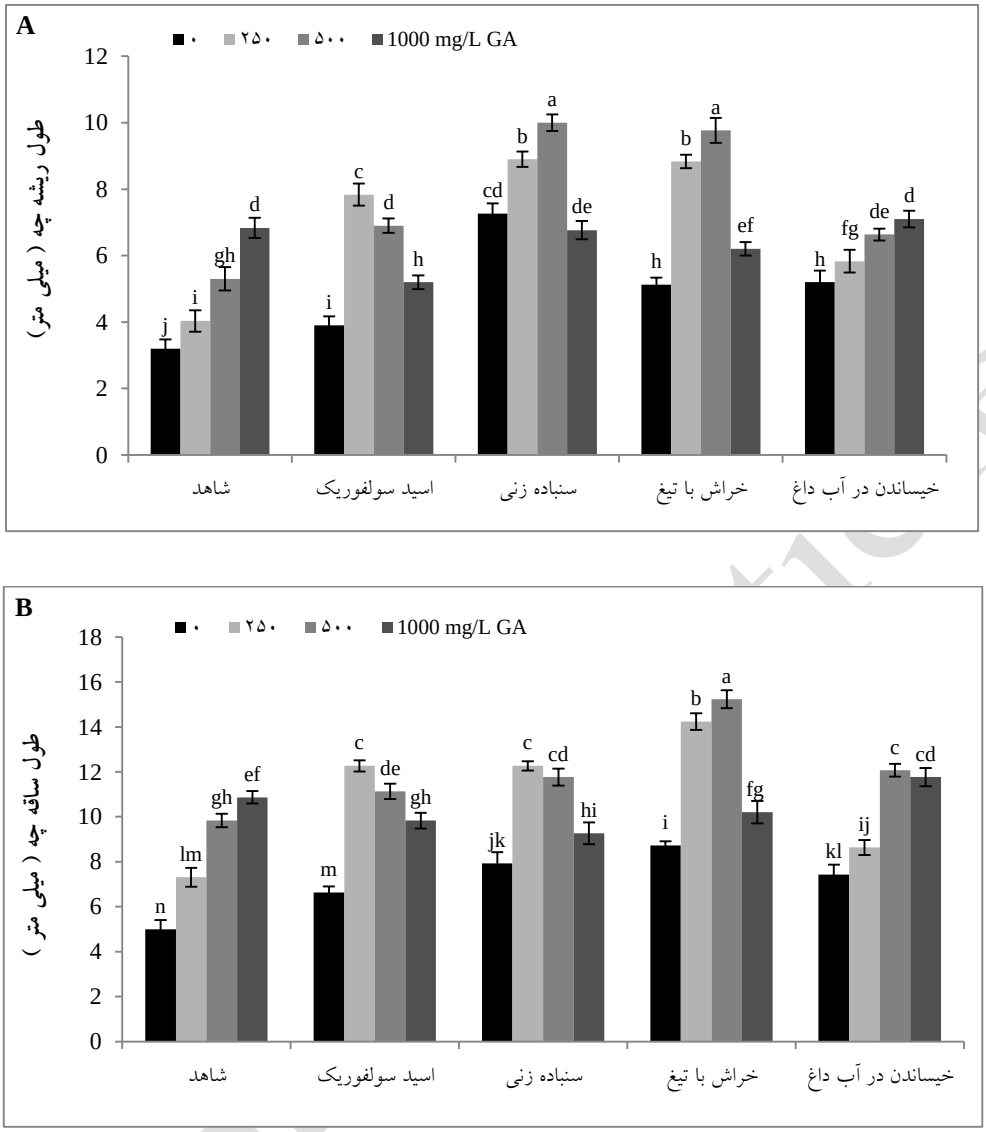
داده‌ها بصورت میانگین ± SE و حروف یکسان نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد است.

در گروه شاهد، کاربرد جیبرلین اثر معنی‌داری بر جوانه‌زنی بذرهای مورد خراش‌دهی نشده نداشت. امّا کاربرد غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر درصد جوانه‌زنی دانه‌های خراش‌دهی شده را در حد معنی‌داری افزایش داد. در بذرهای خراش‌دهی شده با اسید سولفوریک، سنباده و تیغ، غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین اثر را داشت و جوانه‌زنی را بترتیب به ۷۱، ۸۰ و ۸۲ درصد رساند امّا اثر ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین کمتر بود. اما در دانه‌های خیسانده شده در آب داغ همه غلظت‌های جیبرلین در حد معنی‌داری جوانه‌زنی بذرها را نسبت به شاهد این گروه افزایش داد اما بیشترین اثر با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین به دست آمد (شکل ۳).

بررسی برهمکنش غلظت جیبرلین و شیوه‌های مختلف خراش‌دهی نشان داد طول ریشه‌چه و ساقچه (شکل ۴) دانه‌رست حاصل از دانه‌های خراش‌دهی نشده و دانه‌های خیسانده شده در آب داغ، با همه سطوح جیبرلین و بویژه غلظت ۱۰۰۰ میلی-گرم در لیتر، در حد معنی‌داری نسبت به شاهد این گروه‌ها افزایش یافت. اما بیشترین طول ریشه‌چه و ساقچه دانه‌رست حاصل از دانه‌های خراش‌دهی شده با اسید سولفوریک، سنباده و تیغ با غلظت ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین بدست آمد (شکل ۴).

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۷۲-۳۵۹
DOI: 10.22034/jpr.2025.2492



شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف جیبرلین (۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بر طول ریشه‌چه (A) و ساقچه (B) دانه‌رست رشد یافته از دانه‌های گیاه مورد خراش‌دهی شده با اسید سولفوریک، سنباده، تیغ و آب داغ

داده‌ها بصورت میانگین ± SE و حروف یکسان نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد است.

نقش جیبرلین و آبسیزیک اسید در اثر سرمادهی مرطوب بر شکست خواب بذرهای خراش‌دهی شده مورد

با توجه به اینکه نتایج دو آزمایش قبلی نشان داد که هم سرمادهی مرطوب و هم جیبرلین قادر هستند باقیمانده خواب دانه‌های خراش‌دهی شده را از بین ببرند و جوانه‌زنی را به ۸۰-۹۰ درصد افزایش دهند، در این آزمایش، سعی شد با کاربرد بازدارنده‌ها نقش سرمادهی در تراز کردن سطح هورمون‌های جیبرلین و اسید آبسیزیک بررسی شود. برای این منظور از پاکلوبوترازول بعنوان بازدارنده سنتز جیبرلین، از دینی‌کونازول بعنوان جلوگیری کننده از تجزیه اسید آبسیزیک و از فلوریدون بعنوان یک بازدارنده سنتز آبسزیک اسید استفاده شد.

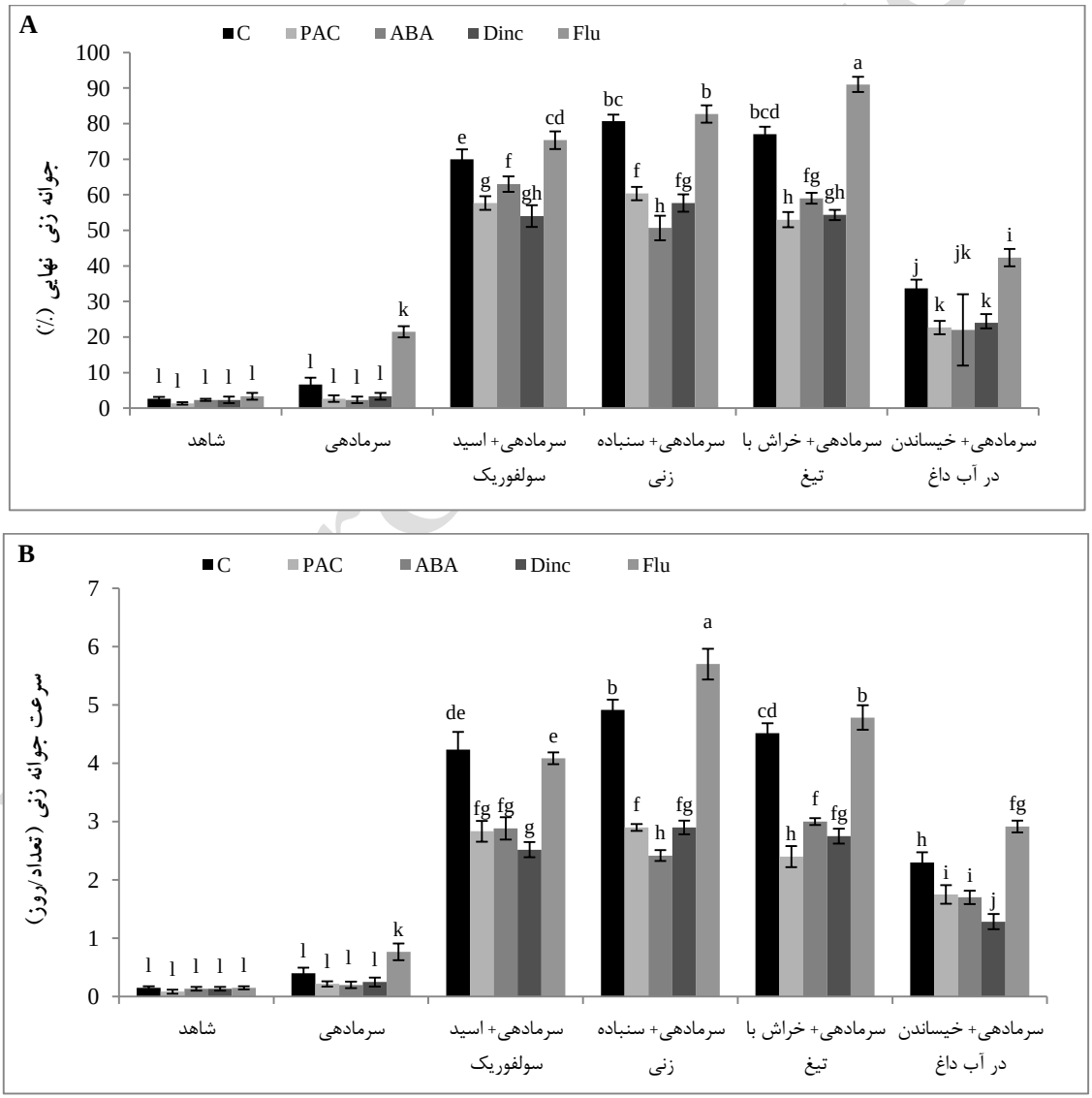
نتایج آنالیز واریانس داده‌های این آزمایش نشان داد که اثر مستقل شیوه‌های خراش‌دهی و همچنین اثر مستقل انواع ترکیبات بازدارنده و نیز برهمکنش خراش‌دهی و این ترکیبات بر درصد جوانه‌زنی بذر و سرعت جوانه‌زنی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود.

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۷۲-۳۵۹
DOI: 10.22034/jpr.2025.2492

جدول ۳- آنالیز واریانس داده‌های حاصل از اثر بازدارنده‌ها و شیوه‌های خراش‌دهی بر درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر گیاهچه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی
بازدارنده‌ها	۴	۱۴۵۴/۴۲۸**	۱۰/۱۹۳**
شیوه‌های خراش‌دهی	۵	۱۴۳۳۵/۱۶۷**	۳۹/۰۰۳**
بازدارنده‌ها × شیوه‌های خراش‌دهی	۲۰	۱۴۰/۲۶۱**	۱/۰۱۶**
خطا	۶۰	۱۳/۳۸۹	۰/۰۴۹
ضریب تغییرات		۳۵/۸	۹/۳۷

** معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد



شکل ۵- اثر برهمکنش پاکلوبوترازول (PAC)، اسید آبسیزیک (ABA)، دینی‌کونازول (Dinc) و فلوریدون (Flu) با سرمادهی بر درصد (A) و سرعت جوانه‌زنی(B) دانه‌های مورد خراش‌دهی شده با اسید سولفوریک، سنباده، تیغ و آب داغ

داده‌ها بصورت میانگین ± SE و حروف یکسان نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد است.

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۷۲-۳۵۹
DOI: 10.22034/jpr.2025.2492

مقایسه میانگین‌ها در شکل ۵ نشان داد که کاربرد پاکلوبوترازول، اسید آبسیزیک، دینی‌کونازول و فلوریدون روی درصد و سرعت دانه‌های دست نخورده (بدون سرمادهی و خراش) اثر معنی‌دار نداشت. در دانه‌های خراش‌دهی نشده اما سرمادهی شده نیز اثر این ترکیبات (به جز فلوریدون) در مقایسه با شاهد این گروه معنی‌دار نبود. اما در دانه‌هایی که تحت دو تیمار خراش‌دهی و سرمادهی قرار گرفته بودند اثر این ترکیبات معنی‌دار بود. در دانه‌هایی که تحت خراش‌دهی با اسید سولفوریک و سپس سرمادهی مرطوب قرار گرفتند تیمارهای پاکلوبوترازول، اسید آبسیزیک و دینی‌کونازول در حد معنی‌داری درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر را نسبت به شاهد این گروه کاهش دادند اما فلوریدون درصد جوانه‌زنی را افزایش داد اما بر سرعت جوانه‌زنی در مقایسه با شاهد این گروه تأثیری معنی‌داری نداشت (شکل ۵).

در همه بذرهای تیمار شده با سنباده + سرمادهی، تیغ + سرمادهی و آب داغ + سرمادهی کاربرد تیمارهای پاکلوبوترازول، اسید آبسیزیک و دینی‌کونازول درصد و سرعت جوانه‌زنی را نسبت به شاهد هر گروه در حد معنی‌داری کاهش داد. در مقابل کاربرد فلوریدون در همه بذرهای مذکور درصد و سرعت جوانه‌زنی را نسبت به شاهد این گروه‌ها افزایش داد (شکل ۵).

بحث و نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که دانه‌های خراش‌دهی نشده گیاه مورد، جوانه‌زنی بسیار کمی دارند اما کاربرد انواع شیوه‌های خراش‌دهی، جوانه‌زنی دانه‌ها را حداکثر تا حدود ۶۵-۶۰ درصد بالا برد که نشان می‌دهد حدود ۶۰ درصد خواب دانه گیاه مورد، از نوع خواب فیزیکی است. اثر مثبت خراش‌دهی با اسید سولفوریک و سنباده [۲] و تیغ‌زدن پوسته دانه [۸] بر شکست خواب فیزیکی دانه‌های مورد بوسیله سایر محققان نیز گزارش شده است. با توجه به اینکه در تیمار با آب داغ درصد جوانه-زنی تا حد زیادی کمتر از سایر روش‌های خراش‌دهی بود (شکل ۱)، احتمالا خواب دانه بیشتر ناشی از سختی پوسته بوده و کمتر به وجود مواد بازدارنده در پوسته مرتبط است.

مشابه با نتایج تحقیق حاضر (شکل ۲)، اسماعیلی و همکاران [۲] نیز اعلام کردند تیمار با اسید سولفوریک ۹۸٪ به مدت ۲ و ۴ دقیقه اثرات منفی بر رشد ریشه و بنیه بذر گیاه مورد داشت و استقرار و رشد دانه‌رست‌های حاصل از تیمار سنباده‌زنی بهتر بود. بذور گیاه مورد، زوائدی بنام الایوزوم را در محل سفت دارند و به نظر می‌رسد که این زائده یکی از موانع فیزیکی برای خروج جنین و جوانه‌زنی موفق می‌باشد. Ciccarelli و همکاران [۱۸] نشان دادند که حذف زائده الایوزوم روی بذرهای مورد سرعت و درصد جوانه‌زنی دانه‌های این گیاه را افزایش می‌دهد. بنابراین، احتمال دارد تیمارهایی شبیه سنباده یا تیغ زدن یا حتی تیمار با اسید سولفوریک، در حذف این زائده نقش داشته باشند و در نتیجه خروج ریشه‌چه از بذر را تسهیل می‌کنند.

نتایج این تحقیق نشان داد که در دانه‌های بدون خراش‌دهی (گروه شاهد) و دانه‌های خراش‌دهی شده با آب داغ ، ۳۰ و ۴۵ روز سرمادهی مرطوب در حد کم امّا معنی‌داری نسبت به دانه‌های سرمادهی نشده جوانه‌زنی را افزایش داد (شکل ۱). در مقابل ۱۵ یا ۳۰ روز سرمادهی مرطوب و در دانه‌های خراش‌دهی شده با اسید سولفوریک، تیغ، سنباده ۱۵ و ۳۰ روز سرمادهی بطور معنی‌دار و چشمگیری جوانه‌زنی دانه‌ها و رشد دانه‌رست‌ها را افزایش داد (شکل ۱). این نشان می‌دهد بخشی از خواب دانه مورد، از نوع خواب فیزیولوژیکی است. اثر مثبت سرمادهی مرطوب در شکست خواب فیزیولوژیکی دانه‌های کما (*Ferula ovina*) و کرفس کوهی (*Kelussia odoratissima* Mozaff.) هم گزارش شده است [۴ و ۶]. پیشنهاد شده که

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۷۲-۳۵۹ DOI: 10.22034/jpr.2025.2492

سرمادهی علاوه بر آنکه تراز ABA/GA در دانه را متعادل می‌کند، می‌تواند سنتز اسیدهای نوکلئیک و فعالیت چرخه پنتوز فسفات را در دانه‌ها افزایش دهد که این تغییرات لازمه شکست خواب و جوانه‌زنی بذر گیاه هستند [۱۷].

مدت مناسب سرمادهی، اثر مطلوبی بر طول دانه‌رست و بنیه هم در دانه‌های شاهد و هم دانه‌های خراش‌دهی شده داشت. مشابه نتایج این تحقیق، مندنی و همکاران [۱۰] هم گزارش کردند خراش‌دهی شیمیایی با اسید سولفوریک و خراش‌دهی فیزیکی با سنباده، ممانعت فیزیکی پوسته بذر پنیرک (*Malva neglcta*) را کاهش داد، اما بیشترین درصد جوانه‌زنی، طول و وزن خشک گیاهچه و بنیه با کاربرد تیمار دوگانه خراش‌دهی فیزیکی و سرمادهی به مدت سه هفته بدست آمد. به هر حال، برخلاف نتایج تحقیق حاضر، اسماعیلی و همکاران [۲] گزارش کردند که ۱ یا ۳ ماه سرمادهی اثری بر جوانه‌زنی دانه‌های مورد نداشت و اثرات مثبت سرما در تحقیقات دیگر را به همان ترک خوردن پوسته دانه تحت سرما و رفع مقاومت مکانیکی نسبت دادند. در رابطه با نتایج متفاوت این محققان، به دو نکته می‌توان اشاره کرد. اول آن که این تفاوت نتایج ممکن است مرتبط به تفاوت زیستگاه یا اقلیم مناطقی باشد که دانه مورد از آنها جمع‌آوری شده است. بسیاری از محققان دیگر هم گزارش کردند که در مناطق مختلف ممکن است اکوتیپ‌های ژنتیکی گیاهان، در گذر زمان تشکیل شده باشد که در برخی خصوصیات از جمله خواب دانه با هم تفاوت دارند. خواب دانه در حقیقت یک شیوه برای اجتناب از تنش‌های اقلیمی در زیستگاه گیاه است. طول دوره خواب و شرایط لازم برای جوانه‌زنی بسیاری از دانه‌ها علاوه بر ژنتیک گیاه، به شرایط اقلیمی که گیاه مادری در آن رشد کرده، بستگی دارد [۲۴]. بنابراین، چون دانه‌های گیاه مورد بکار برده شده در این تحقیق بنا به گزارش شرکت مربوطه از منطقه چهارمحال و بختیاری جمع‌آوری شده‌اند، احتمالاً در سازگاری با اقلیم منطقه، درصدی از خواب فیزیولوژیکی در آنها شکل گرفته که در پاسخ به سرما شکسته می‌شود. دلیل دیگر آن است که برهمکنش نوع خراش‌دهی دانه و مدت زمان سرمادهی کاملا در نتایج نهایی تاثیرگذار است. بر اساس نتایج این تحقیق اگر چه ۱۵روز (و در برخی موارد ۳۰ روز) سرمادهی مرطوب اثر مطلوبی بر شکست خواب فیزیولوژیکی در دانه‌های خراش‌دهی شده با اسید سولفوریک، تیغ و سنباده داشت اما با ۴۵ روز سرمادهی، درصد جوانه‌زنی کمتری از این بذرهای خراش‌دهی شده بدست آمد (شکل ۱) و در اغلب موارد طول دانه‌رست و بنیه هم در این تیمارها کمتر بود (شکل ۲). در حالی‌که در بذرهای تیمار شده با آب داغ و بذرهای شاهد که پوسته آنها باقی مانده است این اثر منفی دیده نشد (شکل ۱ و ۲). این نشان می‌دهد که بذرهای خراش‌دهی شده به عوامل محیطی مثل سرمای طولانی حساس‌تر هستند. این اثر منفی برای جوانه‌زنی بذرهای خراش‌دهی شده با اسید سولفوریک و طول دانه‌رست و بنیه آنها مشهودتر بود (شکل ۱ و ۲). بطور مشابهی در مطالعه اسماعیلی و همکاران [۲] نیز، اعمال ۱ یا ۳ ماه سرمادهی اثر منفی بر دانه‌های خراش‌دهی شده با اسید سولفوریک داشت. همچنین گزارش شده است که سرمادهی بر شکست خواب دانه‌های دست نخورده *Cerus siliquastrum* تاثیر نداشت و درصد جوانه‌زنی دانه‌های خراش-دهی شده با اسید سولفوریک غلیظ (اسید ۹۷-۹۵٪ به مدت ۲۰، ۴۰ و ۶۰ دقیقه) با ۲ تا ۳ ماه سرمادهی افزایش یافت. اما با مدت طولانی‌تر سرمادهی (۴ ماه) این دانه‌های خراش‌دهی شده، درصد جوانه‌زنی کمتری حاصل شد [۳۱]. بنابراین، طبق نتایج این آزمایش (شکل ۱ و ۲) می‌توان نتیجه‌گیری کرد که تیمار ترکیبی خراش‌دهی مکانیکی با سنباده یا تیغ و سپس سرمادهی مرطوب گزینه مناسب برای شکست خواب ترکیبی دانه مورد است و بهتر است از تیمار دوگانه خراش‌دهی با اسید و سرمادهی مرطوب اجتناب کرد.

همانطور که شکل ۳ نشان می‌دهد کاربرد جیبرلین هم جوانه‌زنی بذرهای خراش‌دهی شده با اسید سولفوریک، سنباده، تیغ و آب داغ را در حد معنی‌داری افزایش داد (شکل ۳). این نتایج دوباره تایید می‌کند که بخشی از خواب بذر مورد فیزیولوژیکی است. بطور مشابهی، Benvenuti و Machia [۱۶] هم گزارش کردند که کاربرد جیبرلین و سرمادهی مرطوب به شکست

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۷۲-۳۵۹ DOI: 10.22034/jpr.2025.2492

خواب دانه مورد کمک کرد و میانگین زمان جوانه‌زنی دانه را کاهش داد. در مقابل مکی‌زاده و همکاران [۸] گزارش دادند که جیبرلین اثر معنی‌داری بر جوانه‌زنی بذر مورد دست نخورده نداشت و وجود خواب فیزیولوژیکی را رد کردند. در این تحقیق، هم جیبرلین بر جوانه‌زنی بذرهای مورد خراش‌دهی نشده اثری نداشت (شکل ۳). بنابراین، به نظر می‌رسد که بی‌تاثیر بودن جیبرلین در تحقیق مکی‌زاده و همکاران [۸]، احتمالا به خاطر کاربرد جیبرلین روی بذرهای دست نخورده بوده است. طبق دستورالعمل ISTA [۲۳] هم برای دانه‌هایی که دارای خواب ترکیبی هستند باید بعد از خراش‌دهی تیمار جبرلین اعمال شود تا جوانه‌زنی بذر و رشد بعدی دانه‌رست در حد مطلوبی پیش برود. در این تحقیق، کاربرد غلظت مناسب جیبرلین بنیه و طول دانه‌رست حاصل از دانه‌های شاهد و دانه‌های خراش‌دهی شده را هم افزایش داد (شکل ۴). بطور مشابهی کاربرد جیبرلین روی بذر گون (*Astragalus cyclophylion*) خراش‌دهی مکانیکی شده، درصد و سرعت جوانه‌زنی این بذور را افزایش داد [۳]. جیبرلین‌ها با تغییرات در سطح رونویسی یا ترجمه ژن، میزان و فعالیت آنزیم‌های هیدرولیز کننده ذخایر دانه مانند آلفا آمیلاز را افزایش می‌دهند و این آنزیم‌ها با هیدرولیز ذخایر دانه، نمو رویان، جوانه‌زنی دانه و رشد دانه‌رست را تقویت می‌کنند [۳۰]. در برخی دانه‌های دارای خواب فیزیولوژیکی، جیبرلین‌ها می‌توانند جایگزین دوره سرمادهی شوند. در منابع خواب فیزیولوژیکی بر حسب تأثیر دما و جیبرلین روی آن به چند دسته تقسیم شده است. چنانچه شکست خواب بذر با تیمار با دمای بالا اتفاق افتد خواب یا از نوع ساده و اگر نیازمند سرمادهی برای شکست خواب باشد خواب مورفوفیزیولوژیکی از نوع کمپلکس یا پیچیده است. علاوه بر این، خواب کمپلکس خود شامل ۳ نوع است. اگر جیبرلین نتواند جایگزین دوره سرمادهی شود خواب از نوع عمیق ولی اگر جیبرلین بتواند جایگزین دوره سرمادهی شود خواب از نوع نیمه عمیق یا غیرعمیق است [۱۵]. بر اساس این طبقه‌بندی، بذر مورد علاوه بر خواب فیزیکی، دارای خواب مورفوفیزیولوژیکی کمپلکس غیرعمیق است چون جیبرلین توانست نیاز به سرمادهی را جبران نماید.

مکی‌زاده و همکاران [۸] دلیل اثر ۷ تا ۱۰ هفته سرمادهی در تحریک ۷۵ تا ۸۵ درصد جوانه‌زنی بذر گیاه مورد خراش‌دهی نشده در مطالعه‌شان را صرفا ترک خوردن پوسته دانه در اثر سرمای طولانی دانستند و با توجه با اینکه تیمار اسید جیبرلیک هم تاثیری در افزایش جوانه‌زنی بذر مورد دست نخورده نداشت، احتمال وجود خواب فیزیولوژیکی در دانه مورد را رد کردند. بنابراین، در سومین آزمایش این تحقیق، سعی شد با کاربرد بازدارنده‌ها نقش سرمادهی در تراز کردن سطح هورمون‌های جیبرلین و آبسیزیک اسید بررسی شود تا معلوم شود که سرمادهی در شکست خواب فیزیولوژیکی دانه نقش دارد یا صرفا در رفع ممانعت فیزیکی پوسته موثر است. نتایج نشان داد که کاربرد پاکلوبوترازول، آبسیزیک اسید، دینی‌کونازول و فلوریدون روی درصد و سرعت جوانه‌زنی دانه‌های دست نخورده (بدون سرمادهی و خراش) اثر معنی‌دار نداشت. اما در دانه‌هایی که تحت دو تیمار خراش‌دهی و سرمادهی مرطوب قرار گرفته بودند، اثر این ترکیبات معنی‌دار بود (شکل ۵). این پیشنهاد می‌کند سرمادهی بر سطح جیبرلین و آبسیزیک اسید دانه اثر می‌گذارد و این بازدارنده‌ها این اثر را تحت تاثیر قرار می‌دهند.

همانطور که قبلا در آرابیدوپسیس هم اثبات شده است [۳۵] بنظر می‌رسد که سرمادهی با تحریک سنتز جیبرلین جوانه‌زنی بذر مورد را تحریک کرد. چون ممانعت از سنتز جیبرلین با کاربرد پاکلوبوترازول، اثرات مثبت سرمادهی روی درصد و سرعت جوانه‌زنی بذرهای خراش‌دهی شده با اسید سولفوریک، سنباده، تیغ و آب داغ را خنثی کرد (شکل ۵). یک مطالعه هم اثبات کرده است که سرمادهی مرطوب با فعال کردن ژن *GA20ox1* بیوسنتز جیبرلین را افزایش داد و موجب شکست خواب دانه *Fagus silvatica* شد [۱۹]. پیشنهاد شده است که تیمار سرما تولید جیبرلین در جنین را تحریک می‌کند و این جیبرلین با فعال کردن آنزیم آلفا–آمیلاز در دانه روند تجزیه ذخایر دانه را تسریع کرده و در نتیجه دسترسی بیشتر به مواد اولیه برای رشد

Proof Article

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۷۲-۳۵۹ DOI: 10.22034/jpr.2025.2492

رویان، سرعت جوانه‌زنی افزایش می‌یابد. علاوه بر این معلوم شده که سرما مسیرهای سیگنالی دیگری را نیز فعال می‌کند که با کاهش مقادیر آبسیزیک اسید سرعت و بنیه جوانه‌زنی را بهبود می‌دهد [۱۷و ۳۲].

تیمار با اسید آبسیزیک و یا دینی‌کونازول درصد و سرعت جوانه‌زنی بذرهای مورد خراش‌دهی شده با اسید سولفوریک، سنباده، تیغ و آب داغ را کاهش داد و در مقابل فلوریدون حتی در شرایط بدون سرمادهی نیز در حد معنی‌داری جوانه‌زنی این بذرها را افزایش داد (شکل ۵). این نتایج گویای آن است که در جریان سرمادهی، سنتز اسید آبسیزیک مهار می‌شود یا تجزیه و کاتابولیسم آن تحریک می‌شود. بطوری‌که با کاربرد فلوریدون به عنوان یک بازدارنده سنتز اسید آبسیزیک هم می‌توان اثر مطلوب سرمادهی را در راه‌اندازی جوانه‌زنی بذر تقلید کرد. از سوی دیگر، با تیمار با اسید آبسیزیک و یا دینی‌کونازول (به عنوان یک ممانعت کننده تجزیه اسید آبسیزیک که منجر به بقا و تجمع اسید آبسیزیک می‌شود) احتمالا غلظت اسید آبسیزیک در دانه افزایش و در نتیجه، درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر مورد سرمادهی شده کاهش می‌یابد. در مجموع این نتایج پیشنهاد می‌کند که سرمادهی با افزایش سطح جیبرلین و کاهش سطح اسید آبسیزیک موجب شکست خواب فیزیولوژیک بذر مورد می‌شود. مشابه با یافته‌های این تحقیق گزارش شده است که تیمار با پاکلوبوترازول، آبسیزیک اسید و یا دینی‌کونازول اثر مطلوب سرمادهی مرطوب روی جوانه‌زنی بذرهای زیره سیاه (*Bunium persicum*) را کاهش داد و در مقابل کاربرد فلوریدون یا جیبرلین جوانه‌زنی این بذرها را افزایش داد و دوره سرمادهی مرطوب مورد نیاز برای شکست خواب دانه زیره سیاه را کاهش داد [۱۴].

مشابه نتایج این تحقیق Li و همکاران [۲۷] هم دریافتند که دانه‌های *Paeonia lactiflora* خواب دوگانه دارند. بخشی از خواب ناشی از عدم غلبه ریشه‌چه بر سختی پوسته دانه است و با تیمارهایی که به سست شدن پوسته می‌انجامد، برطرف می‌شود. امّا پس از این مرحله اگر چه ممکن است خروج و رشد ریشه‌چه از دانه اتفاق بیفتد امّا رشد ساقچه بدرستی انجام نمی‌شود مگر آن‌که یک دوره سرمادهی مرطوب را تجربه کند. آنها با اندازه‌گیری هورمون‌ها و پروفایل بیان ژن‌ها ثابت کردند که در طی این دوره سرمادهی نسبت هورمون جیبرلین به اسید آبسیزیک در دانه افزایش می‌یابد. نتایج این تحقیق نشان داد که احتمالا بی‌تاثیر بودن جیبرلین در کار آنها، به خاطر کاربرد جیبرلین روی بذرهای دست نخورده بوده است و سرمادهی هم در رابطه با تاثیر روی تراز جیبرلین و اسید آبسیزیک جوانه‌زنی بذر گیاه مورد را تحریک کرد. بنابر این بخشی از خواب بذر مورد از نوع فیزیولوژیکی است.

در مجموع، نتایج این تحقیق نشان داد بخش عمده خواب دانه گیاه مورد از نوع خواب فیزیکی است و بهترین تیمار برای رفع آن سنباده‌زدن یا برش پوسته با تیغ است. علاوه بر این، پژوهش حاضر بخوبی اثبات کرد بخشی از خواب بذر مورد از نوع فیزیولوژیکی است و کاربرد جیبرلین خارجی یا سرمادهی مرطوب برای ایجاد نسبت بالای جیبرلین به اسید آبسیزیک در دانه، برای تحقق حداکثر جوانه‌زنی و رشد بعدی دانه‌رست‌های حاصل از بذرهای مورد خراش‌دهی شده ضروری است.

سپاسگزاری

بدینوسیله نویسندگان از دانشگاه شهرکرد برای پشتیبانی مالی این پژوهش در قالب پایان نامه کارشناسی ارشد سپاسگزاری می‌کنند.

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۷۲-۳۵۹
DOI: 10.22034/jpr.2025.2492

منابع

۱. آخوندی م. مکاریان ک. شبانی. س. (۱۳۸۹). بررسی مورفولوژیکی و خواص داروئی گیاه مورد (*Myrtus commenis* L). همایش ملی گیاهان دارویی. ۱۱ اسفند ۱۳۸۹. ساری https://sid.ir/paper/821076/fa

۲. اسماعیلی ا. عیسوند ح ر. رضائی نژاد ع. سمیعی ک. ضابطی س م. (۱۳۹۱). مطالعه شاخص‌ها و خصوصیات جوانه‌زنی بذر و استقرار دانه‌رست گیاه دارویی مورد *Myrtus commnius* L. . مجله گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی لرستان ، جلد ۱۴ شماره ۲ ص ۸۰-۷۱

۳. رستمی‌پور ا. مرادی ع. علیوند ح. نصیری م. (۱۳۴۹). بررسی نوع خواب و مناسب‌ترین روش شکستن آن در سه اکوتیپ گون *Astragalus cyclophylus* نشریه علوم و فناوری بذر ایران .جلد ۴ شماره ۲. ص ۶۵-۵۱

۴. عموآقایی ر. (۱۳۸۴). تاثیر خیساندن بذور، مدت زمان و دمای پیش سرمای مرطوب بر شکست خواب بذر کما *Ferula ovina* . مجله زیست شناسی ایران، جلد ۱۸ شماره ۴. ص ۳۵۹-۳۵۰

۵. عموآقایی ر. (۱۳۸۹). اثر کاربرد جیبرلین و سرمادهی مرطوب روی تحریک جوانه‌زنی دانه و رشد بعدی دانه‌رست ازگیل ژاپنی. مجله زیست شناسی ایران، جلد۲۳، شماره۲، ص ۳۰۸-۲۹۹. SID. https://sid.ir/paper/21346/fa

۶. عموآقایی ر. ولی‌وند م. (۱۳۹۳). اثر مدت زمان سرمادهی، غلظت، نوع و زمان تیمار مواد ازته بر جوانه‌زنی و رشد دانه‌رست کرفس کوهی (*Kelussia odoratissima* Mozaff.). مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران). جلد ۲۷ ، ص۴۷۷-۴۶۵

۷. فرهودی ر، مدحج ع، معتمدی م. (۱۴۰۰). بررسی روش‌های شکست خواب بذر بابا آدم (*Arctium lappa*). علوم و تحقیقات بذر ایران جلد ۸، شماره ۲ ص ۱۷۵ - ۱۶۱ DOI: 10.22124/jms.2021.5224

۸. مکی‌زاده تفتی، م. فرهودی ر. نقدی‌بادی ح. مهدی‌زاده، ع. (۱۳۸۵). تعیین بهترین تیمار افزایش جوانه‌زنی بذر گیاهان دارویی روناس (*Rubia tinctorum* L.)، اکیناسه (*Echinacea angustifolia* D.C) و مورد (*Myrtus communis* L.). مجله تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران جلد ۲۲ شماره ۲. ص ۱۱۶-۱۰۵

۹. مندنی ف. جلیلیان ا. الفت. ا. (۱۳۹۷). کارایی پیش‌تیمارهای شیمیایی و مکانیکی بر شکستن خواب بذر و ویژگی-های جوانه‌زنی (*Malva neglcta*) پنیرک. مجله پژوهش‌های بذر ایران. سال پنجم. شماره اول. صفحات ۵۵-۷۰

۱۰. مهرابی ع ا. حاجی‌نیا س. (۱۳۹۸). تأثیر پیش تیمارهای بذری بر بهبود جوانه‌زنی بذر گون سفید (*Astragalus gossypinus*) . مجله پژوهش‌های بذر ایران جلد ۶، شماره۱، ص۱۱۳-۹۵

۱۱. همتی‌فر م. تهرانی‌فر ع. اکبری‌بیشه ح. عابدی ب. (۱۳۹۶). تسهیل جوانه‌زنی بذر هشت گونه زالزالک (*Crataegus* spp) بومی ایران با کاربرد خراش‌دهی شیمیایی و چینه سرمایی. مجله پژوهش‌های بذر ایران جلد۴، شماره۲، ص ۲۲-۱۳

12. Aihua L, Shunyuan J, Guang Y, Ying L, Na G, Tong C, Liping K, Luqi H, (2018). Molecular mechanism of seed dormancy release induced by fluridone compared with cold stratification in *Notopterygium incisum.* BMC Plant Biol.11;18(1):116. doi: 10.1186/s12870-018-1333-2.
13. Amooaghaie R. (2009).The effect mechanism of moist-chilling and GA_3 on seed germination and subsequent seedling growth of *Ferula ovina* Boiss. The Open Plant Sci J. 3: 22-28

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۷۲-۳۵۹ DOI: 10.22034/jpr.2025.2492

14. Amooaghaie R, Ahmady F. (2017). Triangular interplay between ROS, ABA and GA in dormancy alleviation of *Bunium persicum* seeds by cold stratification. Russ. J Plant Physiol. 64(4): 588–599.
15. Baskin JM, Baskin CC. (2021). The great diversity in kinds of seed dormancy: a revision of the Nikolaeva–Baskin classification system for primary seed dormancy. Seed Sci Res. 31(4):249-277
16. Benvenuti S, Macchia M. (2001). Dormancy and germination in *Myrtus communis* L. seeds. Agr. Med. 131: 77-81
17. Bewley JD, Bradford KJ, Hillhorst HWM, Nonogaki H. (2013). Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy, New York: Springer-Verlag
18. Ciccarelli D, Andreucci AC, Pagni AM, Garbari F. (2004). The role of the elaiosome in the germination of seed of *Myrtus communis* L. (Myrtaceae) seeds. Atti Soc. Tosc. Sci. Nat., 111: 143-146
19. Calvo AP, Nicolas C, Nicolas G, Rodriguez D, (2004). Evidence of a cross-talk regulation a GA20-oxidase (*FsGA20ox1*) by gibberellins and ethylene during the breaking of dormancy in *Fagus sylvatica* seeds, Physiol. Plant. 120: 623–630.
20. Debeaujon I, Koornnef M. (2000). Gibberellin requirement for arabidopsis seed germination is determined both by testa characteristics and embryonic abscisic acid. Plant Physiol: 122(2): 415–424.
21. Dong T, Tong J, Xiao L, Cheng H, Song S. (2012). Nitrate, abscisic acid andgibberellin interactions on the thermoinhibition of lettuce seed germination. J. Plant Grow. Regul. 66: 191–202.
22. Hilhorst HWM, Bentsink L, Koornneef M. (2006). Dormancy and germination. In: Handbook of Seed Science and Technology (ed. A. Basra). The Haworth Press, Inghamton, New York. 271-299
23. ISTA. 2020. International rules for seed testing. International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland
24. Kaye T N, Sandlin IJ, Bahm MA. (2018). Seed dormancy and germination vary within and among species of milkweeds. AoB Plants, 10(2): ply018, https://doi.org/10.1093/aobpla/ply018
25. Kepczyński J, Sznigir P. (2013). Response of *Amaranthus retroflexus* L. seeds to gibberellic acid, ethylene andabscisic acid depending on duration of stratification and burial, Plant Growth Regul. 70: 15–26.
26. Kildisheva OA, Dixon KW, Silveira FAO, Chapman T, Sacco AD, Mondoni A, Turner SR, Cross AT. (2020). Dormancy and germination: making every seed count in restoration. Restoration Ecology. doi: 10.1111/rec.13140
27. Li X, Fei R, Chen Z, Fan C, Sun X. (2020). Plant hormonal changes and differential expression profiling reveal seed dormancy removal process in double dormant plant-herbaceous peony. PLoS ONE 15(4): e0231117. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231117
28. Liu Y, Ye N, Liu R, Chen M, Zhang J. (2010). H_2O_2 mediates the regulation of ABA catabolism and GA biosynthesis in *Arabidopsis* seed dormancy and germination. J. Exp. Bot. 61: 2979–2990.
29. Miraj S, Kiani S. (2016). A review study of therapeutic effects of *Myrtus communis.* Der Pharmacia Lettre. 8 (9): 281-285
30. Penfield, S. (2017). Seed dormancy and germination. Current Biology. 27: 853–909
31. Pipinis E, Milios E, Smiris P, Gioumousidis C. (2011). Effect of acid scarification and cold moist stratification on the germination of *Cercis siliquastrum* L. seeds. Turk. J. Agric. For. 35: 259-264
32. Shu K, Chen Q, Wu Y, Liu R, Zhang H, Wang P, Li Y, Wang S, Tang S, Liu C, Yang W, Cao X, Serino G, Xie Q. (2016). ABI4 mediates antagonistic effects of abscisic acid and gibberellins at transcript and protein levels. Plant J. 85: 348–361

Plant Original Article

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۷۲-۳۵۹ DOI: 10.22034/jpr.2025.2492

33. Tuan PA, Kumar R, Rehal PK, Toora PK and Ayele BT (2018) Molecular mechanisms underlying abscisic acid/gibberellin balance in the control of seed dormancy and germination in cereals. Front. Plant Sci. 9:668. doi: 10.3389/fpls.2018.00668
34. W¨unschová, A, Beňová V, Vlašínová H, Havel L. (2009). Dormancy of *Nicotiana benthamiana* seeds can be broken by different compounds. Biologia 64/4: 705-710, DOI: 10.2478/s11756-009-0064-0
35. 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.

The role of GA and ABA in moist chilling-induced effects on germination of scarified seeds of *Myrtus commnius* L.

A. Rafieii[1] , R. Amooaghaie[1,2*]
[1] Plant Science Department, Faculty of Science, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
[2] Biotechnology Research Institute, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

Abstract

Dormancy of *Myrtus communis* seeds causes problems with the propagation of this plant through seed cultivation. Therefore, in current study firstly interactive effects of various types of scarification (treatment with hot water for 20 min, H_2SO_4 90% for 5 min, blade and sand paper for 10 min) with moist chilling (0, 15, 30, 45 days) or GA_3 concentrations (0, 250, 500, 1000 mg/L) were investigated on seed dormancy breaking in two separate experiments. Results showed that without scarification seed germination less than 3%, but application of various types of scarification achieved final seed germination to 30-67%. The moist chilling and GA_3 treatments significantly increased seed germination and seedling growth and vigor in scarified seeds and the best treatment was combination of scarification with blade or sand paper and 30 moist chilling that posed 91% seed germination. In the next experiment, the role of GA and ABA in moist chilling - induced effects on seed dormancy breaking was assessed using inhibitor compounds. Results showed that application of paclobutrazole (as an inhibitor of GA synthesis) as well as treatment with ABA and diniconazole (as an inhibitor of ABA catabolism) reversed the effect of moist chilling on the germination of scarified seeds. In contrast, treatment with fluridone (as an inhibitor of ABA synthesis) increased the velocity and capacity of germination of moist chilled- and scarified seeds. These results suggested that myrtle seeds in addition to physical dormancy possess physiological dormancy that moist chilling can attenuate it by increasing GA/ABA ratio in seeds.

Key words: blade, hot water, Physiological dormancy, sand paper, sulfuric acid

Proof of Article