"نشریه علوم و فناوری بذر ایران"
جلد دوازدهم، شماره ۱، بهار ۱۴۰۲
(ص ۷۷-۶۱)
مقاله پژوهشی

**Iranian Journal of
Seed Science and Technology
Vol.: 12, No.: 1, Spring 2023
(pp: 61-77)
DOI: 10.22092/ijsst.2022.359018.1438**
Research Article

تعیین شرایط بهینه آزمون جوانه‌زنی استاندارد بذر آنغوزه (*Ferula assa-foetida*)

محسن ملک[۱]، فرشید حسنی[۲*]، عنایت رضوانی[۲]، وحیدرضا محمودی[۳]، مسعود خسروی[۳]

مشمول نخبه، موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال کرج
استادیار، موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال کرج
محقق، موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال کرج
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۳۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۲۷)

چکیده

آنغوزه از گیاهان دارویی مهم تیره چتریان می‌باشد که با برداشت‌های مکرر از عرصه‌های طبیعی در معرض نابودی قرار گرفته است. شناخت و مطالعه رفتار جوانه‌زنی بذر این گیاه می‌تواند توسعه کشت و حفاظت از عرصه‌های طبیعی آن را به دنبال داشته باشد. به‌منظور تعیین شرایط بهینه آزمون جوانه‌زنی استاندارد بذرهای آنغوزه، در سال ۱۴۰۰ در آزمایشگاه تجزیه کیفی بذر موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال کرج آزمایشی بصورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی، در شش تیمار با سطوح مختلف به همراه تیمار شاهد و در سه تکرار اجرا شد. به این منظور بذرهای آنغوزه (متعلق به ارتفاعات شهرستان یاسوج واقع در استان کهگیلویه و بویر احمد)، تحت رژیم‌های مختلف دمایی (شامل ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درجه سلسیوس) و بسترهای متفاوت (شامل روی کاغذ (TP)، بین کاغذ (BP) و ماسه (S)) مورد ارزیابی قرار گرفتند. پیش‌تیمارهای مختلف در روند اجرای آزمون جوانه‌زنی استاندارد شامل سرمادهی (به مدت ۱۴ و ۳۵ روز در دمای ۷ درجه سلسیوس) و تیمار با مواد مختلف (شامل جیبرلیک‌اسید، کینیتین، نیترات پتاسیم) و همچنین آبشویی بذرها به مدت ۲۴ ساعت بود. با توجه به نتایج بدست آمده، پیش‌تیمار کینیتین (۲۵۰ قسمت در میلیون) و کشت بذرها بر روی کاغذ (TP) در دمای ۱۰ درجه سلسیوس؛ به‌عنوان شرایط بهینه جوانه‌زنی استاندارد بذرهای آنغوزه برای ارزیابی محموله‌های مختلف بذری پیشنهاد شد.

کلمات کلیدی: دمای جوانه‌زنی، بستر کشت، پیش‌تیمار بذر، تیره چتریان.

Optimal conditions determination for standard germination test of asafoetida (*Ferula assa-foetida)* seeds

M. Malek[1], F. Hassani[*2], E. Rezvani[2], V. Mahmoodi[3], M. Khosravi[3]

Seed and Plant Certification and Registration Institute
Assistant Professor, Seed and Plant Certification and Registration Institute
Researcher, Seed and Plant Certification and Registration Institute
(Received: Jun. 20, 2022 – Accepted: Oct. 19, 2022)

Abstract

Ferula assa-foetida is one of the important medicinal plants of Apiaceae that has been exposed to extinction with repeated withdrawals from its natural habitat. Study of seed germination behavior of this species can lead to the development of cultivation and protection of its natural habitat. In order to optimal conditions determine for the standard germination test of *Ferula assa-foetida* seeds (which belongs to the heights of Yasuj city located in Kohgiluyeh and boyer-ahmad provinces), this experiment was designed as factorial in a completely randomized design in six treatments with different levels, with control treatment and in three replications. The experiment was carried out in 2021-2022 in the seed quality analysis laboratory of the Seed and Plant Registration and Certification Research Institute of Karaj, this factorial experiment was conducted based on a completely randomized design. For this purpose, *Ferula assa-foetida* seeds were evaluated under different temperature regimes (including 10, 15, and 20 °C) and different germination substrates (top of the paper (TP), between paper (BP), and sand (S)). Various pretreatments in the standard germination test process include stratification (for 14 and 35 days at 7 °C) and treatment with different substances (including gibberellic acid, kinetin, and potassium nitrate) as well as the seeds leaching for 24 hours. According to the results, kinetin pre-treatment (250 ppm) and TP seed germination substrate at 10 °C; optimal germination conditions of *Ferula assa-foetida* seeds were proposed for evaluation of different seed samples.

Keywords: Germination temperature, germination substrate, seed pre-treatment, Apiaceae.

* Email: farshid.shz@gmail.com

مقدمه

جوامع بشری از دیرباز تاکنون به روش‌های مختلف از این گیاهان در درمان، تغذیه، تعلیف دام و همچنین در صنایع مختلف بهره برده است. استفاده از گیاهان دارویی دارای پیشینه‌ی بسیار قدیمی است، به‌طوری‌که مصریان هزاران سال پیش در دست‌نوشته‌های بجا مانده خود، نام تعدادی از گیاهانی را که جنبه‌ی دارویی داشته‌اند، ذکر نموده‌اند. همچنین منابع کهن رومیان و چینی‌ها نیز حاوی اطلاعات مختلفی از جنبه‌های دارویی تیره‌های گیاهان مختلف است (Martin, 2004). طبق برآورد محققین درحال حاضر حدود یک‌سوم داروهای مورد استفاده در جوامع انسانی را داروهایی با منشأ طبیعی و گیاهی تشکیل می‌دهد (Darvish *et al*., 2016). گیاهان دارویی می‌توانند به‌عنوان ذخایر و گنجینه‌های ژنتیکی، به‌عنوان بزرگ‌ترین ثروت ملی برای هر کشوری بوده و همچنین دارای سهم قابل توجهی از تولیدات مهم در بخش کشاورزی باشند (Khosravi-Pour *et al*., 2015).

یکی از تیره‌های مهم دارویی ایران تیره چتریان (Apiaceae) است که دارای تنوع گونه‌ای بسیاری نیز می‌باشد. اهمیت دارویی و اقتصادی گیاهان تیره چتریان باعث برداشت بی‌رویه، تخریب و انقراض بسیاری از گونه‌های متعلق به این تیره شده است؛ تا جایی که عرصه‌های منابع طبیعی به‌تنهایی جوابگوی این نیازها نمی‌باشد. احیاء، توسعه و بکارگیری اصولی گیاهان باقیمانده در طبیعت و همچنین کشت و اهلی نمودن این گیاهان امری ضروری می‌باشد (Sharifi *et al*., 2015). جنس Ferula یکی از جنس‌های پرجمعیت تیره چتریان می‌باشد و تنوع گونه‌ی بسیار بالایی دارد (Mozaffarian., 2007). آنغوزه با نام علمی *Ferula assa-foetida* گیاهی علفی، چندساله، کرک دار و خودگشن بوده که دارای گل‌آذین چتر مرکب، تک‌پایه و یک‌بار گل دهنده است و بسته به شرایط اقلیمی دارای طول عمر بین ۵ تا ۱۰ سال می‌باشد و در سال آخر چرخه‌ی زندگی خود، با تولید ساقه‌ی گل دهنده تولید بذر می‌کند و به چرخه‌ی زندگی خود پایان می‌دهد (Pirmoradi *et al*., 2012). آنغوزه از گیاهان دارویی، صنعتی و مرتعی با ارزش نواحی کوهستانی ایران می‌باشد؛ ازاین‌رو توجه به حفظ ذخایر ژنتیکی آن مهم تلقی می‌شود (Mozaffarian., 2004). آنغوزه جهت تهیه داروهای ضد انگل، ضد تشنج، قاعده آور و مقوی قلب مورداستفاده قرار می‌گیرد و در رفع بیماری‌های دارای منشأ عصبی دستگاه تنفسی، اسپاسم حنجره، آسم، دستگاه گوارش و رفع یبوست افراد مسن اثر دارد (Zargari., 1977). بذرهای این گونه در زمان بلوغ و پراکنش، دارای سطوح عمیقی از خفتگی بوده و تنها راه طبیعی و کاربردی تکثیر آن از طریق بذر است (Amouaghaei, 2007; Rostami and Tavakol Afshari, 2014). در طبیعت، شکست خفتگی بذر این گونه به ریزش باران و ذوب شدن برف‌ها و دماهای پایین وابسته است (Keshtkar *et al*., 2008)؛ بنابراین، کاهش ریزش برف و باران و ویژگی‌های خود این گونه (چندساله، منوکارپ بودن و داشتن خفتگی بذر) و همچنین برداشت بی‌رویه و نادرست، از عوامل کاهش گیاهچه‌های جوان این گونه بوده و این گونه‌ی ارزشمند را با خطر جدی انقراض مواجه ساخته است. وجود انواع خفتگی فیزیولوژیک (Vandelook *et al*., 2007)، مورفولوژیک (Baskin and Baskin., 1990) و مورفوفیزیولوژیک (Novak *et al*., 2011) در بذر گیاهان تیره چتریان به‌عنوان یک مانع عمده، عملیات کشت و اهلی سازی آن‌ها را با مشکل مواجه نموده است (Sharifi *et al*., 2015). خفتگی بذر عامل اصلی تأثیرگذار بر زمان شروع رشد گیاهچه می‌باشد که این مکانیسم به عوامل ژنتیکی، محیطی و فیزیولوژیکی زیادی وابسته است. جوانه‌زنی بذرهای دارای خفتگی نیز منوط به رفع آن بوده که رفع خفتگی و القای توانایی جوانه‌زنی نیز به عوامل محیطی زیادی ازجمله درجه حرارت (حداکثر و حداقل دما) بستگی

دارد. سایر عوامل محیطی مانند بستر کشت و در دسترس بودن آب و موادغذایی نیز بر روند جوانه‌زنی بذر تأثیر می‌گذارد (Ghaderi-Far and Soltani., 2014). ترکیبی از عوامل مختلف محیطی و ژنتیکی می‌تواند موجب تفاوت در رفتار جوانه‌زنی بذرهای جمعیت‌های مختلف یک‌گونه شود (Finch-Savage and Leubner-Metzger., 2006). شرایط اقلیمی مختلف از جمله دما، طول روز و میزان بارش در دوره رشد و نمو گیاهان به‌ویژه شرایط محیطی در دوره‌ی پر شدن و نمو بذرها از مهم‌ترین عوامل مؤثر در رفتار جوانه‌زنی و همچنین سطوح خفتگی بذرها می‌باشد (Bewley and Black., 2012). برای مثال بذرهایی که در دوره‌ی نمو روی پایه‌ی مادری شرایط آب و هوایی سردتری را تجربه می‌کنند معمولاً دارای سطوح خفتگی بیشتری از بذرهایی هستند که در شرایط آب‌وهوایی گرم‌تری نمو می‌یابند. همچنین معمولاً بذرهایی که در دوره‌ی پر شدن بذر طول روزهای بلندتری را تجربه می‌کنند معمولاً سطوح عمیق‌تری از خفتگی را دارا هستند (Bewley *et al*., 2013)؛ بنابراین به‌منظور شناسایی رفتار جوانه‌زنی و همچنین ارزیابی قابلیت جوانه‌زنی محموله‌های مختلف بذری و همچنین جمعیت‌های متفاوت گونه‌های گیاهی شناخت تمامی عوامل ذکر شده امری ضروری به‌شمار می‌رود.

محققان مطالعات متعددی در خصوص رفتار جوانه‌زنی بذرها و رفع خفتگی بذرهای تیره چتریان که از مهم‌ترین گیاهان دارویی به شمار می‌روند، به انجام رسانده‌اند. قوام و همکاران (Ghavam *et al*., 2018) در بررسی شکست خفتگی بذرهای مشگک (*Ducrosia anethifolia*) از تیره چتریان تحت تیمارهای مختلف، بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی بذرها در محلول نیترات پتاسیم مشاهده کردند. علیزاده و همکاران (Alizadeh *et al*., 2017) در بررسی تیمارهای رفع خفتگی جمعیت‌های گیاه دارویی مرزه (*Satureja* spp) مشاهده نمودند که تیمارهای خراش‌دهی، پس‌رسی و سرما نقش مؤثری در رفع خفتگی گیاهان مذکور داشته‌اند. نوروزیان و همکاران (Nowruzian *et al*., 2017) تأثیر تیمارهای سرمادهی مرطوب، آبشویی، اسید جیبرلیک، نمک‌های معدنی محیط کشت و زمان برداشت بذر و همچنین تأثیر متقابل این عوامل را بر جوانه زنی بذرهای آنغوزه بررسی کردند. نامبردگان بیان کردند سرمادهی مرطوب به مدت دو هفته در دمای ۴ تا ۵ درجه سانتی‌گراد به میزان ۵۰ درصد میانگین جوانه‌زنی را در مقایسه با شاهد افزایش داد، همچنین تیمار آبشویی نیز تأثیر معنی‌داری بر جوانه‌زنی بذرها داشت. کاربرد جیبرلیک‌اسید نیز توانست جوانه‌زنی بذرها را نسبت به شاهد افزایش دهد. تغییر در غلظت نمک‌های معدنی محیط کشت نیز نشان داد که محیط کشت دارای املاح کمتر نسبت به محیط کشت کامل، موجب افزایش میانگین جوانه‌زنی بذرهای آنغوزه شد. نامبردگان با مقایسه تأثیر زمان برداشت نیز گزارش کردند که بذرهای تازه برداشت‌شده جوانه‌زنی کمتری نسبت به بذرهای پس رس شده به مدت یک سال داشتند. محققان مختلف مهم‌ترین تیمار را در شکست خفتگی بذرهای آنغوزه تیمار سرمادهی مرطوب در دمای پایین معرفی کردند (Zare *et al*., 2011 ؛Otroshy *et al*., 2010؛ Raisi *et al*., 2013). همچنین محققان با بررسی اثرات جیبرلیک‌اسید بر جوانه‌زنی بذرهای آنغوزه بیان داشتند استفاده از جیبرلیک‌اسید خارجی می‌تواند جوانه‌زنی بذرها را به‌طور معنی‌داری افزایش داده و تا حدودی موجب رفع خفتگی بذرها شود (Keshtkar *et al*., 2009 ؛ Sharifi *et al*., 2017). در مطالعاتی دیگر حسنی و همکاران (Hassani *et al*., 2009) و اترشی و همکاران (Otroshy *et al*., 2010) با بررسی تأثیر هورمون‌های محرک رشد ازجمله جیبرلیک‌اسید و سیتوکینین‌ها بر افزایش جوانه‌زنی بذرهای آنغوزه بیان داشتند کاربرد این هورمون‌ها بخصوص سیتوکینین‌های مختلف می‌تواند به‌طور قابل‌توجهی موجب بهبود رفتار جوانه‌زنی بذرهای آنغوزه شود. به‌طورکلی نتایج مطالعات انجام‌شده حاکی از آن است که تیمارهای مختلفی ازجمله

سرمادهی مرطوب، آبشویی بذر، تیمار بذرها با مواد دارای خاصیت هورمونی همچون جیبرلیک‌اسید و سیتوکینین‌ها و همچنین مواد محرک جوانه‌زنی تأثیر قابل‌توجهی بر رفع خفتگی بذرهای آنغوزه داشته‌اند. تأثیر سیتوکینین‌های مختلف در رفع خفتگی بذر نیز به‌طور گسترده‌ای در گونه‌های مختلف گیاهی گزارش شده است (Hutchison and Kieber, 2002). همچنین در گونه‌های متعلق به تیره چتریان ازجمله زیره، کرفس کوهی و آنغوزه نیز تأثیر سیتوکینین‌ها بر بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و رفع خفتگی در بذر این گونه‌ها به اثبات رسیده است (Hassani *et al*., 2009؛ Pouresmaeil and Sharifi, 2003).

در فرایند اهلی سازی و کشت گیاهان دارویی، اطلاع از نحوه جوانه‌زنی بذر آن‌ها به‌منظور استقرار موفق و مطلوب گیاه اهمیت فراوان دارد. از آنجاکه بیشتر گیاهان دارویی از عرصه‌های طبیعی برداشت می‌شوند، در مقایسه با گونه‌های زراعی و اصلاح‌شده به مدت‌زمان بیشتری برای جوانه‌زنی احتیاج داشته و اغلب بذرهای گیاهان دارویی دارای سطوح مختلف خفتگی می‌باشند. باتوجه به آنچه پیش از این به آن اشاره شد آنغوزه به‌دلیل دارا بودن مصارف متعدد در صنایع مختلف و همچنین به دلیل استقبال بازار جهانی از فراورده‌های آن، مورد توجه افراد بومی در رویشگاه‌های طبیعی آن واقع شده و برداشت بی‌رویه از عرصه‌های طبیعی بسیار گسترش یافته و به‌عنوان تهدید جدی برای بقای این گونه‌ی ارزشمند تلقی می‌گردد. از طرفی کشت آن در عرصه‌های کشاورزی دارای مشکلاتی می‌باشد که مهم‌ترین آن جوانه‌زنی نامناسب بذرها به‌دلیل وجود خفتگی در بذرها و نبود روش استاندارد در ارزیابی جوانه‌زنی بذر می‌باشد. بنابراین مطالعه حاضر با هدف دست‌یابی به شرایط بهینه آزمون جوانه‌زنی استاندارد بذرهای آنغوزه و رفع خفتگی بذرها و به‌دنبال آن گسترش زراعی‌سازی و توان ارزیابی محموله‌های مختلف بذری آنغوزه انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در سال ۱۴۰۰ در آزمایشگاه تجزیه کیفی بذر موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال کرج به‌منظور ارزیابی روش‌ها و تیمارهای مختلف جوانه‌زنی و معرفی شرایط بهینه آزمون جوانه‌زنی استاندارد بذر آنغوزه به صورت فاکتوریل و در غالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار طراحی و اجرا شد. بذرهای مورد استفاده در اواخر خردادماه سال ۱۴۰۰ از ارتفاعات شهرستان یاسوج واقع در استان کهگیلویه و بویر احمد (۳۰°N و ۵۱°E و ارتفاع ۲۸۰۰ متر بالاتر از سطح دریا) جمع‌آوری شدند. بذرهای هوا خشک‌شده با رطوبت ۸-۷ درصد (بر مبنای وزن خشک) درکیسه‌های پلاستیکی نفوذناپذیر و مهروموم‌شده به آزمایشگاه انتقال داده شدند. لازم به‌ذکر است برداشت بذرها با کمترین رطوبت ممکن و در زمان رسیدگی کامل انجام شد، اما به دلیل حصول اطمینان از مناسب بودن رطوبت بذرها و عدم ایجاد اخلال در فرایند آزمون، عمل هواخشک کردن بذرهای تازه برداشت شده صورت گرفت. همچنین تمامی آزمون‌ها بلافاصله پس از انتقال بذرها به آزمایشگاه و به منظور تغییر در سطوح خفتگی و رفتار جوانه‌زنی بذرها انجام گرفت. فاکتورهای مورد ارزیابی شامل دما و بستر کشت و همچنین پیش‌تیمار رفع خفتگی بذرها بود. به‌منظور رفع خفتگی بذرها از پیش‌تیمارهای آبشویی، سرمادهی مرطوب (در دو سطح ۱۴ و ۳۵ روز در دمای ۷ درجه سلسیوس)، پیش‌تیمار کینیتین (غلظت ۲۵۰ قسمت در میلیون)، پیش تیمار جیبرلیک اسید (غلظت ۱۰۰۰ قسمت در میلیون)، نیترات پتاسیم (غلظت ۱۰۰۰ قسمت در میلیون) استفاده شد.

فاکتورهای مورد ارزیابی در این بخش از مطالعه، شامل دما و بستر جوانه‌زنی و همچنین پیش‌تیمار رفع خفتگی بذرها بود. به این منظور تیمارها باتوجه به نتایج آزمون‌های اولیه و اعمال تغییراتی به‌منظور تطبیق با دستورالعمل‌های معمول جوانه‌زنی که برای سایر گونه‌های گیاهی توسط انجمن بین‌المللی بذر معرفی‌شده است

صورت گرفت. تیمارهای مورد ارزیابی شامل شش سطح به همراه تیمار شاهد به شرح زیر بودند:

- پیش‌تیمار آبشویی بذرها: در این روش ۱۰۰ گرم بذرهای آنغوزه درون ارلن‌های ۲ لیتری ریخته شدند و درب ارلن‌ها توسط توری پارچه‌ای نفوذپذیر پوشیده شد. سپس ظرف حاوی بذرها زیر آب شهری قرار گرفتند و بدین ترتیب بذرها در معرض آب جاری به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. لازم به ذکر است نحوه‌ی آبشویی بذرها طوری بود که بذرها همواره به‌صورت غوطه‌ور و چرخش در آب بوده و همچنین آبدهی به بذرها به نحوی صورت گرفت که هم‌زمان اکسیژن نیز به محیط آبشویی اضافه شود و بذرها حتی‌الامکان تحت شرایط غرقاب قرار نگیرند (Stawomir *et al*., 2008).

- پیش‌تیمار سرمادهی: با توجه به دستورالعمل‌های رایج انجمن بین‌المللی بذر در خصوص این تیمار و همچنین نتایج بخش‌های قبل سرمادهی در دو سطح ۱۴ و ۳۵ روز انجام شد. بدین منظور بذرها درون ظروف دربسته بین دولایه کاغذ صافی قرار گرفتند و به ازای هر گرم بذر ۳ میلی‌لیتر (طبق آزمون‌های اولیه) آب مقطر به بستر سرمادهی اضافه شد. لازم به ذکر است بذرها در یک لایه (بذرها روی هم قرار نگرفتند) بین کاغذ صافی قرار گرفتند. همچنین طبق دستورالعمل‌های رایج انجمن بین‌المللی بذر، سرمادهی در دمای ۷ درجه سلسیوس صورت گرفت (ISTA, 2022).

- پیش‌تیمار کینیتین: به‌منظور اعمال این تیمار با توجه به نتایج آزمون‌های اولیه از غلظت ۲۵۰ قسمت در میلیون کینیتین استفاده شد (Malek *et al*., 2022a). اعمال این تیمار بدین‌صورت بود که بذرها همانند شرایط سرمادهی در بند قبل بین دولایه کاغذ صافی درون ظروف دربسته قرار گرفتند و بجای آب مقطر، ۳ میلی‌لیتر محلول کینیتین ۲۵۰ قسمت در میلیون به ازای هر گرم بذر به بستر اضافه شد و ظرف‌ها به مدت یک هفته به دمای ۷ درجه سلسیوس منتقل شد.

- پیش‌تیمار جیبرلیک‌اسید: مطابق بند قبل تیمار جیبرلیک‌اسید هم در شرایط مشابه انجام شد و در این پیش‌تیمار از محلول ۱۰۰۰ قسمت در میلیون جیبرلیک‌اسید استفاده شد.

- پیش‌تیمار نیترات پتاسیم: این تیمار نیز همانند بندهای قبل و با استفاده از محلول ۱۰۰۰ قسمت در میلیون نیترات پتاسیم استفاده شد.

پس از اعمال تیمارهای مختلف، سطح بذرها توسط آب مقطر به مدت یک دقیقه شسته شد و پس از ضدعفونی با محلول هیپوکلریت سدیم (۵ درصد آزمایشگاهی) به مدت ۵ دقیقه، بذرهای تیمارهای مختلف در معرض آزمون جوانه‌زنی قرار گرفتند (Ghaderi-Far and Soltani., 2014). به‌منظور انجام آزمون جوانه‌زنی دو فاکتور دما و بستر جوانه‌زنی هرکدام در سه سطح در نظر گرفته شد. به‌منظور ارزیابی تأثیر بستر جوانه‌زنی از سه بستر روی کاغذ[1] (TP)، بین کاغذ[2] (BP) و ماسه[3] (S) استفاده شد. پس از آماده‌سازی بسترهای کشت ظروف حاوی بذر به دماهای ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درجه سلسیوس به مدت ۷۵ روز منتقل شدند و شمارش بذرها سه نوبت در هفته انجام شد (Ghaderi-Far and Soltani., 2014). لازم به ذکر است تیمارها در ۴ تکرار ۵۰ بذری مورد آزمون قرار گرفتند. پس از گذشت ۷۵ روز از شروع آزمون، بذرهای جوانه نزده از بسترهای مختلف خارج شدند و با استفاده از آزمون فشار (Malek *et al*., 2022) ازنظر زنده‌مانی مورد ارزیابی قرار گرفتند که تمام بذرهای باقی‌مانده در حالت طبیعی و بدون فاسد شدگی بودند.

تجزیه وتحلیل داده‌ها و رسم نمودارها با استفاده از

[1] Top of paper
[2] Between paper
[3] Sand substrate

نرم افزارهای Germinator package، SAS 9.0.4 و Excel 2013 انجام شد (Joosen *et al.*, 2010; SAS Institute. 1994). شاخص‌های مختلف جوانه‌زنی توسط Germinator package به تفضیل شامل: G_{max} (حداکثر جوانه‌زنی)، MGT (متوسط زمان جوانه‌زنی)، U_{84-16} (یکنواختی جوانه‌زنی یا حدفاصل زمانی جوانه‌زنی از ۱۶ به ۸۴ درصد بذرهای جوانه‌زده) و AUC (محیط زیر منحنی) و سرعت جوانه‌زنی می‌باشد. به دلیل پایین بودن درصد جوانه‌زنی در برخی تیمارها معیار سرعت جوانه‌زنی در این بخش معکوس زمان تا جوانه‌زنی ۱۰ درصد بذرها ($1/T_{10}$) در نظر گرفته شد و در تیمارهایی که درصد جوانه‌زنی بین ۲ تا ۱۰ درصد داشتند این مقدار توسط برون‌یابی مدل برآورد شد. پس از برآورد پارامترهای ذکرشده برای تمامی تکرارهای هر تیمار، داده‌ها توسط طرح آماری فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی مورد تجزیه واریانس و مقایسه میانگین قرار گرفتند.

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

بطورکلی برای محاسبه‌ی این شاخص، پس از برازش مدل های رگرسیون غیرخطی به درصد جوانه‌زنی تجمعی بذرها در مقابل زمان، چندین پارامتر جوانه‌زنی به‌طور خودکار استخراج می‌شوند. شاخص G_{max} نشان‌دهنده حداکثر ظرفیت جوانه‌زنی بذر، t_{50} زمان لازم برای جوانه‌زنی ۵۰ درصد بذرها، U_{75-25} یکنواختی جوانه‌زنی فاصله زمانی بین ۷۵ تا ۲۵ درصد جوانه‌زنی، AUCx ناحیه زیر منحنی ادغام منحنی ترسیم‌شده بین $t = 0$ و یک نقطه انتهایی تعریف شده توسط کاربر (x) است (Jossen *et al.*, 2010). لازم به ذکر است در این مطالعه به دلیل پایین بودن جوانه‌زنی در برخی تیمارها از اختلاف‌زمانی بین ۸۴ تا ۱۶ درصد بذرهای جوانه‌زده برمبنای حداکثر جوانه‌زنی (U_{84-16}) استفاده شد؛ اما به‌منظور برآورد AUC نرم‌افزار به‌طور خودکار با استفاده از پیش‌بینی داده‌ها (برون‌یابی) از U_{75-25} استفاده می‌کند.

به‌طور اختصار این پارامتر اطلاعاتی مربوط به حداکثر جوانه‌زنی، سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی را باهم تلفیق کرده و می‌تواند برای توصیف رفتار جوانه‌زنی بذرها مورد استفاده قرار گیرد که از کاربردهای عمده این پارامتر برآورد شاخص خفتگی[1] و شاخص استرس[2] بوده و به عبارتی هرچه مقدار این عامل در تیمارهای مختلف نسبت به تیمار شاهد بیشتر باشد، نشان‌دهنده رفع خفتگی یا کاهش تنش می‌باشد (Jossen *et al.*, 2010; Malek *et al.*, 2022b).

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد تمام پارامترهای رفتار جوانه‌زنی و خفتگی بذرهای آنغوزه شامل درصد و سرعت جوانه‌زنی، یکنواختی جوانه‌زنی، میانگین زمان جوانه‌زنی و همچنین شاخص محیط زیر منحنی (AUC) که به‌عنوان شاخص خفتگی مورد ارزیابی واقع شد، تحت تأثیر فاکتورهای آزمایشی ازجمله دما و بستر کشت و همچنین پیش‌تیمار بذرها با روش‌های مختلف قرار گرفتند. همچنین نتایج حاکی از معنی‌دار بودن تمامی اثرات متقابل بین فاکتورها در سطح آماری یک درصد بود (جدول ۱).

بررسی نتایج تأثیر متقابل بستر کشت و پیش‌تیمارهای مورد آزمایش نشان داد درصد جوانه‌زنی بذرها با افزایش دما کاهش یافته و به ترتیب بیشترین و کم‌ترین میزان جوانه‌زنی بذرها در دماهای ۱۰ و ۲۰ درجه سلسیوس رخ داد. سرعت جوانه‌زنی بذرهای آنغوزه نیز تحت تأثیر دمای

[1] Dormancy Index
[2] Stress Index

جوانه‌زنی قرار گرفت و میانگین بیشترین سرعت جوانه‌زنی بذرها در دمای ۱۰ درجه سلسیوس مشاهده شد. میانگین زمان جوانه‌زنی در دمای ۱۵ درجه سلسیوس در کم‌ترین مقدار خود مشاهده شد و این پارامتر اختلاف معنی‌داری را در دماهای ۱۰ و ۲۰ درجه سلسیوس نشان نداد.

جدول ۱- میانگین مربعات پارامترهای رفتار جوانه‌زنی و خفتگی بذرهای آنغوزه تحت روش‌های مختلف آزمون جوانه‌زنی.

Table 1- Mean comparison of germination behavior and dormancy parameters of asafoetida seeds under different germination test methods.

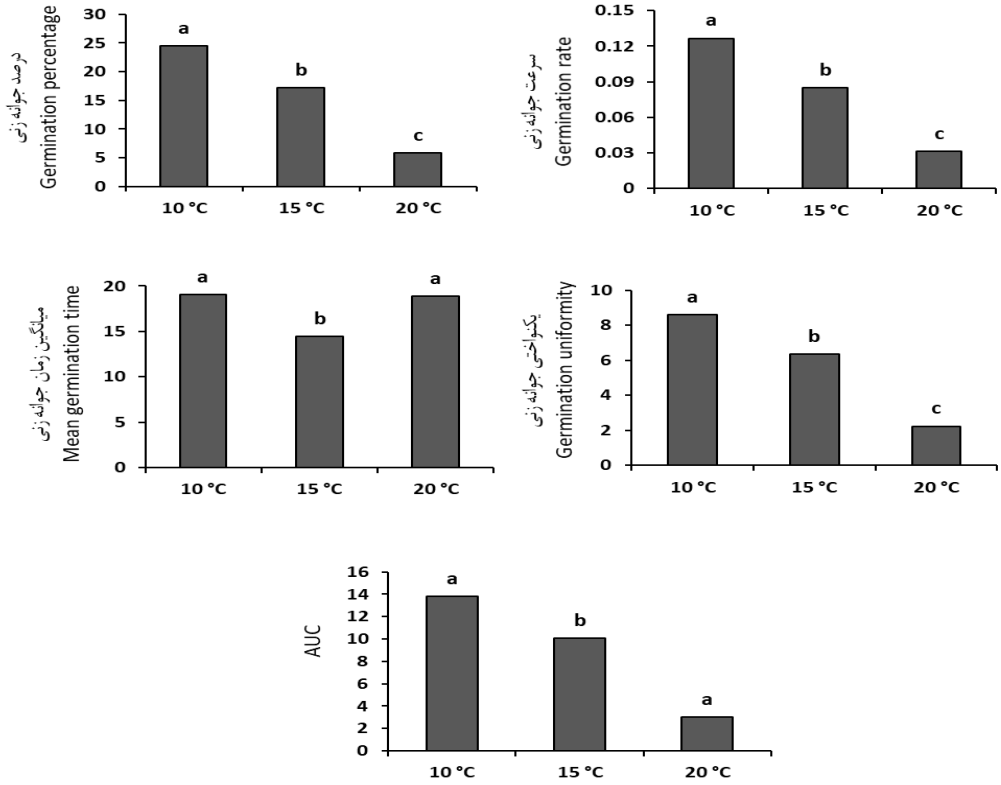
منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات Mean of Square				
		درصد جوانه‌زنی (Gmax)	AUC (75h)	سرعت جوانه‌زنی (1/T10)	میانگین زمان جوانه‌زنی (MGT)	یکنواختی جوانه‌زنی (U8416)
دما (Temperature)	2	5585.2**	1882.5**	0.143**	425.9**	658.9**
بستر کشت (substrate Germination)	2	2669.3**	724.1**	0.106**	5063.5**	1016.4**
پیش تیمار (Pre-Treatment)	6	5574.8**	2455.6**	0.270**	1440.6**	284.8**
دما × بستر (GM×T)	4	469.3**	148.26**	0.043**	343.2**	141.6**
دما × تیمار (PT×T)	12	621.3**	268.3**	0.037**	402.6**	227.8**
بستر × تیمار (PT×GM)	12	80.9**	31.3**	0.051**	745.5**	93.2**
دما × بستر× تیمار (PT×T×GM)	24	87.0**	29.9**	0.032**	428.8**	77.08**
خطا (Error)	-	3.52	1.05	0.0034	5.74	6.6
ضریب تغییرات CV (%)	-	11.86	11.45	19.38	13.73	14.86

ns، * و ** به‌ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد.

ns, * and ** respectively show non-significant, significant at the probability level of 5%, and significant at the probability level of 1%.

به‌طورکلی سرعت جوانه‌زنی نسبت به درصد جوانه‌زنی شاخص حساس‌تری نسبت به دما بوده که جوانه‌زنی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Tabrizi *et al*., 2004). از طرفی یکنواختی جوانه‌زنی در دمای ۲۰ درجه سلسیوس در کمترین مقدار خود و در دمای ۱۰ درجه سلسیوس در بیشترین مقدار خود بود. لازم به ذکر است ازآنجاکه این پارامتر حاصل تفریق زمان رسیدن جوانه‌زنی بذرها به ۸۴ و ۱۶ درصد بذرهای جوانه‌زده است نه کل جمعیت بذری، بنابراین در مواقعی که درصد جوانه‌زنی بذرها به دلایلی همچون خفتگی بذرها، پایین است معیار مناسبی نخواهد بود (Malek *et al*., 2022a, b). در نهایت بررسی شاخص محیط زیر منحنی (AUC) که در این مطالعه یکی از شاخص‌های مناسب برای ارزیابی فاکتورهای آزمایشی می‌باشد، بیشترین رفع خفتگی و به بیانی بیش‌ترین ظرفیت

جوانه‌زنی بذرها را در دمای ۱۰ درجه سلسیوس نشان داد؛ بنابراین با بررسی اثر دوگانه تیمار و بستر کشت مشخص شد بهترین دما برای انجام آزمون جوانه‌زنی استاندارد دمای ۱۰ درجه سلسیوس می‌باشد (شکل ۱). دمای جوانه‌زنی بذر به ژنتیک گیاه و شرایط اقلیمی که گیاه در آن رشد و نمو می‌کند، وابسته است (Salimi and Gorbanli, 2001). دمای مطلوب جوانه‌زنی در بذرهای آنغوزه و باریجه بسیار پایین بوده، به‌طوری‌که دماهای پایین‌تر از ۱۰ درجه سلسیوس به‌عنوان دمای مطلوب جوانه‌زنی بذرهای این گونه‌ها پیشنهاد شده است (Kumar *et al*., 2020; Zardari *et al*., 2019).

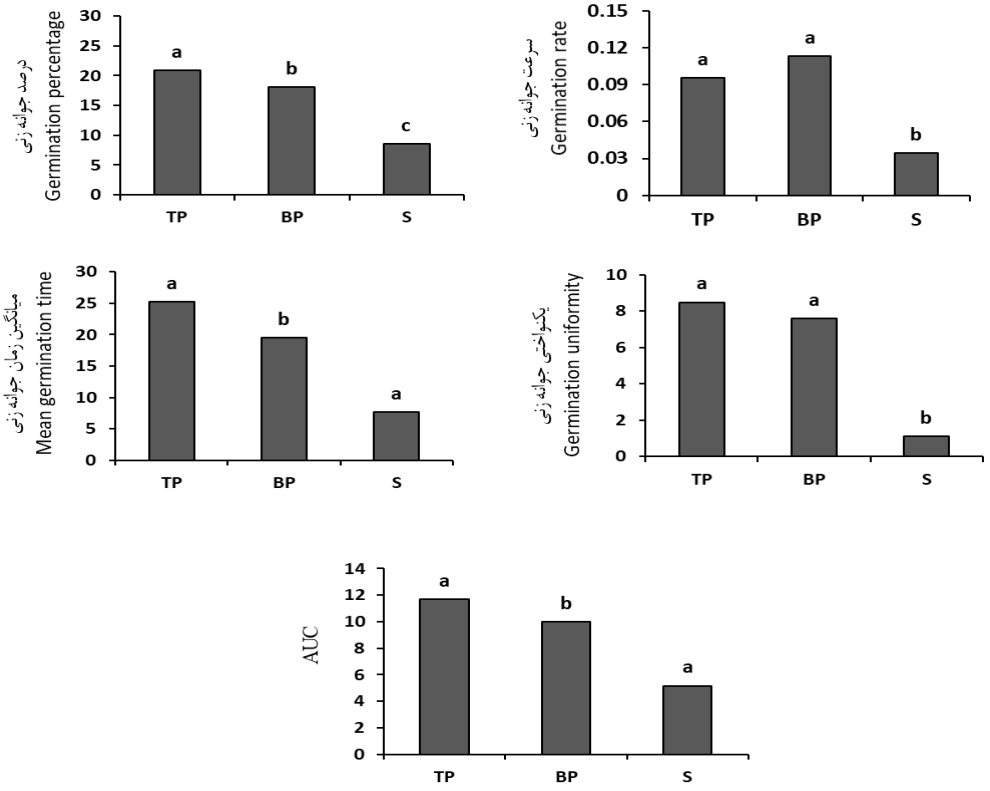


شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل بستر کشت و پیش‌تیمار بذرها بر پارامترهای مختلف جوانه‌زنی و خفتگی بذرهای آنغوزه در دماهای مختلف.

Figure 1- Mean comparison of germination substrate and pre-treatments on different germination and dormancy parameters of asafoetida seeds at different temperatures.

مقایسه میانگین اثرات متقابل دما و تیمارهای بهبود جوانه‌زنی نشان داد بیشترین درصد جوانه‌زنی در بستر روی کاغذ (TP) و در مقابل کم‌ترین درصد جوانه‌زنی بذرها در بستر ماسه (S) مشاهده شد. سرعت جوانه‌زنی بذرهای آنغوزه نیز تحت تأثیر بستر کشت قرارگرفته و بدین ترتیب بیش‌ترین سرعت جوانه‌زنی بذرها در بسترهای (BP) و (TP) مشاهده شد. از طرفی میانگین زمان جوانه‌زنی و یکنواختی جوانه‌زنی در بستر ماسه (S) مطلوب‌ترین حالت خود را نشان داد که این موضوع نیز همان‌طور که قبلاً به آن اشاره شد، به دلیل پایین بودن درصد جوانه‌زنی در اکثر تیمارهای آزمایشی در این بستر بوده و معیار مناسبی برای ارزیابی بسترهای مختلف نمی‌باشد. با مقایسه‌ی بسترهای (BP) و (TP) مشخص شد که اختلاف معنی‌داری در یکنواختی جوانه‌زنی بذرها وجود نداشته اما میانگین زمان

جوانه‌زنی در بستر بین کاغذ پایین‌تر از بستر روی کاغذ بود. شاخص رفع خفتگی بذرها یا محیط زیر منحنی در بستر (TP) در بیشترین مقدار و در بستر (S) در کم‌ترین مقدار خود مشاهده شد. با توجه به در نظر گرفتن مهم‌ترین پارامترها ازجمله درصد و سرعت جوانه‌زنی و همچنین شاخص رفع خفتگی بذرها نتیجه‌گیری می‌شود که طبق بررسی اثر دوگانه تیمار و دما بهترین بستر کشت برای بذرهای آنغوزه بستر روی کاغذ (TP) است (شکل ۲).



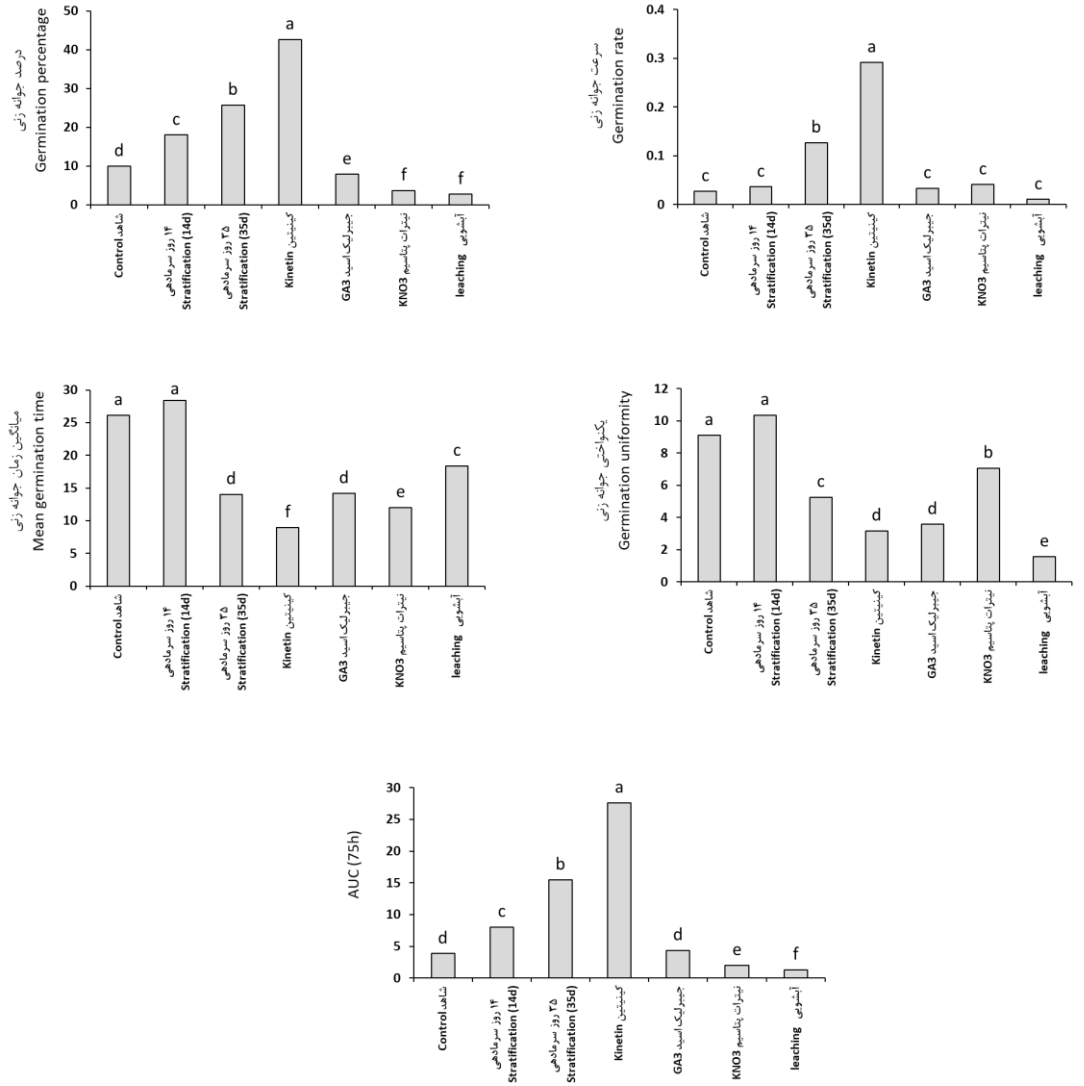
شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل دما و پیش‌تیمار بر پارامترهای مختلف جوانه‌زنی و خفتگی بذرهای آنغوزه در بسترهای کشت متفاوت.

Figure 2 - Mean comparison of temperature and pre-treatments on different germination and dormancy parameters of asafoetida seeds in different germination substrates.

شکل (۳) ارائه‌دهنده‌ی مقایسه میانگین اثر متقابل دما و بستر کشت بر رفتار جوانه‌زنی بذرهای آنغوزه تحت تیمارهای مختلف می‌باشد. همان‌طور که مشاهده می‌شود بیشترین تأثیر بین تیمارهای مختلف بر ظرفیت جوانه‌زنی بذرهای آنغوزه در تیمار بذرها با استفاده از کینیتین (۲۵۰ قسمت در میلیون) بود. سپس سرمادهی بذرها به مدت ۳۵ و ۱۴ روز بیشترین درصد جوانه‌زنی بذرها را بعد از کینیتین نشان دادند. سایر تیمارهای استفاده شده شامل جیبرلیک اسید، نیترات پتاسیم و آبشویی دارای اثرات قابل توجهی نبودند و حتی در برخی پارامترهای مورد استفاده موجب تأثیر منفی بر رفتار جوانه‌زنی بذرهای آنغوزه بودند (شکل ۳).

با بررسی اثر متقابل دما و بستر کشت مشخص شد سایر تیمارهای مورد آزمون تا حدودی باعث کاهش ظرفیت جوانه‌زنی بذرها شدند. سرعت جوانه‌زنی هم الگویی مشابه با ظرفیت جوانه‌زنی داشت. به‌طوری‌که بیشترین سرعت جوانه‌زنی بذرها در دماها و بسترهای کشت مختلف به ترتیب در تیمارهای کینیتین (۲۵۰ قسمت در میلیون)، ۳۵ روز سرمادهی و ۱۴ روز سرمادهی مشاهده شد و سایر تیمارها تأثیر معنی‌داری بر سرعت جوانه‌زنی بذرها نسبت به

بذرهای شاهد نداشتند. همان‌طور که در شکل (۳) مشاهده می‌شود کم‌ترین میزان میانگین زمان جوانه‌زنی و همچنین یکنواختی جوانه‌زنی در بذرهای تیمارشده با کینیتین (۲۵۰ قسمت در میلیون) مشاهده شد که نشان‌دهنده‌ی نقش این تیمار در افزایش سرعت جوانه‌زنی و از طرفی کاهش زمان موردنیاز برای آزمون جوانه‌زنی می‌باشد. تیمار کینیتین (۲۵۰ قسمت در میلیون) و ۳۵ روز سرمادهی به ترتیب بیشترین نقش را در رفع خفتگی بذرها در دماها و بسترهای مورد آزمون داشتند و به‌طورکلی با بررسی تأثیر دوگانه‌ی دما و بستر کشت بر پارامترهای ارزیابی‌شده، این دو تیمار مؤثرترین تیمار در بهبود جوانه‌زنی بذرها در شرایط مختلف می‌باشند (شکل ۳).

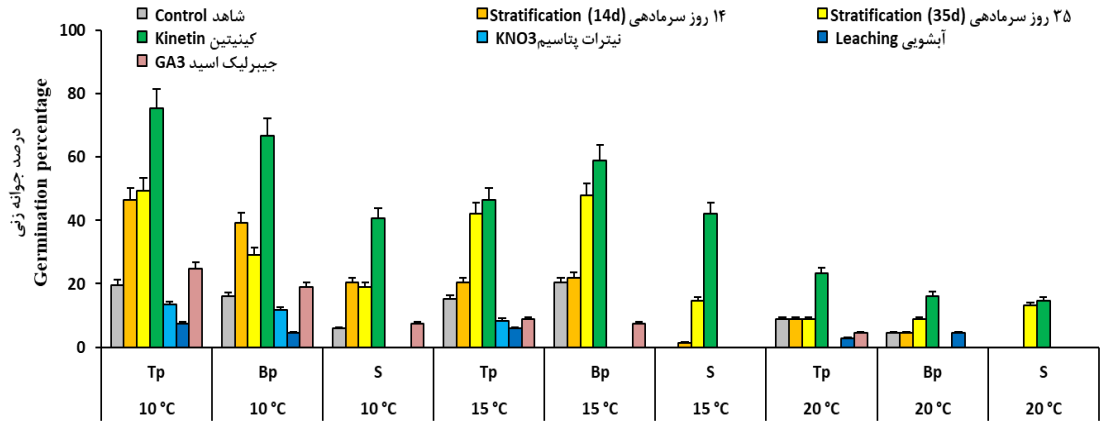


شکل ۳- مقایسه میانگین تأثیر متقابل دما و بستر کشت بر پارامترهای جوانه‌زنی و خفتگی بذر آنغوزه تحت پیش‌تیمارهای مختلف.

Figure 3 - Mean comparison of temperature and germination substrate on germination and dormancy parameters of asafoetida seeds under different pre-treatments.

به‌طور کلی بررسی اثرات سه‌گانه تیمار، دما و بستر جوانه‌زنی نشان داد بهترین تیمارها در خصوص افزایش درصد جوانه‌زنی بذرها در شرایط مختلف آزمون جوانه‌زنی به ترتیب مربوط به تیمارهای کینیتین (۲۵۰

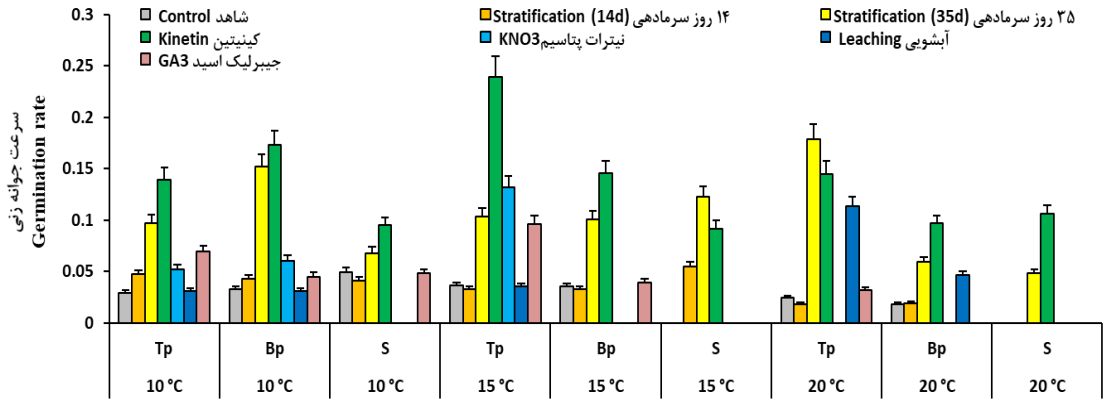
قسمت در میلیون)، ۳۵ روز سرمادهی و ۱۴ روز سرمادهی می‌باشد (شکل ۴). همچنین نتایج نشان داد جوانه‌زنی بذرها با افزایش دما در تمامی تیمارها و بسترهای کشت، کاهش یافته و بیشترین درصد جوانه‌زنی در دمای ۱۰ درجه سلسیوس مشاهده شد (شکل ۱). بستر روی کاغذ (TP) نیز نسبت به سایر بسترهای کشت برتری داشت البته در دمای ۱۵ درجه سلسیوس با اختلاف کمی (کمتر از ۱۵ درصد) بستر (BP) نسبت به بستر (TP) برتری داشت (شکل ۲). درنهایت جمع‌بندی نتایج نشان می‌دهد از نظر درصد جوانه‌زنی بهترین تیمار در بهبود جوانه‌زنی بذرها مربوط به پیش‌تیمار کینیتین (۲۵۰ قسمت در میلیون) در دمای ۱۰ درجه سلسیوس و بستر (TP) به میزان ۷۵/۳۶ درصد (۵۶ درصد بیشتر از بذرهای شاهد) بود. سرمادهی بذرها به مدت ۳۵ و ۱۴ روز نیز به ترتیب با ۴۹/۲۷ و ۴۶/۳۷ درصد در دمای ۱۰ درجه سلسیوس و بستر (TP) مؤثرترین تیمارها پس از پیش‌تیمار کینیتین بودند. استفاده از جیبرلیک اسید در دمای ۱۰ درجه سلسیوس نیز تاحدودی موجب بهبود جوانه زنی بذرها شد اما سایر تیمارهای مورداستفاده موجب کاهش ظرفیت جوانه‌زنی بذرها نسبت به شاهد شدند (شکل ۴).



شکل ۴- تأثیر دمای آزمون جوانه‌زنی، بستر کشت بذرها و پیش‌تیمار بر ظرفیت (درصد) جوانه‌زنی بذرهای آنغوزه
TP، BP و S به ترتیب مربوط به بسترهای کشت روی کاغذ، بین کاغذ و ماسه.

Figure 4- The effect of germination temperature, germination substrate, and pre-treatments on germination capacity of asafoetida seeds.
TP, BP, and S are Top of Paper, Between Paper, and Sand substrate, respectively.

بررسی سرعت جوانه‌زنی بذرها نشان داد بیشترین سرعت جوانه‌زنی در بین تیمارهای مختلف در بذرهای تیمارشده با کینیتین (۲۵۰ قسمت در میلیون) و سپس بذرهای تیمارشده تحت دوره‌ی ۳۵ روزه سرمادهی وجود داشت. همچنین تیمار جیبرلیک اسید نیز به‌طور کلی دارای تاثیر مثبتی بر افزایش سرعت جوانه زنی بذرها بود اما این تاثیر کمتر از تیمارهای کینتین و ۳۵ روز سرمادهی بود. دراین‌بین بذرهای تیمارشده با کینیتین (۲۵۰ قسمت در میلیون) که در دمای ۱۵ درجه سلسیوس و در بستر (TP) تحت آزمون جوانه‌زنی قرار گرفتند بیشترین سرعت جوانه‌زنی را نشان دادند؛ اما به‌طورکلی سرعت جوانه‌زنی در اکثر تیمارها در دمای ۱۵ درجه سلسیوس در بیشترین مقدار خود بود که دراین‌بین بستر (BP) بیشترین سهم را در افزایش سرعت جوانه‌زنی بذرها در تیمارهای مختلف داشت (شکل ۵).



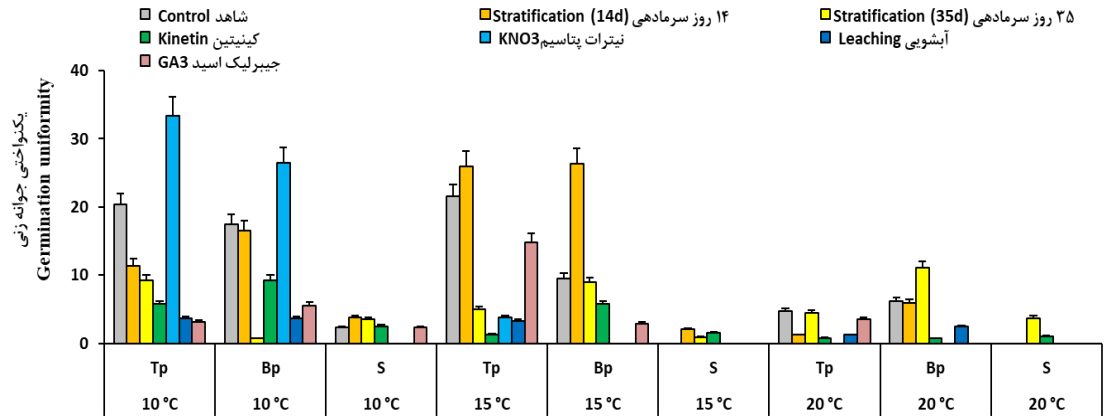
شکل ۵- تأثیر دمای آزمون جوانه‌زنی، بستر کشت بذرها و پیش‌تیمار بر سرعت جوانه‌زنی بذرهای آنغوزه.

TP ، BP و S به ترتیب مربوط به بسترهای کشت روی کاغذ، بین کاغذ و ماسه.

Figure 5- The effect of germination temperature, germination substrate, and pre-treatments on the germination rate of asafoetida seeds.

TP, BP, and S are Top of Paper, Between Paper, and Sand substrate, respectively.

ارزیابی یکنواختی جوانه‌زنی بذرها در تیمارهای مختلف و تحت شرایط متفاوت آزمون جوانه‌زنی نشان داد با در نظرگیری درصد جوانه‌زنی بذرها پیش‌تیمار کینیتین (۲۵۰ قسمت در میلیون) مؤثرترین تیمار در این خصوص بود و دارای بیشترین یکنواختی و در مقابل تیمار نیترات پتاسیم علاوه بر تأثیر منفی بر درصد جوانه‌زنی بذرها موجب کاهش یکنواختی جوانه‌زنی نسبت به تیمار شاهد نیز شد. با توجه به آنچه در بررسی اثرات متقابل دوگانه پیش‌ازاین گفته شد، می‌توان تیمار کینیتین (۲۵۰ قسمت در میلیون) را مؤثرترین تیمار در افزایش یکنواختی جوانه‌زنی بذرهای آنغوزه خواند (شکل ۶). لازم به ذکر است بیشتر بودن مقدار عددی یکنواختی جوانه‌زنی در شکل (۶) حاکی از پایین بودن یکنواختی جوانه‌زنی و یا به عبارتی بالاتر بودن زمان موردنیاز برای جوانه‌زنی بذرها می‌باشد. نتایج مقایسه‌ی شاخص میانگین زمان جوانه‌زنی (MGT) نیز حاکی از برتری این تیمار (پیش‌تیمار کینیتین) است.



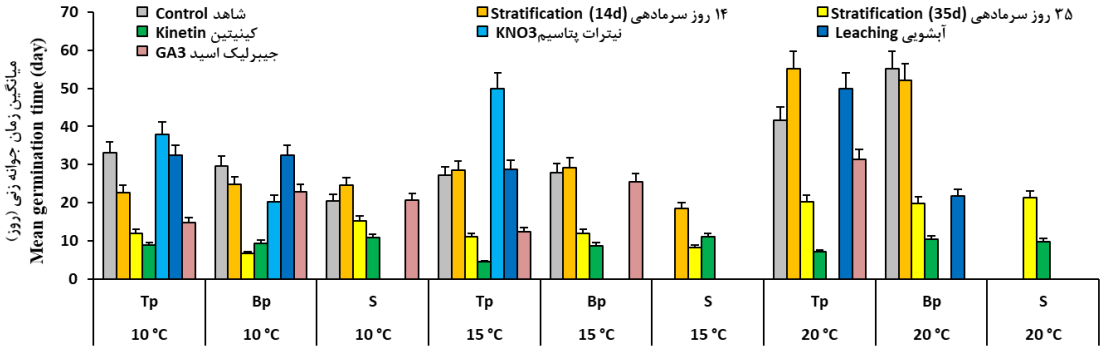
شکل ۶- تأثیر دمای آزمون جوانه‌زنی، بستر کشت بذرها و پیش‌تیمار بر یکنواختی جوانه‌زنی بذرهای آنغوزه.

TP ، BP و S به ترتیب مربوط به بسترهای کشت روی کاغذ، بین کاغذ و ماسه.

Figure 6- The effect of germination temperature, germination substrate, and pre-treatments on germination uniformity of asafoetida seeds.

TP, BP, and S are Top of Paper, Between Paper, and Sand substrate, respectively.

به‌طوری‌که بیشترین میزان میانگین زمان جوانه‌زنی مربوط به دمای ۲۰ درجه سلسیوس و در مقابل کمترین میانگین زمان جوانه‌زنی در دمای ۱۰ درجه سلسیوس بود؛ که دراینجا نیز با بررسی قابلیت جوانه‌زنی بذرها در شرایط مختلف می‌توان تیمار کینیتین (۲۵۰ قسمت در میلیون) را مؤثرترین تیمار بخصوص در دماهای ۱۰ و ۱۵ درجه سلسیوس دانست (شکل ۷).



شکل ۷- تأثیر دمای آزمون جوانه‌زنی، بستر کشت بذرها و پیش‌تیمار بر میانگین زمان جوانه‌زنی بذرهای آنغوزه.
TP، BP و S به ترتیب مربوط به بسترهای کشت روی کاغذ، بین کاغذ و ماسه.

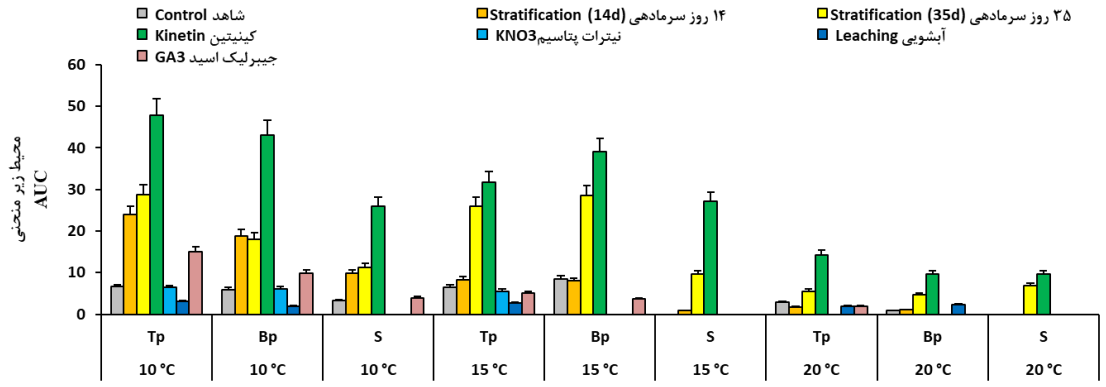
Figure 7- The effect of germination temperature, germination substrate, and pre-treatments on mean germination time (MGT) of asafoetida seeds.
TP, BP, and S are Top of Paper, Between Paper, and Sand substrate, respectively.

بررسی اثرات سه‌گانه پیش‌تیمار، دمای آزمون جوانه‌زنی و بستر کشت بذرها بر محیط زیر منحنی آزمون جوانه‌زنی (AUC) نشان داد بیشترین تأثیر مربوط به تیمار کینیتین در دمای ۱۰ درجه سلسیوس و بستر روی کاغذ (TP) بود. به‌طورکلی و با توجه به آنچه پیش‌تر به آن اشاره شد، ازآنجاکه این پارامتر با در نظر گرفتن فاکتورهای گوناگون برآورد می‌شود می‌تواند به نتیجه‌گیری کلی در خصوص پیش‌تیمارها و همچنین شرایط مختلف آزمون جوانه‌زنی ارائه دهد؛ بنابراین بر اساس نتایج محیط زیر منحنی می‌توان نتیجه گرفت پیش‌تیمار کینیتین (۲۵۰ قسمت در میلیون) اثربخش‌ترین پیش‌تیمار در رفع خفتگی بذرهای آنغوزه و همچنین بهبود رفتار جوانه‌زنی بذرها بوده است. همچنین بر اساس خروجی این پارامتر، بهترین دمای آزمون جوانه‌زنی و بهترین بستر کشت بذرها را نیز می‌توان به ترتیب دمای ۱۰ درجه سلسیوس و بستر روی کاغذ (TP) دانست (شکل ۸).

سیتوکینین‌ها نیز نقش اصلی در تحریک تقسیم سلولی، طویل شدن سلول و درنهایت تحریک رشد را در سلول‌های گیاهی بر عهده‌دارند. اثرات سیتوکینین بر جوانه‌زنی بذرها به‌طور کامل مشخص نیست. بااین‌حال، مطالعات متعدد نشان داده‌اند که سیتوکینین‌ها می‌توانند روی جوانه‌زنی به‌ویژه هنگامی‌که شرایط جوانه‌زنی بذرها نامطلوب بوده و موانعی برای جوانه‌زنی وجود داشته باشد مؤثر واقع شوند (Hutchison, 2002). سیتوکینین‌ها همچنین می‌توانند موجب تعادل سطح اکسین در بذر شده و از طرفی نیز با مهار فرایند اکسیداسیون، از افزایش شدید تنفس جلوگیری کرده و موجب عدم اخلال در فرایند جوانه‌زنی توسط ترکیبات بازدارنده و به دنبال آن بهبود در فرایند جوانه‌زنی شوند (Wang *et al.*, 2011).

در بذرهای دارای سطوحی از خفتگی مورفولوژیک ازجمله بذر گیاهان تیره چتریان جنین توسعه‌نیافته یکی از دلایل مهم عدم جوانه‌زنی بذرها می‌باشد (Rostami and Tavakol-Afshari., 2014). زرداری و همکاران (Zardari *et al.*, 2019) گزارش کردند قرارگیری در

شرایط استراتیفیکاسیون سرد موجب رفع خفتگی بذرهای باریجه می‌گردد؛ که نامبردگان دلیل این موضوع را رشد جنین در دمای پایین دانستند. همچنین ملک و همکاران (Malek *et al.*, 2022b) با بررسی روند رشد جنین بذرهای آنغوزه و باریجه یکی از مهم‌ترین عوامل القای توانایی جوانه‌زنی و رفع خفتگی بذرهای باریجه تحت تأثیر استراتیفیکاسیون سرد را رشد و توسعه‌ی جنین طی این فرایند اعلام کردند. ریزش‌های جوی در زمستان ارتباط مستقیمی با جمعیت گیاهان تیره چتریان ازجمله آنغوزه و باریجه در رویشگاه‌های طبیعی دارد. بنابراین رخ دادن شرایط استراتیفیکاسیون در طبیعت نیز یکی از نیازهای جوانه‌زنی بذرهای این‌گونه گیاهی می‌باشد که نشان‌دهنده‌ی نیاز فیزیولوژیک بذرها به سرمای دوره‌ای به‌منظور القای توانایی جوانه زدن می‌باشد (Sharifi *et al.*, 2017).



شکل ۸- تأثیر دمای آزمون جوانه‌زنی، بستر کشت بذرها و پیش‌تیمار بر محیط زیر منحنی (AUC) بذرهای آنغوزه.
TP ، BP و S به ترتیب مربوط به بسترهای کشت روی کاغذ، بین کاغذ و ماسه.

Figure 7- The effect of germination temperature, germination substrate, and pre-treatments on AUC of asafoetida seed germination.
TP, BP, and S are Top of Paper, Between Paper, and Sand substrate, respectively.

همان‌طور که نتایج نشان داد تیمارهای استفاده‌شده در این مطالعه توانستند کارایی بالایی در رفع خفتگی بذرهای آنغوزه داشته باشند. نتایج نشان داد مناسب‌ترین دما برای آزمون جوانه‌زنی بذرهای آنغوزه دمای ۱۰ درجه سلسیوس بود. همچنین ازآنجاکه آزمون جوانه‌زنی در دماهای پایین‌تر امری زمان‌بر بوده و مهم‌ترین فاکتورها برای ارائه‌ی روش‌های مناسب آزمون جوانه‌زنی استاندارد در بذرها سریع بودن و سادگی روش انجام آزمون می‌باشد، بنابراین با توجه به نیاز بذرهای آنغوزه به دمای پایین برای جوانه‌زنی می‌توان مناسب‌ترین دمای انجام آزمون جوانه‌زنی را دمای ۱۰ درجه سلسیوس معرفی کرد چراکه استفاده از دماهای پایین‌تر زمان انجام آزمون را گاهی تا دو برابر افزایش می‌دهد (طبق نتایج آزمون‌های اولیه). همچنین نتایج نشان داد بستر روی کاغذ (TP) موجب بهبود در فرایند اجرای آزمون و بهبود رفتار و کیفیت جوانه‌زنی در بذرهای آنغوزه شد؛ بنابراین این بستر را می‌توان به‌عنوان بهترین بستر کشت برای انجام آزمون جوانه‌زنی استاندارد در بذرهای آنغوزه در نظر گرفت. تیمارهای سرمادهی و استفاده از فیتوهورمون‌های گیاهی مؤثرترین روش رفع خفتگی بذرهای آنغوزه بود. در خصوص پیش‌تیمار موردنیاز بذرها برای انجام آزمون جوانه‌زنی استاندارد، ازآنجاکه بذرهای آنغوزه نیازمند دوره‌های تقریباً طولانی سرمادهی برای رفع خفتگی و کسب توانایی جوانه‌زنی دارند، این امر می‌تواند سهولت

انجام آزمایش‌های جوانه‌زنی را با مشکل مواجه سازد. لذا استفاده از کینیتین (۲۵۰ قسمت در میلیون) به‌منظور پیش‌تیمار می‌تواند به‌عنوان پیشنهاد در استانداردسازی آزمون جوانه‌زنی بذرهای این گونه مناسب باشد. هرچند که نتایج این مطالعه به‌تنهایی نمی‌تواند تعیین‌کننده‌ی مناسب‌ترین روش آزمون جوانه‌زنی استاندارد در بذرهای آنغوزه باشد، اما با توجه به بررسی عوامل مرتبط با جوانه‌زنی و رفع خفتگی بذرها از جنبه‌های مختلف و نتیجه‌گیری‌های چندوجهی می‌توان نتایج این مطالعه را اطلاعات کلیدی در این خصوص برشمرد و از آن‌ها به‌منظور تعیین استانداردهای آزمون جوانه‌زنی بذرهای آنغوزه بهره برد.

منابع

Reference

Aihua, L., J. Shunyuan, Y. Guang, L. Ying, G. Na, C. Tong, K. Liping, and H. Luqi. 2018. Molecular mechanism of seed dormancy release induced by *fluridone compared* with cold stratification in Notopterygium incisum. BMC Plant Biol. 18: 1-16.

Alizadeh, M.A., A.A. Hosienpoor Ghazvini, A. Jafari, and J. Daneshian. 2017. Effect of different treatment on removing seed dormancy to induction of seed emergence and vigour in some populations of four species of savory (*Satureja* spp.). Iranian J. Seed Sci. Technol. 5: 223-233. (In Persian, with English Abstract)

Amouaghaei, R. 2007. The effect of GA3 and moist-chilling on seed dormancy breaking of (*Ferula ovina* Boiss). Hydrol. Soil Sci. 40: 471-481.

Baskin, J.M., and C.C. Baskin. 1990. Germination ecophysiology of seeds of the winter annual Chaerophyllum tainturieri: a new type of morphophysiological dormancy. J. Ecol. 78:993-1004.

Baskin, J.M., and C.C. Baskin. 2004. A classification system for seed dormancy. Seed Sci. Res. 14: 1-16.

Bewley, J.D., and M. Black. 2012. Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination: volume 2: viability, dormancy, and environmental control. Springer, Berlin, Germany.

Bewley, J.D., K. Bradford, H. Hilhorst, and H. Nonogaki. 2013. Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy. Springer, Berlin, Germany.

Chen, S.Y., S.H. Chou, C.C. Tsai, W.Y. Hsu, C.C. Baskin, J.M. Baskin, and L.L. Kuo-Huang. 2015. Effects of moist cold stratification on germination, plant growth regulators, metabolites and embryo ultrastructure in seeds of *Acer morrisonense* (Sapindaceae). Plant Physiol. Biochem. 94: 165-173.

Darvish, H., M. Zahedi, B. Abbaszadeh, and A. Romania. 2016. The importance of cultivation and production of medicinal plants in the economy and industry of the country with a case study of (*E. purpurea* L). The 1st Natl. Conf. Aromat. Plants and Spices, Gonbad Kavous University, Golestan. 1 May. 2016. (In Persian)

Finch-Savage, W.E., and G. Leubner-Metzger. 2006. Seed dormancy and the control of germination. New Phytol. 171: 501-523.

Geshnizjani, N., F. Ghaderi-Far, L.A. Willems, H.W. Hilhorst, and W. Ligterink. 2018. Characterization of and genetic variation for tomato seed thermo-inhibition and thermo-dormancy. BMC Plant Biol. 18: 1-12.

Ghaderi-Far, F., and A. Soltani. 2014. Seed testing and control. Publications University of Mashhad, Mashhad, Iran. (In Persian)

Ghavam, M., Z. Soleimani Nejad. and A. Tavili. 2018. Dormancy breaking of (*Ducrosia anethifolia* Boiss) seed under the influence of different treatments. New Cell. Mol. Biotech. J. 8: 35-44.

Hassani, S.B., A. Saboora, T. Radjabian, and H. Fallah Husseini. 2009. Effects of temperature, GA3 andCytokinins on breaking seed dormancy of *Ferula assa-foetida* L. Iranian J. Sci. Technol. 33: 75-85. (In Persian, with English Abstract)

Hutchison, C.E., and J.J. Kieber. 2002. Cytokinin signaling in Arabidopsis. Plant Cell. 14: 47-59.

ISTA, 2022. International Rules for Seed Testing. ISTA, Zurich, Switzerland.

Joosen, R.V., J. Kodde, L.A. Willems, W. Ligterink, L.H. van der Plas, and H.W. Hilhorst. 2010. GERMINATOR: a software package for high-throughput scoring and curve fitting of Arabidopsis seed germination. Plant J. 62: 148-159.

Keshtkar, H.R., H. Azarnivand, and H. Atashi. 2009. Effect of prechilling and GA3 on seed germination of *Ferula assa-foetida* and *Prangos ferulacea*. Seed Sci. Technol. 37: 464-468.

Keshtkar, H.R., H. Azarnivand, V. Etemad, and S.S. Moosavi. 2008. Seed dormancy-breaking and germination requirements of *Ferula ovina* and *Ferula gummosa*. Desert. 13: 45-51.

Khan, A.A. 1994. Induction of dormancy in non-dormant seeds. J. Am. Soc. Hortic. Sci. 119: 408-413.

Khosravi-Pour, B., A. Siahpoosh, Z. Mohammadi- Karbalaei. 2015. The importance of cultivating medicinal plants and producing their products in agriculture. 1st Natl. Conf. Herbs Herbal Med. Tehran, 28 May. 2015.

Kumar, A., R. Kumar, S. Singh, S. Sharma, S. Singh, and S. Kumar. 2020. Evaluation of *Ferula Assa-Foetida* Accessions for Germination Parameters under Cold Stratification to Overcome Seed Dormancy and Effect of Media Mixtures on Seedling Growth. Res. Square. Doi:10.21203/rs.3.rs-112608/v1.

Labbafi, M.R., A. Mehrafarin, H. Naghdi Badi, M. Ghorbani, and M. Tavakoli. 2018. Investigating the effect of various chemical and non-chemical treatments break dormancy galbanum seeds *Ferula gummosa* Boiss. Eco-phytochem. J. Med. Plants. 6: 80-88.

Malek, M., F. Ghaderi-Far, B. Torabi, H.R. Sadeghipour. 2022. Dynamics of seed dormancy and germination at high temperature stress is affected by priming and phytohormones in rapeseed (*Brassica napus* L.). J. Plant Physiol. 269: 153614.

Malek, M., F. Hassani, E. Rezvani Khorshidi, A. Shayanfar, B. Oskoee, and A. Dehshiri. 2022a. Dormancy and Germination Response of Galbanum Seeds under Different Hormonal Pre-treatments and Cold Stratification. Iranian J. seed Res. **Unpublished**

Malek, M., F. Hassani, E. Rezvani Khorshidi, A. Shayanfar, B. Oskoee, and A. Dehshiri. 2022b. Investigation of method for dormancy braking and improve seed quality of priorities medicinal plants (*Ferula assa-feotida* and *Ferula gummosa)*. Seed and Plant Certification and Registration Institute. Research Project of Elite Subjects. (In Persian)

Martin, K.P. 2004. Plant regeneration through somatic embryogenesis in medicinally important centella asiatica L. In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant. 40: 586-591.

Mozaffarian, V. 2004. Dictionary of Iarnian Plant Names. Farhang moaser, Tehran, Iran.

Mozaffarian, V. 2007. Flora of Iran, No.: 45 Umbelliferae. Forests and Rangelands Research Institute, Tehran, Iran.

Novak, J., C. Wawrosch, C. Schmiderer, C.M. Franz, and B. Kopp. 2011. Germination responses of *Peucedanum ostruthium* (Apiaceae) to genotype, light, temperature and gibberellic acid. Seed Sci. Technol. 39: 552-558.

Nowruzian, A., M. Masoumian, M.A. Ebrahimi, Gh.R. Bakhshi khaniki. 2017. Effect of Breaking Dormancy Treatments on Germination of *Ferula assafoetida* L. Seed. Iranian J. Seed Res. 2: 155-169. (In Persian)

Otroshy, M., A. Zamani, M. Khodambashi, M. Ebrahimi, and P.C. Struik. 2010. Effect of exogenous hormones and chilling on dormancy breaking of seeds of asafoetida (*Ferula assafoetida* L.). Res. J. Seed Sci. 3: 242-248.

Pirmoradi, M. R., R. Omidbaigi, M. Naghavi, A. Amin Baghizadeh, and A. Yadalahi. 2012. Effect of height and different treatments on seed germination of bitter asafoetida (*Ferula assa-foetida* L.). Iranian J. Hortic. Sci. 43:461-471. (In Persian)

Pouresmaeil, M., and M. Sharifi. 2003. Dormancy-Breaking in Bunium Persicum seeds by stratification and some cytokinines. Iranian J. Med. Aromat. Plants Res. 19: 183-193. (In Persian)

Raisi, A., S.N. Kalat, and A.S. Darban. 2013. The study effects of stratification, temperature and potassium nitrate on seed dormancy breaking *Ferula assa foetida*. World Appl. Sci. J. 23:379-383.

Rajabian, T., A. Saboora, B. Hassani, H. Fallah Hosseini. 2007. Effects of GA3 and chilling on seed germination of *Ferula assa-foetida*, as a medicinal plant. Iranian J. Med. Aromat. Plants Res. 3: 391-404. (In Persian)

Rostami, M., and R. Tavakol Afshari. 2014. Classification and breaking methods of galbanum (*Ferula gummosa* BIOSS) seeddormancy. Iranian J. Field Crop Sci. 2: 255-263. (In Persian)

Salimi, H., and M. Gorbanli. 2001. Investigation Oat seed germination in different conditions and effect of some operative factors on seed dormancy breaking. Rostaniha. 2: 41-55. (In Persian)

SAS Institute. 1994. The SAS system for Windows. Release 6.10. SAS Inst., Cary, NC. USA

Sharifi, H., A. Nemati, and M. Gardakaneh. 2017. Breaking seed dormancy and improve germination of four medicinal species of apiaceae by gibberellic acid and prechilling treatments. Iranian J. Seed Sci. Res. 4: 27-38. (In Persian, with English Abstract)

Sharifi, H., M. Khajeh-Hosseini, and M.H. Rashed-Mohassel. 2015. Study of seed dormancy in seven medicinal species from apiaceae. Iranian J. Seed Res. 2: 25-36. (In Persian, with English Abstract)

Stawomir, B., and H. Roman. 2008. Effect of different ways of priming tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seed on the air quality. Pol. J. Nat. Sci. 23: 729-739.

Tabrizi, L., M. Nasiri Mahallati and A. Kochaki. 2004. Investigation on the cardinal temperature for germination of *Plantago ovata* and *Plantago psyllium*. Iranian J. Field Crops Res. 2: 143-151. (In Persian)

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

Wang, Y., Li, L., Ye, T., Zhao, S., Liu, Z., Feng, Y. Q., and Wu, Y. 2011. Cytokinin antagonizes ABA suppression to seed germination of Arabidopsis by downregulating ABI5 expression. Plant J. 68: 249-261.

Zardari, S., F. Ghaderi-Far, H.R. Sadeghipour, E. Zeinali, E. Soltani, and C.C. Baskin. 2019. Deep and intermediate complex morphophysiological dormancy in seeds of *Ferula gummosa* (Apiaceae). Plant Species Biol. 34: 85-94.

Zare, A.R., M. Solouki, M. Omidi, N. Irvani, A.O. Abasabadi, N.M. Nezad. 2011. Effect of various treatments on seed germination and dormancy breaking in *Ferula assa foetida* L. (Asafetida), a threatened medicinal herb. Trakia J. Sci. 9: 57-61.

Zargari, A. 1997. Medicinal Plants. Tehran University Publication, Tehran, Iran. (In Persian)