علوم و تحقیقات بذر ایران
سال هشتم/ شماره دوم/ ۱۴۰۰ (۱۷۵ - ۱۶۱)
مقاله پژوهشی
DOI: 10.22124/jms.2021.5224

بررسی روش‌های شکست خواب بذر بابا آدم (*Arctium lappa*)

روزبه فرهودی[1*]، عادل مدحج[2]، محمد معتمدی[3]

تاریخ دریافت: ۹۸/۶/۷ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۱/۱۴

چکیده

گیاه بابا آدم (*Arctium lappa*) گیاه دارویی ارزشمندی است که دارای مشکل خواب بذر است. این پژوهش به‌منظور بررسی تاثیر تیمارهای شکست خواب بذر گیاه بابا آدم بر تحریک جوانه‌زنی این گیاه در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر در سال ۱۳۹۵ انجام شد. تیمارهای شکست خواب بذر در قالب طرح کاملا تصادفی با پنج تکرار انجام شد. بیش‌ترین درصد جوانه-زنی در تیمارهای اسید جیبرلیک (۵۰۰ پی‌پی‌ام) + خراش‌دهی با اسید سولفوریک ۷۵ درصد (۸۶ درصد)، اسید جیبرلیک (۵۰۰ پی‌پی‌ام) + خراش‌دهی با آب داغ ۷۰ درجه سلسیوس (۸۷ درصد) و اسید جیبرلیک (۵۰۰ پی‌پی‌ام) + خراش‌دهی با آب داغ ۹۰ درجه سلسیوس (۸۴ درصد) مشاهده شد. خراش‌دهی بذر با آب داغ در مقایسه با اسید سولفوریک بهتر بود زیرا استفاده از اسید سولفوریک سبب افزایش گیاهچه‌های غیر نرمال شد. بیش‌ترین میزان گیاهچه‌های غیر نرمال در بذرهای تیمار شده با اسید سولفوریک ۷۵ درصد، اسید جیبرلیک (۵۰۰ پی‌پی‌ام) + خراش‌دهی با اسید سولفوریک ۷۵ درصد و نیترات پتاسیم (یک درصد) + خراش‌دهی با اسید سولفوریک ۷۵ درصد مشاهده شد (به‌ترتیب ۱۱/۷، ۱۱/۳ و ۱۰/۹ درصد). تیمار بذرها با نیترات پتاسیم و اسید جیبرلیک سبب افزایش فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز و غلظت اکسین گیاهچه بابا آدم شد درحالی‌که سبب کاهش غلظت آبسزیک اسید گیاهچه شد. بیش‌ترین شاخص ویگور در تیمار اسید جیبرلیک (۵۰۰ پی‌پی‌ام) + خراش-دهی با آب داغ ۷۰ درجه سلسیوس مشاهده شد. به‌طورکلی نتایج نشان داد تیمار خراش‌دهی بذر بابا آدم با آب داغ ۷۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۱۰ دقیقه و به‌دنبال آن خیساندن بذر در محلول ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک به‌مدت ۱۲ ساعت بهترین تیمار برای بهبود جوانه‌زنی و تحریک رشد گیاهچه بابا آدم می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آب داغ، آلفاآمیلاز، اسید جیبرلیک، اسید سولفوریک، درصد جوانه‌زنی

۱- عضو هیات علمی گروه زراعت و اصلاح نباتات و مرکز تحقیقات گیاهان گرمسیری و نیمه‌گرمسیری، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران. rfarhoudi@gmail.com
۲- عضو هیات علمی گروه زراعت و اصلاح نباتات و مرکز تحقیقات گیاهان گرمسیری و نیمه‌گرمسیری، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران. adelmodhej2006@yahoo.com
۳- عضو هیات علمی گروه زراعت و اصلاح نباتات و مرکز تحقیقات گیاهان گرمسیری و نیمه‌گرمسیری، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران. motamedi555@gmail.com
*نویسنده مسئول: rfarhoudi@gmail.com

مقدمه

بابا آدم با نام علمی *Arctium lappa* گیاهی است متعلق به خانواده کاسنی که در مناطقی از ایران به‌صورت خودرو می‌روید. این گیاه در تصفیه خون، پاک‌سازی سیستم لنفاوی، درمان نقرس و بیماری‌های عفونی کاربرد دارد (Zargari, 1995). یکی از مشکلات عمده جهت تکثیر گیاه بابا آدم خواب بذر آن است که تکثیر این گیاه ارزشمند را با مشکل مواجه نموده است (Bhardwaj *et al*., 2010). خواب بذر یک عامل اصلی بازدارنده تکثیر بسیاری از گیاهان دارویی در مزرعه است زیرا خواب بذر یک مکانیسم کلیدی برای بقای بذراین گیاهان وحشی در طبیعت است و به‌همین دلیل جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه این گیاهان در مزارع به کندی انجام می‌شود. خواب بذر علل متعددی دارد که می‌توان به نارس‌بودن جنین، پوسته ضخیم بذرکه مانع جذب آب و اکسیژن شده و یا از خروج گیاهچه ممانعت می‌کند، وجود مواد بازدارنده در پوسته بذر و یا ترکیبی از این عوامل باشد (Finkelstein *et.al*, 2008). با توجه به علل ایجادکننده خواب بذر می‌توان روش‌های آزمایشگاهی مختلفی نظیر خراش‌دهی پوسته بذر با اسید، ایجاد دوره تناوب نوری، سرمادهی بذر و استفاده از ترکیبات شیمیایی نظیر نیترات پتاسیم و یا تنظیم‌کنندگان رشد مانند اسید جیبرلیک را استفاده نمود.

بررسی سطوح غلظت تنظیم‌کنندگان رشد در تحریک جوانه‌زنی بذور دارای خواب مورد توجه است و استفاده از ترکیباتی نظیر اسید جیبرلیک، اکسین و سیتوکنین به صورت منبع خارجی و در غلظت مناسب در رفع مشکل خواب بذر در بسیاری از موارد گزارش شده است (Patil, *et al*., 2012; Darveshi zidabadi *et al*., 2015; Sumlu *et al*., 2010). بذر گیاه بابا آدم دارای خواب است و خیساندن بذر در محلول اسید جیبرلیک پس از خراش‌دهی پوسته بذر با اسید سولفوریک موجب تحریک شدید جوانه‌زنی بذر بابا آدم شد (Bhardwaj *et al*., 2010). موثربودن کاربرد اسید جیبرلیک در تحریک جوانه‌زنی بذر بسیاری از گیاهان دارای خواب بذر به اثبات رسیده است و برای آن دلایل مختلفی نظیر جایگزینی نیاز سرمایی، تحریک آنزیم‌های موثر در جوانه‌زنی و رسیدگی جنین گزارش شده است (Sharefi *et al*., 2015; El-Keshtkar *et al*., 2009; Sharifi *et al*., 2017; Dengawy, 2005).

خراش‌دهی پوسته بذر در بذوری که ضخامت پوسته مانع از جذب آب و اکسیژن و یا ممانعت از خروج گیاهچه می‌شوند روشی مرسوم و کارآمد است و به این منظور از غلظت‌های مختلف اسید، آب داغ، سمباده و ماسه استفاده می‌گردد. این تیمارهای فیزیکی با ایجاد رخنه در پوسته بذر تبادلات رطوبتی و گازی بذر با فضای اطراف خود را تسهیل نموده و موجب کاهش مقاومت پوسته بذر جهت خروج از بذر می‌شوند (Dewir *et al*., 2011). مدت زمان تماس بذر با اسید و آب داغ مهم است زیرا این ترکیبات ممکن است ضمن ایجاد رخنه در پوسته بذر به جنین صدمه زده و موجب ایجاد جوانه‌های غیرنرمال و حتی کاهش درصد جوانه‌زنی گردد (Abbasi *et al*., 2014). مطالعه شکست خواب بذر بابا آدم نشان داد که استفاده از تیمار اسید سولفوریک غلیظ یا آب داغ به‌مدت زیاد موجب افزایش تعداد گیاهچه‌های غیر نرمال شد. در یک تحقیق بهترین تیمار جهت غلبه بر خواب بذر بابا آدم استفاده از نیترات پتاسیم و خراش‌دهی پوسته بذر با آب داغ ۷۰ درجه سلسیوس بود (Nabaee *et al*., 2013). خیساندن بذر بابا آدم در محلول اسید جیبرلیک ۵۰۰ پی‌پی‌ام پس از خراش‌دهی بذر با اسید سولفوریک مناسب‌ترین تیمار جهت شکست خواب بذر بابا آدم معرفی شد (Bhardwaj *et al*., 2010). استفاده از ترکیبات دارای نیتروژن مانند نیترات پتاسیم نیز یک روش شناخته‌شده و مرسوم جهت شکست خواب بذر و تحریک جوانه‌زنی بذر است. نیترات پتاسیم با تاثیرگذاری بر فیتوکروم‌ها بر روابط نوری درون بذر و شکست خواب بذر گیاهان موثرند (Giba *et al*., 1998).

اهمیت زراعت گیاهان دارویی در مزارع به‌منظور پرهیز از تخریب منابع طبیعی از یک سو و مشکل جوانه‌زنی بذر بابا آدم در مزرعه که ناشی از خواب بذر این گیاه است موجب شد تا روش‌های احتمالی موثر بر شکست خواب بذر بابا آدم در این پژوهش بررسی شود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۳۹۵ در آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر به‌منظور بررسی روش

های غلبه بر خواب بذر گیاه بابا آدم (*Arctium lappa*) انجام شد. بذر بابا آدم در ابتدای خرداد ماه ۱۳۹۵ از مزرعه گیاهان دارویی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر برداشت شد و تا زمان انجام آزمایش در ظرف شیشه‌ای در دمای اتاق و به دور از نور نگهداری شد. قبل از شروع آزمایش، یک تست جوانه‌زنی اولیه به‌منظور بررسی وجود خواب بذر انجام شد و حدود ۱۱ درصد بذرها در یک دوره آزمایش سی روزه جوانه زدند که بیانگر خواب توده بذری بود. در ادامه ۱۰ گرم بذر خشک جدا و وزن شده و سپس در آب مقطر خیسانده شدند. از ۸ صبح تا ۸ شب هر دو ساعت بذرها وزن شدند (به‌مدت ۱۲ ساعت) و در پایان ۱۲ ساعت وزن توده بذرها نسبت به وزن خشک اولیه حدود ۱۶ درصد افزایش یافت. سپس بذرها به محیط جوانه‌زنی منتقل شده و به‌مدت ۶ روز هر ۱۲ ساعت یک‌بار این نمونه‌ها توزین شدند و بذرها نسبت به روز اول، طی یک هفته حدود یک درصد افزایش وزن داشتند لذا خواب فیزیک این بذرها تایید شد (Park, 2017).

به‌منظور آغاز آزمایش، بذرهای یکسان و هم اندازه جدا شده و با محلول هیپوکلریت سدیم پنج درصد به‌مدت دو دقیقه ضدعفونی و پس از آن سه بار با آب مقطر شسته شدند. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی در پنج تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی به شرح جدول ۱ بود. قبل از شروع آزمایش، پتری‌دیش‌ها، پنس و سایر وسایل آزمایشگاهی در دستگاه اتوکلاو در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس ضدعفونی شدند. میز کار نیز با الکل اتانول ۷۰ درصد ضدعفونی شد. برای تامین اسید سولفوریک و نیترات پتاسیم از محصولات شرکت مرک و اسید جیبرلیک نیز از شرکت سیگما استفاده شد. محیط آزمایش پتری‌دیش‌های شیشه‌ای به قطر ۹ سانتی‌متر بود. در هر پتری‌دیش ۲۵ عدد بذر بابا آدم ضدعفونی‌شده تیمارشده روی یک لایه کاغذ صافی قرار گرفت و بذرها به دستگاه جوانه‌زنی با شرایط دمای ۲۲ درجه سلسیوس، ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی منتقل شد. جزییات نحوه تیمار بذر در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱- تیمارهای آزمایشی شکست خواب بذر بابا آدم

Table1- *Arctium lappa* seed dormancy breaking treatments

Control	GA_3+ H_2SO_4 50%
شاهد	خیساندن در محلول ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک + اسید سولفوریک ۵۰ درصد
Socking in water (12 h)	GA_3+ H_2SO_4 75%
خیساندن در آب	خیساندن در محلول ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک + اسید سولفوریک ۷۵ درصد
Socking in KNO_3 1% solution (12 h)	GA_3+ hot water 70 ^{0}C
خیساندن در محلول نیترات پتاسیم یک درصد	خیساندن در محلول ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک + آب داغ ۷۰ درجه سلسیوس
Socking in GA_3 solution (500 ppm, 12 h)	GA_3+ hot water 90 ^{0}C
خیساندن در محلول ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک	خیساندن در محلول ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک + آب داغ ۹۰ درجه سلسیوس
H_2SO_4 50% (3min)	KNO_3 + H_2SO_4 50%
اسید سولفوریک ۵۰ درصد	خیساندن در محلول نیترات پتاسیم یک درصد + اسید سولفوریک ۵۰ درصد
H_2SO_4 75% (3min)	KNO_3 + H_2SO_4 75%
اسید سولفوریک ۷۵ درصد	خیساندن در محلول نیترات پتاسیم یک درصد + اسید سولفوریک ۷۵ درصد
Hot water 70 ^{0}C (10min)	KNO_3 + hot water 70^{0}C
آب داغ ۷۰ درجه سلسیوس	خیساندن در محلول نیترات پتاسیم یک درصد + آب داغ ۷۰ درجه سلسیوس
Hot water 90 ^{0}C (10 min)	KNO_3 + hot water 90^{0}C
آب داغ ۹۰ درجه سلسیوس	خیساندن در محلول نیترات پتاسیم یک درصد + آب داغ ۹۰ درجه سلسیوس

به هر پتری‌دیش ۷ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و در صورت لزوم آب مقطر در طی آزمایش اضافه می‌شد. شمارش روزانه بذرها هر روز در راس ساعت مقرر انجام می‌شد. نخستین شمارش جوانه‌زنی در چهارمین روز و آخرین شمارش ۳۴ روز پس از اعمال تیمارها انجام گرفت. پایان آزمایش هنگامی بود که روند جوانه‌زنی در پتری‌دیش‌ها متوقف شده و جوانه‌زنی جدیدی در سه روز متوالی ثبت نشد. بذرهایی که ریشه‌چه آن‌ها قابل رؤیت بود یعنی طولی حدود دو تا سه میلی‌متر داشت، به‌عنوان بذر جوانه‌زده ثبت شد. در پایان صفات درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه، زمان ۵۰ درصد جوانه‌زنی، وزن خشک گیاهچه، شاخص بنیه بذر و درصد گیاهچه‌های غیر نرمال بررسی شد. گیاهچه غیر نرمال گیاهچه‌ای بود که علایم نکروزه، پیچ خوردگی و

رشد غیر معمول نظیر ریشه‌چه و ساقه‌چه خیلی باریک و مویی را داشت.

طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه به کمک خط‌کش و بر اساس واحد میلی‌متر اندازه‌گیری شد. به این منظور خمیدگی گیاهچه باز شده و طول ریشه‌چه و طول ساقه-چه از انتها تا محل اتصال به بذر اندازه‌گیری شد. وزن خشک گیاهچه با ترازوی دقیق (دقت ۰/۰۰۰۱) بررسی شد. به این منظور ریشه‌چه و ساقه‌چه از بذر جدا شد و در یک پاکت کاغذی کوچک به آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۴۸ ساعت منتقل شد. درصد جوانه‌زنی بر اساس رابطه زیر بررسی شد (Scott *et al*., 1984).

$GP= n/N\times100$ (رابطه ۱)

سرعت جوانه زنی بر اساس رابطه زیر سنجیده شد (Kulkarni *et. al*., 2007).

$GR = \sum(n_1/t_1 + ni/ti)$ (رابطه ۲)

در این روابط N: کل بذرهای کاشته شده، n: کل بذرهای جوانه‌زده، ni: تعداد بذرهای جوانه زده در یک دوره مشخص (در این آزمایش هر روز) و ti : روز شمارش بذر است. شاخص بنیه بذر (رابطه ۳) بر اساس رابطه زیر محاسبه شد (Elouaer and Hannachi, 2012).

$SVI= GP\times SL$ (رابطه ۳)

در این روابط GP درصد جوانه‌زنی و SL طول گیاهچه بود.

فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز

جهت بررسی فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز، پنج روز پس از آغاز آزمایش، از ۰/۲ گرم بافت بذر استفاده شد. در ابتدا پنج میلی‌لیتر محلول ۶۰ میلی‌مولار بافر فسفات (pH= 6.8) به بافت گیاهی اضافه و سپس به‌مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانترفیوژ شد. جهت اندازه‌گیری آنزیم آلفاآمیلاز ابتدا ۰/۵ میلی‌لیتر محلول نشاسته به داخل لوله آزمایش منتقل شد، سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره تهیه‌شده به آن اضافه و بعد از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در ۳۷ درجه سلسیوس به‌وسیله یک میلی‌لیتر اسید هیدروکلریدریک ۰/۱ نرمال واکنش را متوقف کرده و در ادامه یک میلی‌لیتر از معرف ید به آن اضافه شد. پس از آن حجم محتوی لوله را با آب مقطر به حدود ۱۰ میلی-لیتر رسانده و میزان جذب رنگ را با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل (DR 6000) در طول موج ۶۲۰ نانومتر خوانده و با نمونه شاهد مقایسه شد (Kato-Noguchi and Macias, 2008).

غلظت درونی هورمون اکسین و اسید جیبرلیک

برای بررسی غلظت درونی هورمون‌های گیاهی نیم گرم بافت گیاهچه با اضافه‌کردن ۲۰ میلی‌لیتر متانول در هاون چینی له گردید. نمونه‌های له‌شده در تاریکی و دمای۴ درجه سلسیوس به‌مدت ۱۶ ساعت نگهداری شد تا عمل انحلال هورمون‌ها به‌خوبی صورت گرفت. نمونه‌های خردشده را توسط کاغذ صافی واتمن شماره یک فیلتر نموده و بافت‌های باقیمانده بر روی فیلتر سه بار توسط متانول شستشو داده شد. متانول اضافی توسط دستگاه Freeze Dryer در دمای ۳۵ درجه سلسیوس زیر صفر تبخیر شده و سپس با اضافه‌کردن پتاس ۰/۲ نرمال، اسیدیته محلول به ۸/۵ رسانیده شد. به محلول به‌دست-آمده به میزان برابر اتیل استات اضافه شد تا بخشی از ناخالصی‌ها در آن حل شود. در این مرحله محلول دو فازی گردید. فاز بالایی دور ریخته شده و pH فاز پایینی توسط اسید هیدروکلریک ۰/۲ نرمال به حدود ۲/۵ رسانده شد. نمونه را از فیلتر پلیتترافلوئورواتیلن ۰/۴۵ عبور داده و سپس به ستون دستگاه HPLC مدل (KNAUER) تزریق گردید. .اجزای محلول به‌دست آمده توسط دستگاه HPLC با ستون C18، شدت جریان ml/min ۷/۰ و حلال اسید استیک ۰/۲ درصد و متانول ۱۰۰ درصد به نسبت ۵۰ :۵۰ در دمای ۴۰ درجه سلسیوس جدا گردیدند (Kamal, 2011).

برای داده‌های درصد جوانه زنی از تبدیل داده‌های Arcsin استفاده شد. محاسبات آماری داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار آماری MSTATC انجام شد و برای مقایسهٔ میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج جدول ۲ نشان داد کلیه صفات مورد بررسی تحت تاثیر تیمارهای آزمایش قرار گرفت و اثر تیمارها بر روی صفات مورد بررسی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود.

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تاثیر تیمارهای شکست خواب بذر بر جوانه‌زنی و خصوصیات گیاهچه باباآدم

Table 1. Analysis of variance of the effect of *Arctium lappa* seed dormancy breaking treatment on germination and seedling characteristics

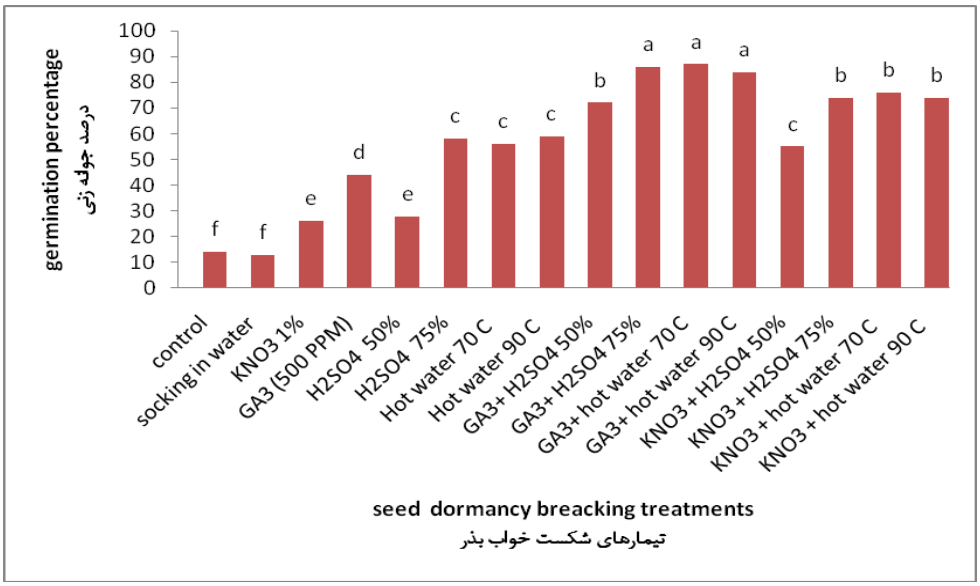
منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	طول ریشه چه Root lenght	فعالیت الفا آمیلاز α-amylase activity	غلظت آبسزیک اسید ABA concentration	غلظت اکسین IAA concentration	طول ساقه چه Shoot lenght	سرعت جوانه زنی germination speed	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight	زمان لازم برای ۵۰ درصد جوانه زنی E 50	شاخص ویگور Vigor index	درصد گیاهچه های غیر نرمال Abnormal seedling
تیمار بذر Seed treatment	15	2151.0**	12.1**	3.45**	1911.0**	2008.8**	8.4**	2.96**	0.056**	649.4**	7.41**	318.0**
خطای آزمایش Error	64	10.8	1.48	0.19	25.1	41.1	0.93	0.068	0.0001	2.11	0.04	1.25

** :معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد آماری

**Significant at the 0.01 probability levels,

درصد جوانه‌زنی، فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز و درصد گیاهچه‌های غیر نرمال

بررسی نتایج آزمایش نشان داد در شرایط شاهد میزان جوانه‌زنی بذر بابا آدم ۱۵ درصد بود و این در حالی است که تفاوت معنی‌داری میان درصد جوانه‌زنی بذر بابا آدم تحت تاثیر تیمارهای آزمایش وجود داشت. بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی تحت تاثیر تیمار کاربرد اسید جیبرلیک + آب داغ ۷۰ درجه سلسیوس (۸۷ درصد)، کاربرد اسید جیبرلیک + اسید سولفوریک ۷۵ درصد (۸۶ درصد) و کاربرد اسید جیبرلیک + آب داغ ۹۰ درجه سلسیوس (۸۴ درصد) مشاهده شد (شکل ۱). این نتایج نشان می‌دهد که خواب بذر بابا آدم تحت تاثیر عوامل فیزیولوژیک و فیزیکی است زیرا کاربرد اسید جیبرلیک، اسید سولفوریک ۵۰ درصد، اسید سولفوریک ۷۵ درصد، آب داغ ۷۰ درجه سلسیوس و آب داغ ۹۰ درجه سلسیوس هر یک به‌تنهایی جوانه‌زنی بذر را به‌ترتیب به ۴۴ درصد، ۲۸ درصد، ۵۸ درصد، ۵۶ درصد و ۵۹ درصد افزایش داد. ممکن است خواب بذر بابا آدم بیش‌تر ناشی از عوامل فیزیکی باشد زیرا میزان افزایش درصد جوانه‌زنی تحت تاثیر تیمارهای خراش‌دهی بذر بیش از تیمار کاربرد اسید جیبرلیک یا نیترات پتاسیم به تنهایی بود (شکل۱). پس از تیمارهای ترکیبی اسید جیبرلیک و خراش‌دهی پوسته بذر، بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی تحت تاثیر کاربرد نیترات پتاسیم + اسید سولفوریک ۷۰ درصد (۷۴ درصد)، کاربرد نیترات پتاسیم + آب داغ ۷۰ درجه سلسیوس (۷۶ درصد) و کاربرد نیترات پتاسیم+ آب داغ ۹۰ درجه سلسیوس (۷۴ درصد) مشاهده شد. یک بررسی نشان داد بذر بابا آدم دارای خواب است و ترکیب اسید جیبرلیک (۵۰۰ پی‌پی-ام) وخراش‌دهی اسید سولفوریک (۵۰ درصد به‌مدت سه دقیقه) بهترین تیمار برای شکست خواب بذر این گیاه است. همچنین کاربرد غلظت‌های بالاتر اسید سولفوریک نظیر غلظت ۱۰۰ درصد سبب افزایش گیاهچه‌های غیر نرمال شد (Bhardwaj *et al*., 2010). نبئی و همکاران گزارش نمودند بهترین ترکیب برای شکست خواب بذر بابا آدم کاربرد توام نیترات پتاسیم و خراش‌دهی بذر با آب داغ است (Nabaee *et al*., 2013). نتایج نشان داد فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز بذر بابا آدم تحت تاثیر تیمارهای آزمایش قرار گرفت و بیش‌ترین فعالیت این آنزیم در بذرهای تیمار شده با اسید جیبرلیک به‌صورت تنها یا خراش‌دهی با اسید سولفوریک و آب داغ مشاهده شد. پس از بذرهایی که با اسید جیبرلیک تیمار شده بودند، بیش‌ترین فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز در بذرهای تیمارشده با نیترات پتاسیم مشاهده شد (جدول ۳). این نتایج بیانگر تاثیر مثبت اسید جیبرلیک و نیترات پتاسیم بر فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز و تحریک جوانه‌زنی بذر بابا آدم است. اسید جیبرلیک یک تنظیم‌کننده رشد کلیدی در فرآیند جوانه‌زنی است.



شکل ۱- تاثیر تیمارهای شکست خواب بذر بر درصد جوانه‌زنی بذر بابا آدم

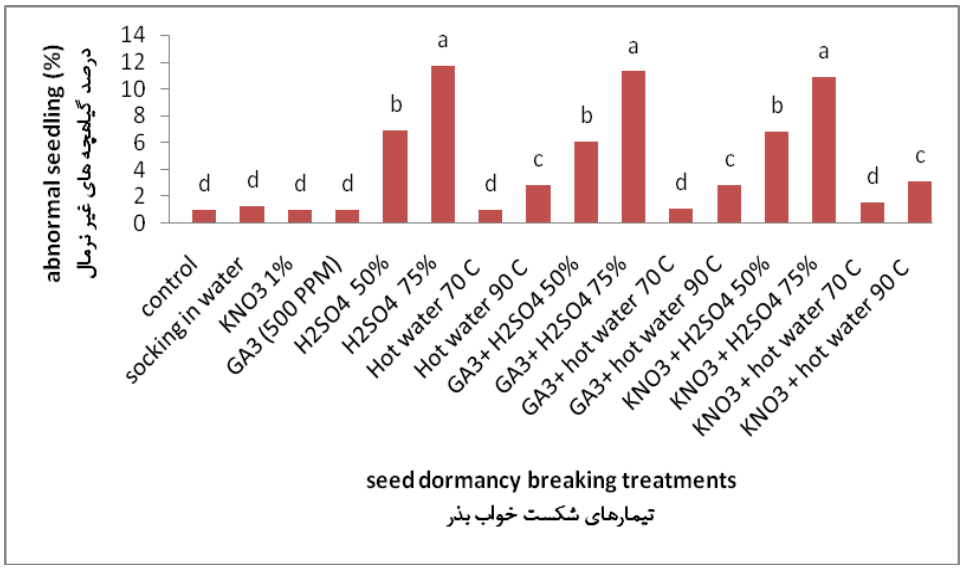
Figure 1. Effect of seed dormancy breaking treatments on *Arctium lappa* seed germination percentage

غلظت این تنظیم‌کننده رشد در تعادل با اسید آبسزیک که بازدارنده رشد است در ایجاد خواب بذر در گیاهان نقش اساسی دارد و کاربرد منبع خارجی اسید جیبرلیک به‌همین دلیل می‌تواند تحریک کننده جوانه‌زنی بذر باشد (Chen *et al*., 2008). همچنین اسید جیبرلیک با تاثیر مثبت بر نفوذپذیری غشا سلولی و فعال نمودن آنزیم آلفاآمیلاز و سایر آنزیم‌های هیدرولیک سبب تحریک جوانه‌زنی بذور دارای خواب فیزیولوژیک می‌شود (Bhardwaj *et al*., 2005). کاربرد ترکیباتی نظیر اسید جیبرلیک و نیترات پتاسیم با تامین نیاز نوری و سرمایی بذوری که دارای خواب فیزیولوژیک هستند قادرند تا حدودی جایگزین نیاز نوری و سرمایی برای شکست خواب بذر شوند (Batak *et* al., 2002; Nemati *et al*., 2016; Da Silva *et al*., 2004; Müller *et al*., 2006).

ترکیبات دارای نیترات نظیر نیترات پتاسیم در کاهش خواب فیزیولوژیک و تحریک جوانه‌زنی بذرهایی که خواب آن‌ها ناشی از کمبود تحریک‌کنندگان جوانه‌زنی نظیر اسید جیبرلیک است، نقش دارند، زیرا نیترات نقش مثبتی در مسیر سنتز اسید جیبرلیک دارد (Alboresi *et al*., 2005) به‌همین دلیل بذرهای بابا آدم که با نیترات پتاسیم تیمارشده بودند در مقایسه با بذرهایی که صرفا خراش‌دهی شدند، از فعالیت بیش‌تر آنزیم آلفاآمیلاز و جوانه‌زنی بیش‌تری برخوردار بودند (شکل ۱، جدول۳).

خراش‌دهی پوسته بذر با آب داغ یا اسیدهای مختلف نظیر اسید سولفوریک و اسید کلریدیک یک روش مرسوم برای رخنه در پوسته بذرهایی است که خواب فیزیکی ناشی از ضخامت پوسته بذر دارند (Dewir *et al*., 2011; Abbasi *et al*., 2014; Akhondi *et al*., 2017). در پژوهش حاضر ترکیب اسید جیبرلیک و خراش‌دهی پوسته بذر با آب داغ و اسید سولفوریک موجب شکست خواب بذر بابا آدم شد هر چند که بعضی از تیمارها موجب افزایش گیاهچه‌های غیر نرمال شد. تیمار بذر مرزنجوش با اسید جیبرلیک به‌منظور شکست خواب بذر، سبب تحریک فعالیت آنزیمآلفا آمیلاز و افزایش درصد جوانه‌زنی بذر در مقایسه با بذرهای تیمارنشده شد (Dehghanpour Farashah *et al*., 2011).

بررسی درصد گیاهچه‌های غیر نرمال نشان داد تیمارهای شکست خواب بذر کاربرد اسید سولفوریک ۷۵ درصد و ترکیب این تیمار با اسید جیبرلیک و نیترات پتاسیم بیش‌ترین میزان گیاهچه‌های غیر نرمال را داشت (به‌ترتیب ۱۱/۷ درصد، ۱۱/۳ درصد و ۱۰/۹ درصد). کاربرد اسید سولفوریک ۵۰ درصد و همچنین آب داغ ۹۰ درجه سلسیوس به‌تنهایی یا به‌صورت ترکیبی با تیمارهای اسید جیبرلیک و نیترات پتاسیم میزان کم‌تری از تولید گیاهچه‌های غیر نرمال را ایجاد کرد (شکل۲).



شکل ۲- تاثیر تیمارهای شکست خواب بذر بر درصد گیاهچه‌های غیر نرمال بابا آدم

Figure 2. Effect of seed dormancy breaking treatments on *Arctium lappa* abnormal seedling percentage

تحقیق نبئی و همکاران نشان داد هر چند کاربرد آب داغ ۹۰ درجه سلسیوس و اسید سولفوریک غلیظ موجب افزایش جوانه‌زنی و شکست خواب بذر بابا آدم شد اما رشد گیاهچه این گیاه را کاهش داد که ناشی از آسیب گیاهچه

باباآدم تحت تاثیر درجه حرارت آب داغ و غلظت اسید سولفوریک است (Nabaee *et al.*, 2013) که با نتایج آزمایش حاضر همخوانی دارد.

سرعت جوانه زنی و زمان لازم برای جوانه زنی ۵۰ درصد بذرها

نتایج نشان داد که بیش‌ترین سرعت جوانه‌زنی بذر بابا آدم تحت تاثیر تیمارهای کاربرد اسید جیبرلیک + اسید سولفوریک ۷۵ درصد، اسید جیبرلیک + آب داغ ۷۰ درجه سلسیوس و اسید جیبرلیک + آب داغ ۹۰ درجه سلسیوس ثبت شد (۴/۴، ۴/۱ و ۴/۲ بذر در روز) درحالی‌که تیمار شاهد و تیمار خیساندن بذر در آب کم‌ترین سرعت جوانه‌زنی را داشت (۰/۵ و ۰/۷ بذر در روز). کاربرد اسید جیبرلیک، آب داغ ۹۰ درجه سلسیوس، آب داغ ۷۰ درجه سلسیوس و اسید سولفوریک ۷۵ درصد نیز سرعت جوانه‌زنی را به ۲/۳، ۲/۹، ۲/۳ و ۲/۴ بذر در روز افزایش داد. این نتایج نشان می‌دهد که خراش‌دهی پوسته بذر و کاربرد اسید جیبرلیک به تنهایی نیز سرعت جوانه‌زنی بذر را افزایش می‌دهد (جدول ۳). همچنین ترکیب نیترات پتاسیم و خراش‌دهی پوسته بذر با آب داغ و اسید سولفوریک سرعت جوانه‌زنی بذر بابا آدم را افزایش داد. سرعت جوانه‌زنی بذر تحت تاثیر کاربرد نیترات پتاسیم در مقایسه با کاربرد اسید جیبرلیک کم‌تر بود (به‌ترتیب ۱/۶ و ۲/۶ بذر در روز). نتایج جدول ۲ نشان داد بیش‌ترین زمان لازم برای جوانه‌زنی ۵۰ درصد بذرهای جوانه‌زده در تیمار شاهد، خیساندن بذرها و کاربرد نیترات پتاسیم مشاهده شد (۲۴/۵، ۲۵/۹ و ۲۲/۴ روز). کم‌ترین زمان لازم برای جوانه‌زنی ۵۰ درصد بذرها در تیمار اسید جیبرلیک + اسید سولفوریک ۷۵ درصد، اسید جیبرلیک+ آب داغ ۷۰ درجه سلسیوس و اسید جیبرلیک + آب داغ ۹۰ درجه سلسیوس مشاهده شد (به‌ترتیب ۱۰/۸، ۱۱ و ۱۰/۴ روز). نبئی و همکاران (۱۳۹۲) گزارش نمودند تیمار نیترات پتاسیم + آب داغ سبب تحریک جوانه‌زنی و افزایش سرعت جوانه‌زنی بذر بابا آدم شد که بیانگر خواب توام فیزیولوژیک و فیزیکی بذر بابا آدم است. در آزمایش حاضر سرعت جوانه‌زنی بذر تحت تاثیر کاربرد نیترات پتاسیم + خراش‌دهی با آب داغ و اسید سولفوریک کم‌تر از کاربرد اسید جیبرلیک + خراش‌دهی با اسید سولفوریک و آب داغ بود (جدول ۳). کاربرد اسید جیبرلیک سبب تحریک جوانه‌زنی و افزایش سرعت جوانه‌زنی بذر *Myrica rubra* شد (Chen *et al.*, 2008). کاربرد اسید جیبرلیک می‌تواند جایگزین نیاز سرما در بذرهای خفته شود (Bahadori and Javanbakht, 2006). سرعت جوانه‌زنی بیانگر میزان بذر جوانه‌زده در روز است و در بذور دارای خواب بذر، بیش‌تر بودن این عدد نشانگر افزایش تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز و موفقیت در شکست خواب بذر است. در پژوهش حاضر نیز تلفیق اسید جیبرلیک و خراش‌دهی پوسته بذر با اسید سولفوریک و آب داغ بیش‌ترین سرعت جوانه‌زنی و کم‌ترین زمان لازم برای جوانه‌زنی ۵۰ درصد بذرها را داشت که بیانگر موفقیت این تیمارها در شکست خواب بذر بابا آدم می‌باشد. البته باید به درصد گیاهچه‌های غیر نرمال تحت تاثیر کاربرد اسید سولفوریک ۷۵ درصد و آب داغ ۹۰ درجه سلسویس اشاره نمود (جدول ۳، شکل ۲). خراش‌دهی پوسته بذر با اسید سولفوریک و اسید کلریدیک سبب افزایش سرعت جوانه‌زنی و شکست خواب بذر *Psidium guajava* شد (Abbasi *et al.*, 2014). کاربرد اسید سولفوریک و نیترات پتاسیم سبب افزایش سرعت جوانه‌زنی بذر مورد *Myrtus communis* شد و نقش خراش‌دهی پوسته بذر در این خصوص بیش‌تر بود (Akhondi *et al.*, 2017).

غلظت اکسین و آبسزیک اسید گیاهچه

نتایج نشان داد تیمار بذر بابا آدم با اسید جیبرلیک سبب کاهش معنی‌دار غلظت درونی آبسزیک اسید شد به‌طوری‌که کم‌ترین میزان آبسزیک اسید در تیمار کاربرد اسید جیبرلیک و خراش‌دهی بذر با آب داغ ۹۰ درجه سلسیوس مشاهده شد (۶۰/۹ میکرومول بر گرم) که البته با سایر تیمارهای دارای اسید جیبرلیک تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول۳). پس از تیمار بذر با اسید جیبرلیک، تیمارهای دارای نیترات پتاسیم کم‌ترین غلظت درونی اسید آبسزیک را به خود اختصاص دادند که بیانگر تاثیر مثبت تیمار بذر با اسید جیبرلیک و نیترات پتاسیم بر کاهش غلظت اسید آبسزیک است (جدول ۳).

همچنین نتایج نشان داد کاربرد اسید جیبرلیک و نیترات پتاسیم سبب افزایش غلظت اکسین در مقایسه با بذرهای تیمارنشده یا بذرهایی که صرفا خراش‌دهی شدند، گردید و تفاوتی میان غلظت اکسین در بذرهای تیمارشده با نیترات پتاسیم یا اسید جیبرلیک مشاهده نشد (جدول۳).

جدول ۳- تاثیر تیمارهای شکست خواب بذر بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه بابا آدم

Table 3. effect of seed dormancy breaking treatment on *Arctium lappa germ*ination and seedling growth

تیمارهای شکست خواب بذر Seed treatments	سرعت جوانه زنی Germination rate (day)	فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز α-amylase activity (nmol seed^{-1}minute^{-2})	غلظت درونی آبسزیک اسید ABA concentration (µmol g^{-1})	غلظت درونی ایندول استیک اسید IAA concentration (µmol g^{-1})	طول ریشه‌چه Root length(mm)	طول ساقه چه Shoot length (mm)	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight (mg)	زمان لازم برای ۵۰ درصد جوانه زنی (روز) E_{50}(day)	شاخص ویگور Vigor index
شاهد Control	0.5 e	3.1 c	89.8 a	88.6 b	12 f	7 e	4.4 f	24.5 d	285 f
خیساندن در آب Socking in water (12 h)	0.7 e	3.3 c	92.8 a	92.8 b	10 f	10 ed	4.2 f	25.9 d	260 f
خیساندن در محلول نیترات پتاسیم یک درصد Socking in KNO_3 1% solution (12 h)	2.6 c	5.5 b	74.1 b	158.4 a	17 e	9 ed	8.4 d	18.5 c	676f
خیساندن در محلول ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک Socking in GA_3 solution (500 ppm, 12 h)	1.6 d	7.1 a	65.8 c	161.8 a	18 e	13 d	6.3 e	22.4 cd	1804 e
اسید سولفوریک ۵۰ درصد H_2SO_4 50% (3min)	1.7 d	2.9 c	87.0 a	84.0 b	17 e	22 c	9.8 c	19.9 c	1092 e
اسید سولفوریک ۷۵ درصد H_2SO_4 75% (3min)	2.4 c	3.0 c	84.2 a	81.4 b	17 e	15 d	7.2 e	18.9 c	1856 e
آب داغ ۷۰ درجه سلسیوس Hot water 70 ^{0}C (10min)	2.3 c	3.2 c	86.9 a	82.1 b	25 d	23 c	10.1 c	19.8 c	2688 d
آب داغ ۹۰ درجه سلسیوس Hot water 90 ^{0}C (10 min)	2.9bc	3.2 c	84.9 a	83.2 b	24 d	21 c	10.7 c	19.3 c	2655 d
۵۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک + اسید سولفوریک ۵۰ درصد GA_3+ H_2SO_4 50%	3.4b	7.2 a	67.0 c	167.0 a	43 ab	37 a	14.8 a	15.1 b	5760 b
۵۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک + اسید سولفوریک ۷۵ درصد GA_3+ H_2SO_4 75%	4.4 a	7.1 a	61.5 c	161.7 a	37 b	30 b	11.9 b	10.8 a	5762 b
۵۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک + آب داغ ۷۰ درجه سلسیوس GA_3+ hot water 70 ^{0}C	4.1 a	7.4 a	62.7 c	157.0 a	49 a	34 a	7.3 a	11.0 a	7221 a
۵۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک + آب داغ ۹۰ درجه سلسیوس GA_3+ hot water 90 ^{0}C	4.2 a	6.9 a	60.9 c	160.6 a	36 b	28 b	12.4 b	10.4 a	5376 b
نیترات پتاسیم یک درصد + اسید سولفوریک ۵۰ درصد KNO_3 + H_2SO_4 50%	2.8 bc	5.9 b	75.1 b	15.2 a	40 b	36 a	12.7 b	14.3 b	4235 c
نیترات پتاسیم یک درصد + اسید سولفوریک ۷۵ درصد KNO_3 + H_2SO_4 75%	3.4 b	5.8 b	76.1 b	16.7 a	32 c	28 b	11.1 c	15.8 b	4440 c
نیترات پتاسیم یک درصد + آب داغ ۷۰ درجه سلسیوس KNO_3 + hot water 70^{0}C	3.2b	5.5 b	72.9 b	19.3 a	36 b	34 a	12.9 b	15.3 b	5320 b
نیترات پتاسیم یک درصد + آب داغ ۹۰ درجه سلسیوس KNO_3 + hot water 90^{0}C	3.2 b	5.9 b	71.4 b	16.1 a	30 c	26 b	11.0 c	15.4 b	4144 c

داده‌های هر صفت با حروف مشابه، در سطح احتمال آماری ۱ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند،

Means followed by the same letter(s) in each trait are not significantly different at P = 0.01 according to Duncan multiple test

اکسین و اسید جیبرلیک دو تنظیم‌کننده رشد گیاهی موثر در فرآیند جوانه‌زنی هستند که بر فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز، رشد ریشه‌چه و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت گیاهچه تاثیر مثبت دارند اما عدم تعادل میان غلظت این تنظیم‌کنندگان رشد با ترکیبات بازدارنده آبسزیک اسید سبب ایجاد خواب بذر و تاخیر در جوانه‌زنی می‌شود (Miransari and Smith, 2014). یک بررسی نشان داد اسید جیبرلیک و اکسین با تحریک یک سلسله فرآیندهای بیوشیمایی که موجب رونویسی از ژنوم آنزیم-های هیدرولیزکننده نظیر آنزیم آلفاآمیلاز می‌شود و این آنزیم با تجزیه ذخایر بذر، انرژی لازم برای رشد گیاهچه را فراهم می‌کند. از آن‌جا که اسید جیبرلیک قادر است اثر منفی بازدارندگانی نظیر آبسزیک اسید بر فرآیند جوانه‌زنی را کاهش دهد کاربرد آن به‌صورت خارجی یا تحریک سنتز آن به کمک تیمارهایی نظیر نوردهی و سرمادهی جهت کاهش خواب بذر پیشنهاد می‌گردد (Kucera *et al.*, 2005). نیترات قادر است با تحریک مسیر سنتز اسید جیبرلیک سبب افزایش غلظت این هورمون و القای اثرات ناشی از کاربرد خارجی اسید جیبرلیک شود. همچنین کاربرد ترکیبات دارای نیترات می‌تواند مسیر سنتز آبسزیک اسید را کند نماید (Alboresi *et al.*, 2005). به‌همین دلیل نتایج پژوهش حاضر نیز نشان داد کاربرد نیترات پتاسیم سبب افزایش فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز و کاهش غلظت اسید آبسزیک بذر بابا آدم شده و نیترات پتاسیم پس از اسید جیبرلیک بهترین تیمار برای شکست خواب بذر این گیاه بود (جدول۳).

طول و وزن خشک گیاهچه

بررسی وزن خشک گیاهچه بابا آدم نشان داد تفاوت معنی‌داری میان وزن خشک گیاهچه تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی وجود دارد. کم‌ترین وزن خشک گیاهچه در تیمارهای شاهد و خیساندن بذر در آب مشاهده شد (به-ترتیب ۴/۴ و ۴/۲ میلی‌گرم). بیش‌ترین وزن گیاهچه نیز در تیمارهای اسید جیبرلیک + اسید سولفوریک ۵۰ درصد (۱۴/۸ میلی‌گرم) و اسید جیبرلیک + آب داغ ۷۰ درجه سلسیوس (۱۵/۳ میلی‌گرم) ثبت شد. پس از این تیمارها، تیمارهای کاربرد اسید جیبرلیک + اسید سولفوریک ۷۰ درصد، اسید جیبرلیک + آب داغ ۹۰ درجه سلسیوس، نیترات پتاسیم + اسید سولفوریک ۵۰ درصد و نیترات پتاسیم + آب داغ ۹۰ درجه سلسیوس بیش‌ترین وزن گیاهچه را به خود اختصاص دادند (جدول۳). کاهش وزن گیاهچه تحت تاثیر آب داغ ۹۰ درجه سلسیوس و اسید سولفوریک ۷۵ درصد ناشی از آسیب به گیاهچه و کاهش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه است، زیرا درصد گیاهچه‌های غیر نرمال نیز تحت تاثیر این تیمارها افزایش یافت.

بیش‌ترین طول ریشه‌چه بابا آدم در تیمار کاربرد اسید جیبرلیک + آب داغ ۷۰ درجه سلسیوس (۴۹ میلی‌متر) مشاهده شد و پس از این تیمار، کاربرد اسید جیبرلیک + اسید سولفوریک ۵۰ درصد (۴۳ میلی‌متر) بیش‌ترین طول ریشه‌چه را به خود اختصاص داد. بذور تحت تاثیر کاربرد آب داغ ۷۰ و ۹۰ درجه سلسیوس به تنهایی در مقایسه با کاربرد اسید سولفوریک ۵۰ و ۷۵ درصد، اسید جیبرلیک یا نیترات پتاسیم، طول ریشه‌چه بیش‌تری داشتند (جدول ۳). کم‌ترین طول ریشه‌چه در تیمار شاهد و خیساندن بذر در آب مشاهده شد (به‌ترتیب ۱۲ و ۱۰ میلی‌متر). کم-ترین طول ساقه‌چه نیز در تیمار شاهد، خیساندن بذر در آب و کاربرد نیترات پتاسیم مشاهده شد (به‌ترتیب ۷، ۱۰ و ۹ میلی‌متر). تیمار بذر بابا آدم با اسید جیبرلیک + اسید سولفوریک ۵۰ درصد، اسید جیبرلیک + آب داغ ۷۰ درجه سلسیوس و نیترات پتاسیم + آب داغ ۷۰ درجه سلسیوس طول ساقه‌چه را به‌ترتیب به ۳۷، ۳۴ و ۳۴ میلی‌متر افزایش داد (جدول ۳). بررسی تغییرات وزن خشک و رشد گیاهچه بابا آدم نشان داد، بیش‌ترین میزان وزن خشک و رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه این گیاه تحت تاثیر تیمار اسید جیبرلیک + اسید سولفوریک ۵۰ درصد و اسید جیبرلیک + آب داغ ۷۰ درجه سلسیوس به‌دست آمد و تیمار نیترات پتاسیم + خراش‌دهی پوسته بذر با آب داغ یا اسید سولفوریک در مرتبه بعدی قرار داشت. این نتایج بیانگر تاثیر مثبت تلفیق تیمارهای شکست خواب بذر فیزیکی و فیزیولوژیک در بهبود جوانه‌زنی بذر بابا آدم است. بررسی روش‌های شکست خواب بذر بابا آدم نشان داد که بیش-ترین رشد گیاهچه تحت تاثیر تیمار بذر با نیترات پتاسیم+ آب داغ ۷۰ درجه سلسیوس به‌دست آمد و کاربرد آب داغ ۹۰ درجه سلسیوس یا اسید سولفوریک غلیظ سبب آسیب به رشد گیاهچه شد (Nabaee *et al.*, 2013) که با نتایج آزمایش حاضر همخوانی دارد. در بذوری که دارای خواب بذر می‌باشند رشد گیاهچه بطئی و آرام است و تیمارهای مناسب شکست خواب بذر علاوه بر این‌که درصد جوانه‌زنی را افزایش می‌دهند سبب تحریک رشد گیاهچه

نیز می‌گردند. اسید جیبرلیک در تحریک رشد گیاهچه بذور دارای خواب نقش اساسی دارد و کاربرد خارجی آن می‌تواند رشد گیاهچه را به‌میزان قابل توجهی افزایش دهد (Hassani *et al*., 2009 ; Chen *et al*., 2009; Bhardwaj *et al*., 2010) که با نتایج آزمایش حاضر همخوانی دارد. در این پژوهش کاربرد اسید جیبرلیک و نیترات پتاسیم وزن خشک گیاهچه را به‌ترتیب به ۸/۴ میلی‌گرم و ۶/۳ افزایش داد که بیانگر تاثیر بیش‌تر اسید جیبرلیک بر رشد گیاهچه بابا آدم است. همچنین طول ساقه‌چه و ریشه‌چه بابا آدم نیز تحت تاثیر کاربرد اسید جیبرلیک به‌میزان معنی‌داری بیش از کاربرد نیترات پتاسیم بود که تاییدکننده این نتیجه است (جدول۳). تنظیم‌کنندگان رشد گیاهی نظیر اسید جیبرلیک، سایتوکنین و اکسین در فرایند جوانه‌زنی و رشد گیاهچه بذور دارای خواب نقش دارند. اسید جیبرلیک، تیدیازورون و بنزیل آدنین در شکست خواب بذر زیره سیاه (*Bunium persicum*) و تحریک رشد گیاهچه آن نقش اساسی دارند (Darveshi Zidabadi *et al*., 2015). در کنار خواب فیزیولوژیک بذر بابا آدم باید به خواب فیزیکی آن و تحریک رشد گیاهچه با خراش‌دهی بذر نیز توجه نمود به طوری‌که کاربرد آب داغ ۷۰ و ۹۰ درجه سلسیوس وزن گیاهچه بابا آدم را به ۱۰/۲ و ۱۰/۷ میلی‌گرم افزایش داد که به میزان معنی داری بیش از کاربرد اسید جیبرلیک و نیترات پتاسیم به تنهایی بود. کابرد تیمارهای فیزیکی نظیر اسید سولفوریک و آب داغ در شکست خواب بذر بابا آدم و تحریک رشد گیاهچه آن نقش اساسی دارد اما باید توجه نمود آب داغ ۹۰ درجه سلسیوس یا اسید سولفوریک غلیظ می‌تواند به رشد گیاهچه صدمه اساسی وارد کند (Bhardwaj *et al*., 2010) که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد. بررسی تاثیر تیمارهای شکست خواب فیزیکی و فیزیولوژیک بر بذر نشان داد که کاربرد اسید سولفوریک نقش به‌سزایی در شکست خواب بذر این گیاه داشت (Akhondi *et al*., 2015).

شاخص بنیه بذر

بیش‌ترین شاخص بنیه بذر در بذور تیمارشده با اسید جیبرلیک + آب داغ ۷۰ درجه سلسیوس مشاهده شد و این در حالی است که کم‌ترین شاخص بنیه بذر در تیمارهای شاهد، خیساندن بذر در آب و نیترات پتاسیم ثبت شد. پس از اسید جیبرلیک + آب داغ ۷۰ درجه سلسیوس ، تیمار بذر با اسید جیبرلیک + اسید سولفوریک ۵۰ درصد و ۷۵ درصد، اسید جیبرلیک + آب داغ ۹۰ درجه سلسیوس، نیترات پتاسیم + آب داغ ۷۰ درجه سلسیوس سبب افزایش بنیه بذر شد (جدول۳). بنیه بذر نشان‌دهنده پتانسیل بذر برای جوانه‌زنی، رشد گیاهچه و تحمل شرایط نامطلوب محیطی در خلال جوانه‌زنی می‌باشد و به‌عنوان یک شاخص مهم در خلال جوانه‌زنی تحت تأثیر عوامل مختلف از جمله ژنتیک، شرایط محیطی در دوره نمو بذر و تیمارهای بهبود جوانه‌زنی بذر قرار می‌گیرد (Sikder *et al*., 2009). انتخاب تیمار مناسب شکست خواب بذر زیره سیاه سبب افزایش شاخص بنیه بذر شد (Darveshi Zidabadi *et al*., 2015). شاخص بنیه بذر با صفاتی نظیر طول گیاهچه، سرعت جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی همبستگی دارد (Monjam *et al*., 2016) بنابراین می توان انتظار داشت در تیمارهای شکست خواب بذر که منجر به افزایش سرعت جوانه‌زنی، افزایش رشد گیاهچه و درصد جوانه‌زنی شد شاخص بنیه بذر افزایش یابد که بیش‌ترین نمود آن را در تیمار اسید جیبرلیک + آب داغ ۷۰ درجه سلسیوس می‌توان مشاهده نمود. نکته قابل توجه این است که بنیه بذر تحت تاثیر کاربرد اسید جیبرلیک در مقایسه با مصرف نیترات پتاسیم به‌میزان معنی‌داری بیش‌تر بود و این موضوع نشان‌دهنده کارایی بیش‌تر اسید جیبرلیک در شکست خواب بذر و رشد گیاهچه بابا آدم است. در پژوهش حاضر افزایش بنیه بذر تحت تاثیر کاربرد اسید جیبرلیک در مقایسه با کاربرد نیترات پتاسیم (جدول۳) احتمالا ناشی از تاثیر اسید جیبرلیک بر آنزیم‌های دخیل در فرآیند جوانه‌زنی است. مطالعه سازوکار بیوشیمیایی عمل جیبرلین نشان می‌دهد که جیبرلین با القاء تغییر در سنتز و فعالیت آنزیم‌های هیدرولیزکننده ذخایر بذر، نظیر آلفاآمیلاز را تحریکنموده و انرژی لازم برای رشد و ظهور گیاهچه را تامین می‌کند (Peng and Harberd, 2002).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد بذر بابا آدم دارای خواب مرکب است. با توجه به درصد جوانه‌زنی، فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز، وزن گیاهچه، بنیه بذر و درصد گیاهچه‌های غیر نرمال مناسب‌ترین روش برای شکست خواب بذر بابا آدم تیمار بذر با اسید جیبرلیک ۵۰۰ پی‌پی‌ام + خراش‌دهی

پوسته بذر با آب داغ ۷۰ درجه سلسیوس است. هرچند کاربرد اسید جیبرلیک + آب داغ ۹۰ درجه سلسیوس، اسید جیبرلیک + اسید سولفوریک ۷۵ درصد نیز بیش-ترین درصد جوانه‌زنی را داشت اما به‌دلیل آسیب این تیمارها به ساختار گیاهچه که منجر به کاهش وزن گیاهچه، افزایش درصد گیاهچه‌های غیر نرمال و در نهایت کاهش بنیه بذر شد کاربرد این تیمارها توصیه نمی‌شود. با توجه به آسان‌بودن شیوه استفاده از تیمار آب داغ و اسید جیبرلیک توصیه می‌شود از تیمار اسید جیبرلیک ۵۰۰ پی‌پی‌ام + خراش‌دهی پوسته بذر با آب داغ ۷۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۱۰ دقیقه برای بهبود جوانه‌زنی بذر بابا آدم استفاده شود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مسئول آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر قدردانی می‌گردد.

منابع

Abbasi, M., Heydari, M. and Rahemi, M. 2014. Effect of seed acid scarification on *Psidium guajava germination.* Journal of Horticultural Science, 27: 394-399. (In Persian) **(Journal)**

Akhondi, M., Zare Hassanabadi, M., Amiri, M.S. and Shabani, S. 2017. The effects of mechanical and chemical treatments on dormancy breaking and seed germination indices of *Myrtus communis* L. Iranian Journal of Seed Science and Technology, 5: 1-7. (In Persian)**(Journal)**

Alboresi, A., Gestin, C., Leydecker, M.T., Bedu, M., Meyer, C. and Truong, H.N. 2005. Nitrate, a signal relieving seed dormancy in Arabidopsis. Plant, Cell and Environment, 28: 500–512**.** (**Journal**)

Bahadori, F. and Javanbakht, A. 2006. Effect of pre-treatments on seed germination and seedling growth of *Bunium persicum* of Semnan. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 14(3): 163-169. (In Persian)**(Journal)**

Batak, I., Devic, M., Giba, Z., Grubisic, D., Poff, K.L. and Konjevic, R. 2002. The effects of potassium nitrate and NO-donors on phytochrome A- and phytochrome B-specific induced germination of *Arabidopsis thaliana* seeds. Seed Science Research, 12: 235-259. **(Journal)**

Bhardwaj, M., Kak, A., Gupta, A., Dashora, K. and Gupta,V. 2010. Effect of pre sowing treatment on germination of *Arctium lappa*- amedical plant of western Hymallia. Seed Science and Technology, 38: 784-786. **(Journal)**

Bhardwaj, R.L., Meena, R.R. and Mukherjee, S. 2005. Role of plant growth regulators in Guava (Psidium guajava)- A review. Agricultural Review, 26(4): 281-287. **(Journal)**

Chen, S.H., Kuo, S.H. and Chein, C.T. 2008. Roles of gibberellins and abscisic acid in dormancy and germination of red bayberry (*Myrica rubra*) seeds. Tree Physiology, 28: 1431–1439. **(Journal)**

Da Silva, E.A.A., Toorop, P.E., Van Aelst, A.C. and Hilhorst, H.W.M. 2004. Abscisic acid controls embryo growth potential and endosperm cap weakening during coffee (*Coffea arabica* cv. Rubi) seed germination. Planta, 220: 251–261. **(Journal)**

Darvishi Zidabadi, D., Jalali Javara, M., Dehghani, H., Rashidi Monfared, S. and Baghizadeh, A. 2015. The effect of different combinations of hormonal treatments on breaking seed dormancy in different ecotypes of Black Zira (*Bunium persicum*). Iranian Journal of Seed Science and Research, 2: 55-67. (In Persian)**(Journal)**

Dehghanpour Farashah, H., Tavakkol Afshari, R., Sharifzadeh, F. and Chavoshinasab, S. 2011. Germination improvement and α-amylase and β-1,3-glucanase activity in dormant and nondormant seeds of Oregano (*Origanum vulgare*). Australian Journal of Crop Science, 5(4):421-427. **(Journal)**

Dewir, Y.H., El-Mahrouk, M.E. and Naidoo, Y. 2011. Effects of some mechanical and chemical treatments on seed germination of *Sabal palmetto* and *Thrinax morrisii* palms. Australian Journal of Crop Science, 5(3): 248-255. **(Journal)**

El-Dengawy, E.F.A. 2005. Promotion of seed germination and subsequent seedling growth of loaquat (*Eriobotrya japonica*) by moist-chilling and GA_3 applications. Scientia Horticulturae, 105(3): 331-342. **(Journal)**

Elouaer, M.A. and Hannachi, C. 2012. Seed priming to improve germination and seedling growth of safflower (*Carthamus tinctorius*) under salt stress. EurAsian Journal of BioSciences, 6: 76-84. **(Journal)**

Finkelstein, R., Reeves, Ariizumi, T. and Steber, C. 2008. Molecular Aspects of Seed Dormancy.Annual Reviewof Plant Biology, 59: 387-415. **(Journal)**

Giba, Z., Grubisic, D., Todorovic, S., Stojakovic, D. and Konjevic, R. 1998. Effects of nitric oxide-releasing compounds on phytochrome-controlled germination of Empress tree seeds. Plant Growth Regulation, 26: 175-181. **(Journal)**

Hassani, S.B., Saboora, A., Rajabian, T. and Fallah Husseni, H. 2009. Effects of temperature, GA3 and cytokinins on breaking seed dormancy of Ferula assa-foetida L. Iranian Journal of Science and Technology, 33: 75-85. (In Persian)(**Journal**)

Kamal, J. 2010. Impact of allelopathy of sunflower (*Helianthus annuus* L.) roots extract on physiology of wheat (*Triticum aestivum* L.). African Journal of Biotechnology, 10: 14465-14477. (**Journal**)

Kato-Noguchi, H. and Macias, F.A. 2008. Inhibition of germination and α-amylase induction by 6-methoxy- 2-benzoxazolinone in twelve plant species. Biological Plantaum, 52: 351-354. (**Journal**)

Keshtkar, H.R., Azarnivand, H. and Atashi, H. 2009. Effect of prechilling and GA3 on seed germination of *Ferula assa-foetida* and *Prangos ferulacea*. Seed Science and Technology, 37(2): 464-468. **(Journal)**

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

Kulkarni, M.G., Street, R.A. and Staden J.V. 2007. Germination and seedling growth requirements for propagation of *Diosscorea dregeana* (Kunth) Dur. and Schinz-A tuberous medicinal plant. South Africa Journal of Botany, 33: 131-137. **(Journal)**

Miller, K., Tintelnot, S. and Leubner-Metzger, G. 2006. Endosperm limited brassicaceae seed germination: abscisic acid inhibits embryo- induced endosperm weakening of *Lepidium sativum* (cress) and endosperm rupture of cress and *Arabidopsis thaliana*. Plant Cell Physiology, 47:864–877. **(Journal)**

Miransari, M. and Smith, D.L. 2014. Plant hormones and seed germination. Environmental and Experimental Botany, 99: 110-121. (**Journal**)

Monjam, S., Zenli, E., Ghaderifar, F., Soltani, E. and Hosseni Chaleshtri, M. 2016. Study the genetic variation of rice seed vigour by multivariate statistical methods. Electronic Journal of Crop Production, 8: 121-142. (In Persian)**(Journal)**

Nabaee, M., Roshandel, P.and Mohammadkhani, A.R. 2013. Effect of chemical treatments, pre-moist chilling, hot and tap water on seed dormancy breaking in *Arctium lappa*. Journal of Plant researches, 26: 217- 225. (In Persian)**(Journal)**

Nemati, A., Sharifi, H., Gerdakaneh, M. and Sharifi, Z. 2016. The effect of pre-chilling and gibberellic acid on breaking seed dormancy of two medicinal plants species *Silybum Mrianum* and *Citrulus Colocynthis*. Iranian Journal of Seed Research, 3: 170-176. (In Persian)**(Journal)**

Park, D.L. 2017. Methods of seed dormancy mesurance and dormancy breaking workshop, ISTA's 30th Annual Congress. 20-23 september, Seoul, South Korea. **(Conference)**

Patil, J.G., Ahire M.L. and Nikam, T.D. 2012. Influence of plant growth regulators on in vitro seed germination and seedling development of *Digitalis purpurea* L. The Asian and Australian Journal of Plant Science and Biotechnology, 6(1): 12-18. **(Journal)**

Peng, J. and Harberd, N.P. 2002. The role of GA-mediated signalling in the control of seed germination. Current Opinion in Plant Biology, 5(5): 376-381. **(Journal)**

Scott, S.J., Jones, R.A. and Williams, W.A. 1984. Review of data analysis methods for seed germination. Crop Science, 24: 1192-1199. **(Journal)**

Sharifi, H., Khajeh-Hosseini, M. and Rashed-Mohassel, M.H. 2015. Study of seed dormancy in seven medicinal species from Apiaceae. Iranian Journal of Seed Research, 2: 25-36. (In Persian)**(Journal)**

Sharifi, H., Nemati, A.and Gerdakaneh, M. 2017. Breaking seed dormancy and improve germina tion of four medicinal species of apiaceae by gibberellic acid and prechilling treatments. Iranian Journal of Seed Science and Research, 4(3): 27-38. (In Persian)(**Journal**)

Sikder, S., Hasan, M.A. and Hossain, M.S. 2009. Germination characteristics and mobilization of seed reserves in maize varieties as influenced by temperature regimes. Journal of Agriculture Ruralal Development, 2: 51- 56. **(Journal)**

Sumlu, S., Atar, H.H. and Khawar, K.M. 2010. Breaking seed dormancy of water lily (*Nymphaea alba* L.) under in vitro conditions. Biotechnology and Biotechnology Equipment, 24(1): 1582- 1586. **(Journal)**

Zargari, A. 1995. Pharmaceutical plants. Tehran Univcity Publication**.** (In Persian)**(Book)**

Evalution of *Arctium lappa* seed dormancy breaking methods

Rozbeh Farhoudi[1*], Adel Modhej[2], Mohammad Motamedi[3]

Received: August 29, 2019 Accepted: February 3, 2020

Abstract

Arctium lappa is an important medical plant with seed dormancy problem. A study was carried out to investigate the effects of seed dormancy breaking treatments on *Arctium lappa* germination. Treatments were arranged in a completely randomized design (CRD) with five replication. The highest germination percentage was recorded in seeds treated with GA_3 (500 ppm) + H_2SO_4 75% (86%), GA_3 (500 ppm) + hot water 70 ^{0}C (87%) and GA_3 (500 ppm) + hot water 90 ^{0}C (84%). Seed scarification with hot water were better than H_2SO_4 because H_2SO_4 increased abnormal seedling percentage. Highest abnormal seedling showed in H_2SO_4 75%, GA_3 (500 ppm) + H_2SO_4 75% and KNO_3 (1%) + H_2SO_4 75 % treatments (11.7%, 11.3% and 10.9% respectively). Seed treatment with KNO_3 and GA_3 increas α- amylase activity and Auxin concentration in *Arctium lappa* seedlings and decreased Abscisic Acid content in seedlings. The maximum seedling vigor index obtaines in seeds treated with GA_3 (500 ppm) + hot water 70 ^{0}C . Results indicated *Arctium lappa* seeds scarification with hot water 70 ^{0}C (10 min) followed by socking in GA_3 (500 ppm) for 12 hour was most effective treatment for seed dormancy breaking and improved seedling growth.

Key words: α- amylase; GA3; Germination Percentage; H_2SO_4; Hot Water

How to cite this article
Farhoudi, R., Modhej, A. and Motamedi, M. 2021. Evalution of Arctium lappa seed dormancy breaking methods. Iranian Journal of Seed Science and Research, 8(2): 161-175. (In Persian)(**Journal)**
DOI: 10.22124/jms.2021.5224

COPYRIGHTS
Copyrights for this article are retained by the author(s) with publishing rights granted to the Iranian Journal of Seed Science and Research
The content of this article is distributed under Iranian Journal of Seed Science and Research open access policy and the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY4.0) License. For more information, please visit http://jms.guilan.ac.ir/

1. Depatment of Agronomy and Plant Breeding and tropical and subtropical plants research center, Islamic Azad University, Shoushtar branch, Shoushtar, Iran. rfarhoudi@gmail.com
2. Depatment of Agronomy and Plant Breeding and tropical and subtropical plants research center, Islamic Azad University, Shoushtar branch, Shoushtar, Iran. adelmodhej2006@yahoo.com
3. Depatment of Agronomy and Plant Breeding and tropical and subtropical plants research center, Islamic Azad University, Shoushtar branch, Shoushtar, Iran. motamedi555@gmail.com
*Corresponding author: rfarhoudi@gmail.com