علوم و تحقیقات بذر ایران
سال دهم/ شماره دوم/ ۱۴۰۲ (۹۳ - ۸۱)
مقاله پژوهشی
DOI: 10.22124/jms.2023.7610

اثر انواع روش‌های خراش‌دهی پوسته، لیزر هلیم- نئون و سدیم نیتروپروساید بر شکست خواب بذر و رشد گیاهچه گیاه مورد (*Myrtus commnius* L.)

ریحانه عموآقایی[1*]، آزاده رفیعی[2]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۳/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۷/۶

چکیده

مورد یک گیاه دارویی است که دانه‌های آن دارای خواب اولیه هستند. در تحقیق حاضر ابتدا اثر شیوه‌های مختلف خراش‌دهی (تیمارهای اسید سولفوریک ۷۰ و ۹۰ درصد، سنباده‌زنی به‌مدت ۵ و ۱۰ دقیقه، خراش با تیغ و خیساندن در آب داغ به‌مدت ۱۰ و ۲۰ دقیقه) روی شکست خواب بذر ارزیابی شد. نتایج نشان داد که بدون خراش‌دهی، جوانه‌زنی دانه‌ها بسیار کم بود، امّا همه شیوه‌های خراش‌دهی، در حد معنی‌داری جوانه‌زنی نهایی را افزایش دادند. در بین سطوح مختلف تیمارها، حداکثر جوانه‌زنی نهایی با ۲۰ دقیقه خیساندن در آب داغ (۳۳درصد)، ۵ دقیقه تیمار با اسید سولفوریک ۹۰ درصد (۵۹ درصد)، ۱۰ دقیقه سنباده‌زدن (۶۳ درصد) و خراش‌دهی با تیغ (۶۵ درصد) به‌دست آمد. آزمایش بعدی نشان داد که دانه‌های مورد، فتوبلاستیک مثبت هستند و تیمار با لیزر هلیم - نئون بیش‌تر از نور سفید و قرمز، جوانه‌زنی همه دانه‌های خراش‌دهی شده با شیوه‌های فوق را افزایش داد و جوانه‌زنی بذرهای سنباده‌زده و خراش‌دهی‌شده با تیغ را به‌حدود ۸۵ درصد رساند. نتایج آخرین آزمایش، هم نشان داد غلظت‌های ۰/۵درصد نیترات پتاسیم و۱۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید (SNP به‌عنوان یک ترکیب آزاد کننده (NO) جوانه‌زنی، طول و بنیه دانه‌رست‌های رشد یافته از همه دانه‌های خراش‌دهی شده را افزایش داد و جوانه‌زنی بذرهای سنباده‌زده و خراش‌دهی شده با تیغ را به حدود ۸۰ درصد رساند. این نتایج نشان دادند که دانه‌های مورد یک خواب ترکیبی شامل خواب فیزیکی و فیزیولوژیک دارند که می‌تواند با سنباده‌زدن و سپس تیمار با سدیم نیتروپروساید یا تابش لیزر هلیم- نئون رفع شود.

واژه‌های کلیدی: آب داغ، اسید سولفوریک، بنیه بذر، تیغ، سنباده، نیترات، نور

۱- استاد، گروه زیست گیاهی و مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران. rayhanehamooaghaie@yahoo.com
۲- گروه زیست گیاهی، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران. aazadeh31@yahoo.com
*نویسنده مسئول: rayhanehamooaghaie@yahoo.com

مقدمه

گیاه مورد با نام علمی (*Myrtus commnius* L.) یک درختچه همیشه‌سبز پراکنده در سراسر نوار مدیترانه‌ای است و در طب سنتی استفاده از آن برای درمان بیماری-هایی مانند اسهال خونی، زخم معده، استفراغ، عفونت عمیق سینوس‌ها و روماتیسم توصیه شده است (Sumbul *et al*., 2011). در ایران این گیاه در رشته کوه‌های زاگرس و حاشیه پارک‌ها برای ایجاد پرچین و به‌عنوان درختچه زینتی کاشته می‌شود و عصاره آن در صنایع آرایشی و بهداشتی و جلوگیری از ریزش مو کاربرد دارد (Zargari, 1995). یکی از موانع عمده در تکثیر گیاه مورد از طریق بذر، محدودیت جوانه‌زنی و خواب بذر این گیاه است.

اصطلاح خواب بذر اشاره به حالتی دارد که علی‌رغم زنده بودن بذر و وجود شرایط مناسب محیطی، بذر قادر به جوانه‌زنی نیست (Bewely *et al*., 2013). خواب بذر ممکن است ناشی از مقاومت فیزیکی پوشش بذر یا نفوذناپذیری آن نسبت به آب و گازها باشد. در برخی دیگر از بذرها، خواب از نوع مورفولوژیک یا فیزیولوژیک بوده و مرتبط به نارس‌بودن جنین دانه یا عدم تعادل هورمونی است. بذور برخی از گیاهان نیز دارای خواب دوگانه از نوع فیزیکی و فیزیولوژیک هستند (Baskin and Baskin 2021). وجود هر دو نوع خواب فیزیکی و فیزیولوژیک برای بذور تیره مورد (Myrtaceae)، توسط محققین مختلف گزارش شده است (Akhondi *et al*., 2017; Baskin and Baskin 2021). برای مثال برد سل و همکاران (Beard sell *et al*., 1943) گزارش کردند که حذف بافت میوه‌ها و پوشش دانه با استفاده از اسید سولفوریک غلیظ به‌طور معنی‌داری جوانه‌زنی دانه‌های *Thryptomene calicina*، از تیره مورد را افزایش داد. در مقابل، خواب فیزیولوژیک دانه‌های *Myrciaria glomerata* با کاربرد جبرلین و محلول محرک ویژه برطرف شد و اسید سولفوریک موثر نبود (Santos *et al*., 2022). باسکین و باسکین (Baskin and Baskin 2021) گزارش کردند که خواب دانه در اغلب گونه‌های زیر قبیله Myrteae از نوع خواب فیزیولوژیک غیرعمیق است. آخوندی و همکاران (Akhondi *et al*., 2017) گزارش کردند که خواب فیزیکی بذرهای مورد بوسیله تیمار با اسید سولفوریک یا سنباده‌زنی پوسته می‌تواند رفع شود. الوندیان و همکاران (Alvandian *et al*., 2013) دریافتند که با استفاده از سرمادهی مرطوب و امواج اولتراسونیک می‌توان بر خواب فیزیولوژیک دانه‌های مورد غلبه کرد. پژوهان و همکاران (Pazhouhan *et al*., 2017) هم گزارش کردند که تیمار با اسید سولفوریک و یا نیترات پتاسیم و نانولوله‌های کربنی جوانه‌زنی دانه‌های مورد را تحریک کرد که به‌طور غیرمستقیم دلالت بر رفع خواب فیزیکی و فیزیولوژیک در این بذرها دارد. خواب دوگانه فیزیکی و فیزیولوژیک در تیره‌های دیگر گیاهان هم گزارش شده است. مثلا در بذور تاتوره (*Datura stamonial*) پس از حذف خواب فیزیکی به‌وسیله سنباده‌زنی، کاربرد جبرلین یا نیترات پتاسیم هم برای شکست خواب فیزیولوژیک و حصول حداکثر جوانه‌زنی و رشد دانه‌رست ضروری است (Ghadamyari *et al*., 2012). دانه‌های حنا هم خواب دوگانه فیزیکی و فیزیولوژیک دارند و پس از غلبه بر سختی پوسته، باید در معرض نور قرارگیرند تا جوانه بزنند (Hamidi Moghaddam, 2022).

بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که فاکتورهای محیطی مانند نور، دما و نیترات از طریق تغییر در سطوح هورمون‌هایی مانند آبسیزیک اسید و جیبرلین، جوانه‌زنی دانه را تنظیم می‌کنند (Yan and Chen, 2020). اثر مثبت ترکیبات حاوی نیتروژن مانند تیوره و نمک‌های نیترات بر شکست خواب فیزیولوژیک بذر کما (Amooaghaie, 2007) و قیچ (Amooaghaie, 2014) گزارش شده است. ثابت شده است که نیترات، یک مسیر پیام‌رسانی ویژه را در بذر فعال می‌کند که منجر به کاهش سطح آبسیزیک اسید و افزایش سطح جیبرلین و در نتیجه تحریک جوانه‌زنی دانه می‌شود (Duermeyer *et al*., 2018). یافته‌های اخیر نشان می‌دهد که اثر مثبت کاربرد ترکیبات حاوی نیتروژن مرتبط با نقش آن‌ها در تولید ترکیبات پیام‌رسان مثل نیتریک اکساید (NO) است. نیتریک اکساید یک مولکول پیام‌رسان است که در تنظیم بسیاری از مراحل نموی گیاه از جمله در تحریک جوانه‌زنی دانه نقش دارد. تحقیقات نشان داده است که نیتریک اکساید هم از طریق شیوه‌های غیرآنزیمی و هم با دخالت آنزیم نیترات ردوکتاز از نیترات در دانه‌ها تولید می‌شود (Paul *et al*., 2018). بر اساس یک تئوری پیشنهاد شده است که دانه‌ها هنگام گذر از حالت خواب به جوانه‌زنی از

دو وضعیت ویژه اکسیداتیو و نیتروزاتیو عبور می‌کنند. به عبارت دیگر، تجمع بسیار کم گونه‌های فعال اکسیژنی (مانند پراکسید هیدروژن و آنیون سوپراکسید) و نیتروژنی (مانند نیتریک اکساید) در دانه نقش پیام‌رسانی دارند و بسیاری از فرآیندهای جوانه‌زنی را فعال می‌کند (Bailly *et al*., 2008). نیتریک اکساید در فعال‌شدن مسیرهای مرتبط با اثر جیبرلین و اتیلن در دانه در هنگام جوانه‌زنی بذر تاج خروس *Amaranthus retrofxeus* نقش دارند (Kepczyaski *et al*., 2017). چندین مطالعه نشان داده است که کاربرد نیترات (به‌عنوان سوبسترای آنزیم نیترات ردوکتاز برای ساخت نیتریک اکساید) یا کاربرد سدیم نیتروپروساید (به‌عنوان یک ماده دهنده و آزاد کننده نیتریک اکساید) در شکست خواب و افزایش جوانه‌زنی دانه‌ها نقش دارد (Bethke *et al*., 2006; Liu *et al*., 2011).

نور از طریق فیتوکروم، تراز جیبرلین و آبسیزیک اسید در دانه‌ها را تنظیم می‌کند. معلوم شده است که در دانه‌های فتوپلاستیک مثبت، نور با افزایش نسبت Pfr به Pr بیوسنتز جیبرلین را تحریک می‌کند که این هورمون نیز فرآیندهای متابولیسمی درگیر در جوانه‌زنی دانه را فعال می‌نماید (Yang *et al*., 2020, Tang *et al*., 2008). همچنین گزارش شده است که نور قرمز محتوای آبسیزیک اسید را در دانه‌های در حال آبنوشی کاهو کاهش می‌دهد (Sawada *et al*., 2008). تابش نوع خاصی از نور یعنی لیزر هلیم- نئون بر دانه، جوانه‌زنی و رشد دانه‌رست پنیرباد [Withania somnifera (L.) Dunal]، خارمریم (*Silybum marianum* L)، آفتابگردان *Helianthus annuus* (L.) و مریم گلی (*Salvia officinalis*) را افزایش داد (Banisharif and Amooaghaie, 2020, Thorat *et al*,. 2022; Mardani korrani *et al*., 2022; Perveen *et al*. 2010). احتمالا وقتی دانه تابش لیزری را دریافت می‌کند، انرژی آن را جذب و ذخیره می‌کند و سپس آن را به فرم انرژی شیمیایی تبدیل کرده و برای جوانه‌زنی و رشد دانه‌رست از آن استفاده می‌کند (Hernandez, 2010). ساجاک و همکاران (Sujak *et al*., 2013) بر اساس تشابه اثرات میدان مغناطیسی و لیزر روی جوانه‌زنی دانه‌های سپیدار و شبدر، پیشنهاد کردند که بخشی از اثرات لیزر در بهبود انرژی و ظرفیت جوانه‌زنی را می‌توان به خواص مغناطیسی نور لیزر نسبت داد. علاوه بر این، تابش لیزر فعالیت آنزیم‌های آمیلاز و در نتیجه جوانه‌زنی را در دانه‌های لوبیا سفید و باقلا تحریک کرد و با تحریک تولید برخی از ترکیبات رادیکالی، احتمالا مسیر پیام‌رسانی را فعال کرد که منجر به تولید اکسین و بهبود رشد دانه‌رست این گیاهان شد (Podlesny *et al*., 2011).

با توجه به علاقه روزافزون مردم برای استفاده از اثرات دارویی گیاه مورد و همچنین توجیه اقتصادی کاربرد این گیاه برای ایجاد فضای سبز و جلوگیری از فرسایش خاک، تحقیقات روی تکثیر این گیاه متمرکز شده است. اگر چه اثر تیمارهای مختلف بر شکست خواب فیزیکی دانه‌های مورد در چند مطالعه قبلی بررسی شده است (Akhondi *et al*., 2017 ،Pazhouhan *et al*.. 2017) اما برهمکنش روش‌های خراش‌دهی پوسته با نور لیزر و یا ترکیبات مولد نیتریک اکساید تاکنون مطالعه نشده است. بنابراین، در پژوهش حاضر سعی شد روش‌های نوینی برای دستیابی به حداکثر جوانه‌زنی بذر و استقرار مطلوب دانه‌رست‌های مورد معرفی شود.

مواد و روش‌ها

کلیه آزمایش‌های این تحقیق در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشگاه شهرکرد در سال ۱۳۹۹ اجرا شد. بذرها از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه گردید.

بررسی اثر انواع شیوه‌های خراش‌دهی بر شکست خواب بذر مورد

ابتدا در سه آزمایش جداگانه اثر انواع شیوه‌های خراش‌دهی بر شکست خواب بذر مورد، بررسی شد. هریک از این آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد.

در آزمایش اول، اثر سه تیمار شاهد و خیساندن دانه‌ها به‌مدت ۱۰ و ۲۰ دقیقه در آب داغ ۹۰ درجه سلسیوس بر درصد جوانه‌زنی دانه‌ها، مورد بررسی قرار گرفت. در آزمایش دوم، برای بررسی اثر خراش‌دهی شیمیایی، چهار گروه از دانه‌های مورد در اسید سولفوریک ۷۰ و ۹۰ درصد به‌مدت ۵ و ۱۰ دقیقه، فرو برده شدند. سپس دانه‌های همه تیمارها کاملاً با آب شستشو داده شدند تا اسید اضافی روی آن‌ها از بین برود و در مقایسه با دانه‌های شاهد، میزان جوانه‌زنی آن‌ها روزانه بررسی گردید. در آزمایش سوم، برای بررسی اثر خراش‌دهی مکانیکی، اثر تیمارهای سنباده‌زنی به‌مدت ۵ و ۱۰دقیقه و برش‌زدن با تیغ در مقایسه با دانه‌های دست نخورده (شاهد) بر درصد جوانه‌زنی دانه ارزیابی شد.

در هر آزمایش پس از اعمال تیمارها، ۳۰ عدد از دانه‌های تیمار شده و یا دانه‌های شاهد به پتری‌دیش‌هایی که کف آن‌ها کاغذ صافی گذاشته شده بود، منتقل و تعداد دانه‌های جوانه‌زده به‌طور روزانه یادداشت شد تا زمانی که میزان جوانه‌زنی در آن‌ها ثابت گردید. دانه‌ها با ریشه در حد دو میلی‌متری، جوانه‌زده در نظر گرفته شدند. درصد جوانه‌زنی بذور از رابطه زیر محاسبه شد.

$$PG=100(n/N)$$ (رابطه ۱)

که در این رابطه n تعداد بذرهای جوانه‌زده و N تعداد کل بذرهای کشت شده می‌باشد.

بررسی اثر شیوه‌های مختلف خراش‌دهی و انواع نور بر جوانه‌زنی دانه مورد

نتایج سه آزمایش مقدماتی نشان داد که پنج دقیقه خیساندن در اسید سولفوریک ۹۰ درصد، ده دقیقه سنباده-زنی، خراش‌دهی با تیغ و ۲۰ دقیقه خیساندن در آب داغ، بهترین نتایج را برای افزایش جوانه‌زنی دانه‌های مورد داشتند. لذا آزمایش چهارم به‌صورت یک آزمایش فاکتوریل دو عاملی در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار اجرا شد و اثر متقابل شیوه‌های مختلف خراش‌دهی بذر در پنج سطح (شاهد، اسید، سنباده، تیغ و آب داغ) و چهار سطح تیمار نوری (تاریکی، نور معمولی و نور قرمز و تیمار با لیزر هلیم-نئون) بررسی گردید. برای اعمال اثر تاریکی پس از انتقال بذرهای شاهد (دست نخورده) و بذرهای خراش‌دهی شده به شیوه‌های فوق به پتری‌دیش‌ها، سطح پتری‌ها با فویل آلومینیوم پوشانده شدند تا دانه‌ها نور را دریافت نکنند. برای پیش‌تیمار با لیزر نیز بذرهای شاهد و خراش‌دهی شده ابتدا تحت نور لیزر هلیم – نئون با توان ۱۰ میلی‌وات به‌مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند. برای پیش‌تیمار نور قرمز از یک لامپ با نور قرمز استفاده شد. پس از آن، بذرها به پتری‌دیش‌های حاوی کاغذ صافی مرطوب منتقل و تحت نور معمولی قرار داده شدند و جوانه‌زنی آن‌ها در روز بیستم بررسی شد.

بررسی اثر شیوه‌های مختلف خراش‌دهی و ترکیبات حاوی نیتروژن بر جوانه‌زنی و رشد دانه‌رست

در آزمایش پنجم اثر متقابل پنج نوع خراش‌دهی (شاهد، اسید، سنباده، تیغ و آب داغ) و پنج سطح از ترکیبات حاوی نیتروژن (شاهد، ۰/۲ و ۰/۵ درصد نیترات پتاسیم و ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید) در یک آزمایش فاکتوریل دو عاملی با طرح کاملا تصادفی بررسی شد.

ابتدا دانه‌ها به‌وسیله پنج دقیقه خیساندن در اسید سولفوریک ۹۰ درصد، ده دقیقه سنباده‌زنی، خراش‌دهی با تیغ و ۲۰ دقیقه خیساندن در آب داغ خراش‌دهی شدند. سپس این دانه‌ها همراه با دانه‌های شاهد (دانه‌های دست نخورده) به‌مدت ۱۲ ساعت در آب یا محلول‌های نیترات پتاسیم ۰/۲ و ۰/۵ درصد و همچنین محلول ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید فرو برده شدند. سپس دانه‌ها به پتری‌دیش‌های حاوی کاغذ صافی مرطوب منتقل و به‌مدت ۲۰ روز جوانه‌زنی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت و درصد جوانه‌زنی نهایی در روز بیستم و طول دانه‌رست‌ها در همه تیمارها تعیین شد و مطابق رابطه ۲ از حاصل‌ضرب آن‌ها، بنیه بذر محاسبه گردید.

بنیه بذر = درصد جوانه‌زنی نهایی× طول کل دانه‌رست (رابطه ۲)

آنالیز آماری

در این پژوهش، سه آزمایش مقدماتی با طرح کاملا تصادفی و دو آزمایش بعدی به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی اجرا گردید. همه آزمایش‌ها شامل سه تکرار بود و هر پتری‌دیش حاوی ۳۰ دانه به‌عنوان یک تکرار در نظر گرفته شد و در نهایت آنالیز واریانس با نرم‌افزار SPSS و مقایسه میانگین، با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن انجام شد. نمودارها با نرم‌افزار اکسل رسم شد.

نتایج و بحث

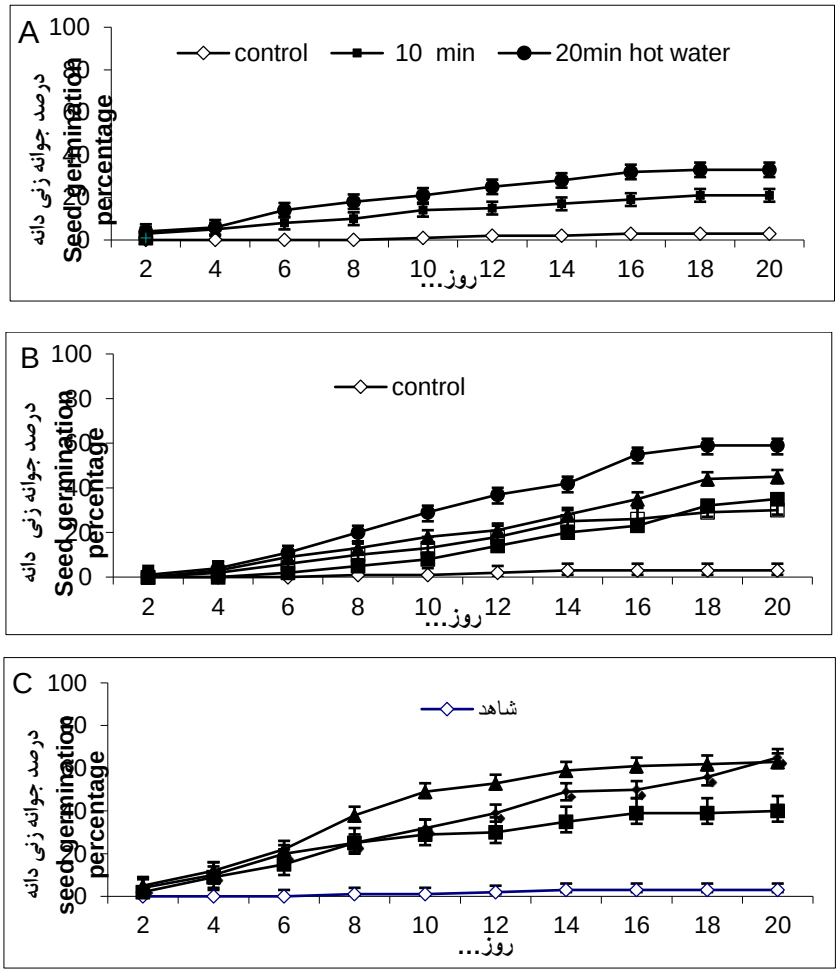
اثر شیوه‌های مختلف خراش‌دهی بر شکست خواب بذر

نتایج تجزیه واریانس سه آزمایش مقدماتی نشان داد که اثر مدت زمان‌های خیساندن در آب داغ، سطوح مختلف کاربرد اسید سولفوریک و همچنین اثر تیمارهای مکانیکی، بر شکست خواب بذر مورد در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج سه آزمایش مقدماتی نشان داد که بذرهای بدون خراش‌دهی (شاهد) در طی ۲۰ روز کم‌تر از ۳ درصد جوانه‌زنی داشتند، اما انواع شیوه‌های خراش‌دهی، جوانه‌زنی آن‌ها را در حد معنی‌داری افزایش داد (شکل۱) که نشان می‌دهد بخشی از خواب دانه مورد از نوع خواب فیزیکی است.

جدول ۱- تجزیه واریانس سه آزمایش مقدماتی اثر انواع شیوه‌های خراش‌دهی بر درصد جوانه‌زنی نهایی دانه‌های مورد
Table 1. The analysis of variance for 3 preliminary experiments concerning the effect of various scarification methods on final germination percentage of myrtle seeds

شماره آزمایش Exp. No	منبع تغییرات Variation source	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squer	خطا Error	درجه آزادی خطا df for error	ضریب تغییرات C.V.
آزمایش اول Exp. 1	تیمارهای آب داغ Hot water treatments	2	162.7**	12.03	6	7.39
آزمایش دوم Exp. 2	تیمارهای اسید سولفوریک sulfuric acid treatments	4	501.3**	8.79	10	1.75
آزمایش سوم Exp. 3	تیمارهای مکانیکی Mechanical treatments	3	413.2**	10.51	8	2.54

** معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد
** shows significant differences at 1% probability level



شکل ۱- اثر تیمار با آب داغ به مدت ۱۰ و ۲۰ دقیقه (A)، خراش‌دهی شیمیایی با اسید سولفوریک ۷۰ و ۹۰ درصد به مدت ۵ و ۱۰ دقیقه (B) و خراش‌دهی مکانیکی با تیغ و سنباده‌زنی به مدت ۵ و ۱۰ دقیقه (C) بر درصد جوانه‌زنی بذر مورد در مدت ۲۰ روز

Figure 1. The effect of soaking in hot water for 10 and 20 min (A), chemical scarification by sulfuric acid 70, 90 % for 5 and 10 min (B) and physical scarification by blade or sand paper for 5 and 10 min (C) on germination of myrtle seeds during 20 days

نتایج آزمایش اول نشان داد که در بین تیمارهای مختلف با آب داغ، خیساندن به‌مدت ۲۰ دقیقه بیش‌ترین اثر را داشت و جوانه‌زنی نهایی را به ۳۳ درصد رساند که تا حد زیادی کم‌تر از سایر روش‌های خراش‌دهی بود (شکل۱-A). این نشان می‌دهد که خواب دانه بیش‌تر مکانیکی بوده و کم‌تر می‌رسد تیمار با آب داغ برای غلبه کامل بر سختی پوسته

به وجود مواد بازدارنده در پوسته مرتبط است. به‌نظر دانه مورد، کافی نبود. بر اساس نتایج آزمایش دوم، در بین سطوح مختلف تیمار با اسید سولفوریک، خراش‌دهی با اسید ۹۰درصد به‌مدت ۵ دقیقه بیش‌ترین تأثیر را نشان داد که درصد جوانه‌زنی در روز بیستم را به ۵۹ درصد رسانید. اما خراش‌دهی با اسید سولفوریک ۹۰ درصد به‌مدت ۱۰ دقیقه نسبت به سایر تیمارهای اسید درصد جوانه‌زنی بذر مورد را کاهش داد (شکل ۱-B) که نشان‌دهنده اثر منفی این غلظت اسید بر بذر مورد است. مشابه با این نتایج، تیمار با اسید سولفوریک ۹۸ درصد به‌مدت ۱۰ دقیقه، درصد و سرعت جوانه‌زنی بذور حنا (*Lawsonia inermis* L.) را افزایش داد، اما این تیمار در زمان طولانی‌تر (یعنی ۱۵ و ۲۰ دقیقه) نه تنها سرعت جوانه‌زنی را کاهش داد، بلکه منجر به بروز آثار سوختگی در گیاهچه‌های مربوطه شد (Hamidi Moghaddam 2022).

در آزمایش سوم، حداکثرجوانه‌زنی در بین تیمارها برای بذرهای ۱۰ دقیقه سنباده‌زده و خراش‌دهی شده با تیغ به‌دست آمد که به‌ترتیب معادل ۶۳ و ۶۵ درصد بود (شکل ۱-C). بنابراین، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که خواب بذر در گیاه مورد عمدتا از نوع خواب فیزیکی و مربوط به سختی پوسته است. مشابه با نتایج این پژوهش، آخوندی و همکاران (Akhondi *et al.* 2017) نیز اعلام کردند خواب دانه مورد از نوع خواب فیزیکی است وخراش‌دهی شیمیایی با اسید سولفوریک همانند خراش‌دهی مکانیکی با سنباده، جوانه‌زنی بذر مورد را تحریک کرد. اما استقرار و رشد دانه‌رست‌های حاصل از تیمار سنباده‌زنی بهتر از تیمار با اسید سولفوریک بود و تیمار خراش‌دهی شیمیایی، اثرات منفی بر رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه داشت. در خراش‌دهی بذر با اسید، تعیین زمان مناسب برای فرو بردن در اسید دشوار است. ممکن است ضخامت پوسته دانه‌ها با هم فرق داشته باشد یا برخی از آن‌ها ترک خورده باشند که این باعث می‌شود نفوذ اسید در برخی دانه‌ها بیش از حد باشد و معمولاً نفوذ اسید به داخل دانه بیش‌تر به رویان دانه آسیب می‌رساند. در این تحقیق نیز، رشد دانه‌رست‌های حاصل از دانه‌های خراش‌دهی شده با اسید ضعیف‌تر از دانه‌های خراش‌دهی شده با تیغ و سنباده بود که نتایج آن در آزمایش بعد آمده است (شکل ۴).

اثر شیوه‌های مختلف خراش‌دهی و انواع نور بر جوانه‌زنی دانه مورد

بر طبق نتایج تجزیه واریانس اثر شیوه‌های خراش‌دهی و تیمار نوری و همچنین اثر متقابل شیوه‌های خراش‌دهی × نور بر درصد جوانه‌زنی بذر، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر انواع نور و شیوه‌های خراش‌دهی بر درصد جوانه‌زنی نهایی بذر مورد

Table 1. The analysis of variance related to the effect of ligh types and various scarification methods on final germination percentage of myrtle seeds

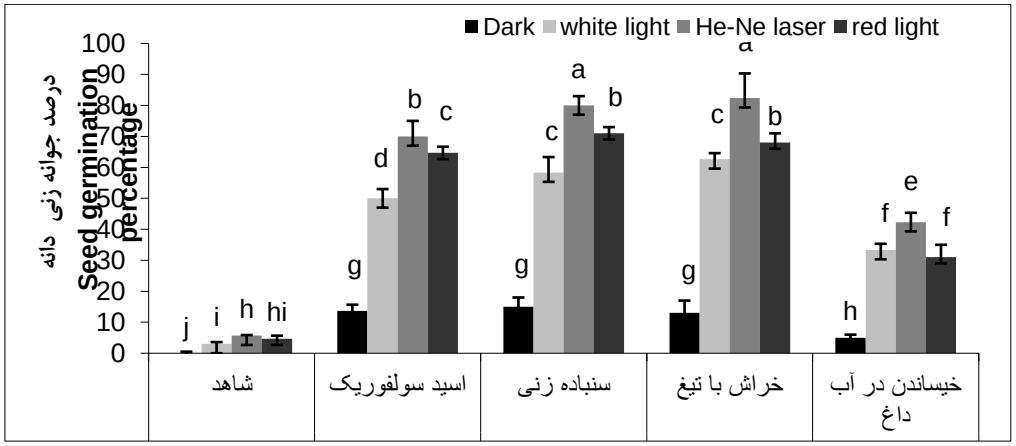
منبع تغییرات Variation source	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی دانه Seed germination percentage
نور Light types	3	510.378**
شیوه‌های خراش‌دهی Scarification methods	4	8968.733**
نور × شیوه‌های خراش‌دهی L*S	12	85.253**
خطا Error	40	4.127
ضریب تغییرات C.V		6.41

** معنی‌دار در سطح احتمال۱ درصد

** shows significant differences at 1% probability level

نتایج آزمایش چهارم (شکل ۲) نشان داد که بذرهای مورد هم در گروه شاهد (خراش‌دهی نشده) و هم بذرهای خراش‌دهی شده با اسید سولفوریک، تیغ، سنباده و آب داغ، در تاریکی کم‌تر جوانه زده و زمانی که در معرض انواع تیمارهای نوری قرار گرفتند جوانه‌زنی آن‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. دانه‌های خراش‌دهی‌شده با اسید سولفوریک در تاریکی حدود ۱۳ درصد جوانه زدند، اما در برابر نور معمولی، نور لیزر و نور قرمز به‌ترتیب ۵۰، ۷۰ و ۶۴

درصد جوانه زدند. روند مشابهی در دانه‌های خراش‌دهی‌شده با سنباده، تیغ و آب داغ نیز به‌دست آمد (شکل ۲). این نتایج نشان می‌دهد که بذر مورد از جمله بذرهای فتوپلاستیک مثبت می‌باشد. با توجه به این‌که نور قرمز هم سطح و یا حتی در برخی از موارد بیش از نور سفید معمولی در جوانه‌زنی بذرهای خراش‌دهی شده موثر بود (شکل ۲)، می‌توان پیشنهاد کرد که احتمالاً نور از طریق فعال‌کردن فیتوکروم، در راه‌اندازی فرآیند جوانه‌زنی بذرهای مورد نقش دارد. بن ونوتی و ماچیا (Benvenuti and Machia 2001) هم گزارش کردند نور برای جوانه‌زنی دانه‌های مورد، لازم است و نور قرمز و مادون قرمز به‌ترتیب اثر مثبت و منفی در تحریک جوانه‌زنی دانه‌های مورد دارد. بنابراین، پیشنهاد کردند که دانه مورد، یک دانه فتوبلاستیک مثبت است که فیتوکروم در تنظیم خواب و جوانه‌زنی آن نقش دارد. حمیدی مقدم (Hamidi Moghaddam 2022) نیز گزارش کرد که دانه‌های حنا فتوپلاستیک مثبت بوده و تاریکی جوانه‌زنی بذر و حتی رشد گیاهچه حاصل را بسیار کاهش می‌دهد. مطالعه آن و همکاران (An *et al.*, 2019) هم نشان داد نور از طریق راه‌اندازی مسیرهای پیام‌رسانی مرتبط با نیتریک اکساید و یا محصولات عمل فسفولیپاز D، جوانه‌زنی دانه‌های فتوبلاستیک مثبت کاهو را تحریک می‌کند.



شکل ۲- اثر تاریکی، نور معمولی، لیزر هلیم-نئون و نور قرمز بر درصد جوانه‌زنی دانه‌های خراش‌دهی شده مورد به‌وسیله تیمار با اسید سولفوریک، سنباده، تیغ و آب داغ

ستون‌های دارای حروف مشترک بر طبق آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

Figure 2. The effect of dark, white light, red light and He-Ne laser on germination of myrtle seeds scarified by sulfuric acid, sand paper, blade and hot water

The same letters indicate non-significant differences between treatments according to Duncan's multiple range tests at P<0.05.

در همه دانه‌های خراش‌دهی شده با آب داغ، اسید، تیغ و سنباده، اثر پیش‌تیمار با نور لیزر هلیم- نئون (He-Ne) بسیار بهتر از پیش‌تیمار بذر با نور معمولی یا نور قرمز بود (شکل ۲). به‌نظر می‌رسد که بخشی از اثرات لیزر به ماهیت نور لیزر و تفاوت سطح انرژی آن با نور معمولی یا نور قرمز برمی‌گردد. برخی منابع گزارش کرده‌اند که لیزر انرژی درونی دانه را بیش‌تر افزایش می‌دهد و موجب تقویت بنیه رویان و در نتیجه غلبه بر مقاومت مکانیکی پوسته می‌شود. بررسی اثر لیزر روی جوانه‌زنی و رشد دانه‌رست *Scorzonera hispanica*نشان داد که بذرهای این گیاه دارای دامنه گسترده‌ای از درصد جوانه‌زنی (بین ۵۰ تا ۹۳ درصد) هستند و پیش‌تیمار دانه‌ها با لیزر هلیم - نئون با قدرت ۳ میلی‌ولت در سانتی‌متر مربع موجب افزایش انرژی جوانه‌زنی، ظرفیت و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه و هیپوکوتیل و وزن تر و خشک دانه‌رست شد که این اثرات در دانه‌هایی که ظرفیت جوانه‌زنی اولیه کم‌تری (۵۰ درصد) داشتند، مشهودتر بود (Krawiec *et al.*, 2015).

با توجه به این‌که طول موج نور لیزر هلیم- نئون ۶۳۲/۴ نانومتر است که نزدیک به طول موج نور قرمزمی‌باشد، احتمالا می‌توان بخشی از اثرات نور لیزر را به همان فعال‌شدن فیتوکروم و راه‌اندازی مسیر پیام‌رسانی وابسته به آن برای تحریک جوانه‌زنی نسبت داد. علاوه بر این شواهد جدید نشان می‌دهند که اگر چه میزان بالای گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مخرب هستند اما مقادیر کم آن‌ها به منزله

مولکول‌های سیگنالی عمل می‌کنند و در راه‌اندازی بسیاری از فرآیندهای رشد و نموی از جمله جوانه‌زنی بذر و شکست خواب درگیر هستند (Bailly *et al.*, 2008). در یک تحقیق، نور لیزر به‌دلیل سطح بالای انرژی فتوشیمیایی موجب تولید سطح کمی از گونه‌های فعال اکسیژنی مانند پراکسید هیدروژن به‌عنوان مولکول‌های پیام‌رسان در دانه‌ها شد و همچنین نور لیزر بیان ژن فیتوکروم در دانه مریم‌گلی را افزایش داد و فعال‌شدن مسیرهای پیام‌رسانی وابسته به پراکسید هیدروژن و فیتوکروم موجب افزایش فعالیت آلفا آمیلاز و بهبود جوانه‌زنی دانه این گیاه شد (Mardani Korrani *et al.*, 2022).

اثر شیوه‌های مختلف خراش‌دهی و ترکیبات حاوی نیتروژن بر جوانه‌زنی بذر و رشد دانه‌رست مورد

آنالیز واریانس نشان داد که اثر شیوه‌های مختلف خراش‌دهی و همچنین سطوح مختلف ترکیبات حاوی نیتروژن و اثر متقابل آن‌ها بر درصد جوانه‌زنی، طول دانه-رست و بنیه بذر مورد در سطح یک درصد معنی‌دار است (جدول ۳).

نتایج آزمایش پنجم نشان داد که تیمار با نیترات پتاسیم و سدیم نیتروپروساید (به‌عنوان یک ترکیب رهاکننده نیتریک اکساید در سلول) اثر معنی‌داری بر جوانه‌زنی بذرهای خراش‌دهی نشده نداشت، اما در بذرهای خراش-دهی شده با اسید سولفوریک، سنباده، تیغ و آب داغ، این تیمارها درصد جوانه‌زنی را در حد معنی‌داری تحت تأثیر قرار داد (شکل ۳).

بر خلاف این نتایج، آخوندی و همکاران (Akhondi *et al.*, 2017) گزارش کردند که تیمار بذرهای خراش‌دهی نشده مورد با نیترات پتاسیم شش درصد، سرعت و درصد جوانه‌زنی دانه‌ها و طول ریشه‌چه و ساقه‌چه را افزایش داد. لظت ۰/۵ درصد نیترات پتاسیم و غلظت ۱۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید بیش‌ترین اثر مثبت را بر درصد جوانه-زنی بذرهای خراش‌دهی شده داشت و جوانه‌زنی بذرهای خراش‌دهی‌شده با سنباده یا تیغ را به ۸۰ تا ۸۵ درصد رساند (شکل ۳). مشابه با نتایج ما، وقتی دانه‌های سورگم علوفه‌ای پس از ۲۴ ساعت خیساندن در آب و یا ۶ دقیقه تیمار با اسید سولفوریک، با محلول نیترات پتاسیم تیمار شدند، درصد جوانه‌زنی تا حد ۹۴ درصد افزایش یافت (Shanmugavalli, 2007).

همان‌طور که در شکل ۴ و ۵ مشاهده می‌شود تیمار با غلظت ۰/۵ درصد نیترات و ۱۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید بر طول و بنیه دانه‌رست‌های رشدیافته از دانه-های خراش‌دهی‌شده با اسید سولفوریک، سنباده، تیغ و آب داغ و حتی در اندک دانه‌رست‌های حاصل از دانه‌های خراش‌دهی‌نشده نیز اثر مثبت و معنی‌داری داشت. بیش-ترین طول دانه‌رست و بنیه بذر در دانه‌های سنباده‌زده و تیمار شده با نیترات ۰/۵ درصد معادل ۲۱/۶ میلی‌متر و همچنین در دانه‌های خراشیده با تیغ و تیمار شده با ۱۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید به‌دست آمد

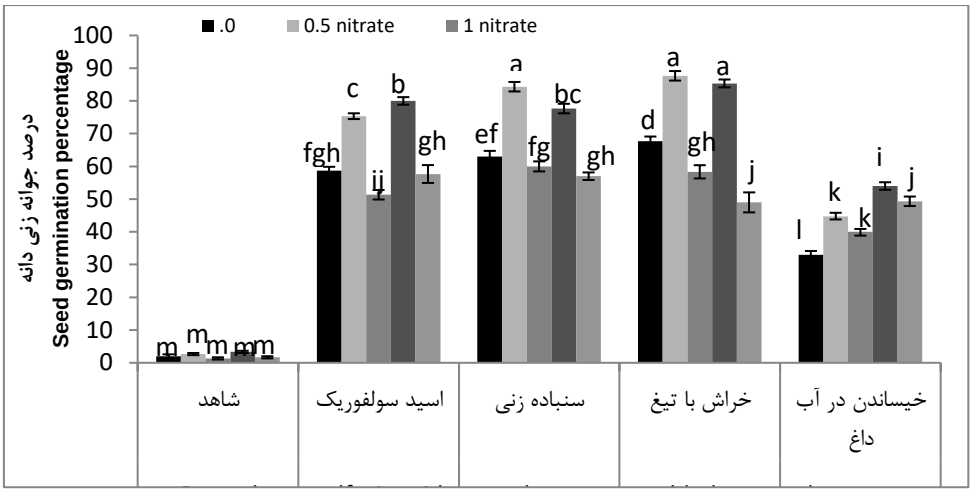
جدول ۳-آنالیز واریانس اثر ترکیبات حاوی نیتروژن و شیوه‌های خراش‌دهی بر جوانه‌زنی، طول دانه‌رست و بنیه بذر

Table 1. The analysis of variance related to the effect of nitrogenous compounds and various scarification methods on seed germination, vigor and seedling length of myrtle seedling

منبع تغییرات Variation source	درجه آزادی df	میانگین مربعات		
		درصد جوانه‌زنی دانه Seed germination percentage	طول دانه‌رست Seedling length	بنیه بذر Seed vigor
ترکیبات حاوی نیتروژن Nitrogenous compounds	4	1430.087**	84.287**	1368776.801**
شیوه‌های خراش‌دهی Scarification methods	4	12257.820**	220.213**	3852345.354**
ترکیبات حاوی نیتروژن ×شیوه‌های خراش‌دهی N*S	16	175.487**	8.329**	131772.494**
خطا Error	50	6.093	0.587	4521.275
ضریب تغییرات C.V		5.99	3.16	6.95

** معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

** shows significant differences at 1% probability level



شکل ۳- اثر ترکیبات مختلف حاوی نیتروژن (۰/۵ و ۱ درصد نیترات – ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید) بر جوانه-زنی دانه‌های مورد خراش‌دهی شده با اسید سولفوریک، سنباده، تیغ و آب داغ

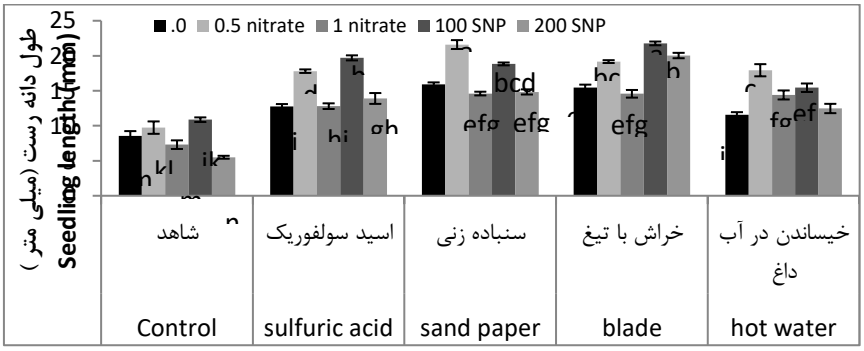
ستون‌های دارای حروف مشترک بر طبق آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

Figure 3. The effect of nitrogenous compounds (0.5, 1% KNO_3 and 100, 200 µM SNP) on germination of myrtle seeds scarified by sulfuric acid, sand paper, blade and hot water

The same letters indicate non-significant differences between treatments according to Duncan's multiple range tests at <0.05.

به‌طور مشابهی، پژوهان و همکاران (Pazhouhan *et al.*, 2017) گزارش کردند که تیمار با نیترات پتاسیم ۰/۲ درصد نه تنها تاثیر مثبتی بر درصد و سرعت جوانه‌زنی و بنیه بذر مورد داشت، بلکه طول و وزن گیاهچه مورد را نیز در حد قابل توجهی افزایش داد. نیترات ممکن است از طریق اسیدی‌کردن دیواره‌های سلول‌ها و یا به‌وسیله فعال کردن مسیر پنتوز فسفات به شکست خواب دانه کمک نماید. در بذور دارای خواب، تجمع NADPH و سرعت کم اکسیداسیون آن به‌عنوان یک عامل محدود کننده برای فعالیت مسیر پنتوز فسفات عمل می‌کند و همین محدودیت از جوانه‌زنی بذر جلوگیری می‌کند. احتمالا نیترات با فعال-کردن پراکسیدازها یا مسیر شکست آبسیزیک اسید، زمینه اکسیداسیون NADPH را فراهم کرده و در نتیجه $NADP^+$ لازم برای تحریک فعالیت چرخه پنتوز فسفات را در دانه‌ها فراهم می‌کند. علاوه بر آن گزارش شده است که نیترات بیان برخی از ژن‌های کدکننده آنزیم‌های مسیر پنتوز فسفات را القا می‌کند (Bewely *et al.*, 2013).

معلوم شده است که نیترات با فعال‌کردن تولید نیتریک اکساید در بذر عمل می‌کند و نیتریک اکساید با تنظیم سطح جیبرلین و آبسیزیک اسید در جوانه‌زنی دانه نقش دارند.

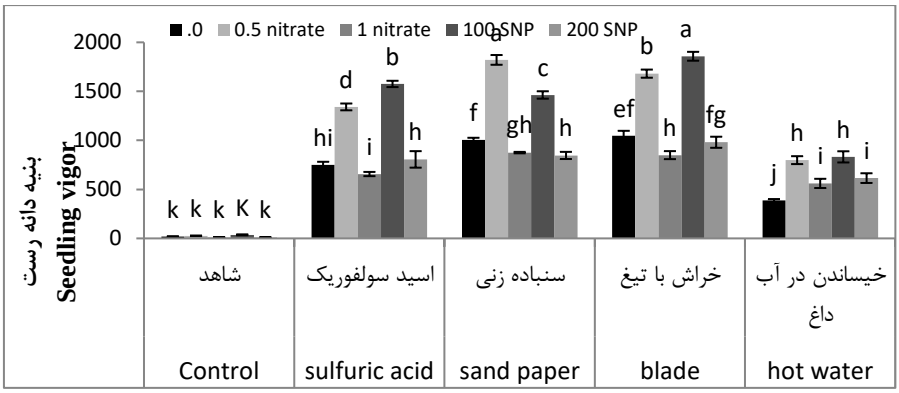


شکل ۴- اثر ترکیبات مختلف حاوی نیتروژن (۰/۵ و ۱ درصد نیترات – ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید) بر طول دانه‌رست رشد یافته از دانه‌های مورد خراش‌دهی شده با اسید سولفوریک، سنباده، تیغ و آب داغ

ستون‌های دارای حروف مشترک بر طبق آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

Figure 4. The effect of nitrogenous compounds (0.5, 1% KNO_3 and 100, 200 µM SNP) on length of myrtle seedlings grown from seeds scarified by sulfuric acid, sand paper, blade and hot water

The same letters indicate non-significant differences between treatments according to Duncan's multiple range tests at P<0.05.



شکل ۵- اثر ترکیبات حاوی نیتروژن (۰/۵ و ۱ درصد نیترات – ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید) بر بنیه دانه‌رست-های حاصل از دانه‌های مورد خراش‌دهی شده با اسید سولفوریک، سنباده، تیغ و آب داغ

ستون‌های دارای حروف مشترک بر طبق آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند

Figure 4. The effect of nitrogenous compounds (0.5, 1% KNO_3 and 100, 200 µM SNP) on vigor of myrtle seedlings grown from seeds scarified by sulfuric acid, sand paper, blade and hot water

The same letters indicate non-significant differences between treatments according to Duncan's multiple range tests at P<0.05.

ثابت شده است که تیمار با نیتریک اکساید به‌عنوان یک مولکول پیام‌رسان کاتابولیسم آبسیزیک اسید را افزایش می‌دهد و کاهش محتوای آبسیزیک اسید منجر به شکست خواب دانه می‌شود (Yan and Chen 2020). با توجه به این‌که کاربرد غلظت ۱۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید به‌عنوان یک دهنده نیتریک اکساید هم اثر معنی‌داری در افزایش درصد جوانه‌زنی و رشد و بنیه دانه‌رست مورد داشت (شکل ۳ تا ۵)، این فرضیه که نیترات با افزایش سطح مولکول پیام‌رسان نیتریک اکساید عمل کرده است، محتمل است. خواب فیزیولوژیک دانه‌های *Paulownia elongata* هم با کاربرد سدیم نیتروپروساید شکسته شد (Liu *et al.*, 2019). همچنین کاربرد سدیم نیتروپروساید (SNP) به عنوان ترکیب رهاکننده نیتریک اکساید با تغییر بیان ژن، سطح آبسزیک اسید در دانه سیب را کاهش داد و همین امر منجر به شکست خواب بذر و تحریک جوانه‌زنی دانه شد (Andryka-Dudek *et al.*, 2019).

به هر حال غلظت یک درصد نیترات و ۲۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید نسبت به غلظت نیم درصد نیترات و ۱۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید اثر کم‌تری بر درصد جوانه‌زنی و رشد و بنیه دانه‌رست مورد داشت و حتی در برخی موارد درصد جوانه‌زنی را به حد کم‌تر از شاهد هر گروه رساند (شکل۳ تا ۵) که احتمالا به‌دلیل تولید زیاد نیتریک اکساید در داخل سلول‌های بذر و ایجاد تنش نیتروزاتیو است. عموآقایی و ولی‌وند (Amooaghaie and Valivand 2015) هم گزارش کردند که غلظت‌های ۰/۲ درصد نیترات پتاسیم یا ۰/۵ درصد تیوره اثر مثبت، اما غلظت‌های ۰/۶ درصد نیترات پتاسیم یا ۵ درصد تیوره اثر منفی بر جوانه‌زنی بذر و رشد دانه‌رست کرفس کوهی داشتند. مطالعه دیگری نشان داد که در غلظت‌های کم نیترات، مقادیر محدود نیتریک اکساید تولید شده به‌عنوان یک سیگنال عمل می‌کند و توازن هورمونی مناسب را در دانه برقرار می‌کند و مسیرهای متابولیسمی مورد نیاز برای جوانه‌زنی دانه را فعال می‌نماید. اما تولید سطوح بالای این مولکول پیام‌رسان در غلظت‌های زیاد نیترات، باعث تنش نیتروزاتیو شده و با تخریب بسیاری از بیومولکول‌ها در سلول، موجب ممانعت از جوانه‌زنی بذر و رشد دانه‌رست می‌شود (Bethke *et al.*, 2006).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد که دانه‌های مورد یک خواب ترکیبی شامل خواب فیزیکی و فیزیولوژیک دارند که می-تواند با انواع روش‌های خراش‌دهی و سپس تیمار با نور یا ترکیبات حاوی نیتروژن شکسته شود. بیش‌ترین جوانه‌زنی و رشد بعدی دانه‌رست با سنباده‌زدن و سپس تیمار با سدیم نیتروپروساید یا تابش لیزر هلیم- نئون به‌دست آمد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از دانشگاه شهرکرد برای پشتیبانی مالی این پژوهش در قالب پایان‌نامه کارشناسی ارشد سپاسگزاری می‌شود.

منابع

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 Science and Technology, 5(2):1-7 (In Persian) **(Journal)**

Alvandian, S., Vahedi, A., Taghizadeh, R. (2013). The study on the effect of ultrasonic waves on seed germination in *Myrtus communis* L. Seed Research (J. Seed Sci and Technology), 3(3), 21-31. (In Persian) **(Journal)**

Amooaghaie, R. 2007.The effect of moist chilling, temperature and nitrogenous compounds on germination of *Ferula ovina* seeds. Journal of Agricultural science and sustainable production, 16(2): 159-169 (In Persian) **(Journal)**

Amooaghaie, R. 2014. The effect of some hormones and nitrogenous compounds on capacity, velocity and synchrony of germination of *Zygophyllum atriplicoides* seeds under salinity stress. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), 24(4):465-475(In Persian) **(Journal)**

Amooaghaie, R. and Valivand, M. 2015. The effect of duration of moist chilling, concentration, type and application time nitrogen compounds on seed germination and seedling growth of *Kelussia odoratissima* Mozaff. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), 27:465-477 (In Persian) **(Journal)**

An, Z.F., Zhou, C. and Zhou, J. 2017. Light induces lettuce seed germination through promoting nitric oxide production and phospholipase D-derived phosphatidic acid formation. South African Journal of Botany, 108: 416-422. **(Journal)**

Andryka-Dudek, P., Ciacka, K., Wiśniewska, A., Bogatek, R. and Agnieszka, G. 2019. Nitric oxide-induced dormancy removal of apple embryos is linked to alterations in expression of genes encoding ABA and JA biosynthetic or transduction pathways and RNA nitration. International Journal of Molecular Sciences, 20(5): 1007. **(Journal)**

Bailly, C., El-Maarouf-Bouteau, H. and Corbineau, F. 2008. From intracellular signaling networks to cell death: the dual role of reactive oxygen species in seed physiology. Comptes Rendus Biologies, 331: 806–814. **(Journal)**

Banisharif, A. and Amooaghaie, R. 2020.The effect of laser pretreatment on seed germination indices and α-amylase activity and growth of *Silybum marianum* L. seedling in normal condition and under Pb stress. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), 27:465-477(In Persian) **(Journal)**

Baskin, J.M. and Baskin, C.C. 2021. The great diversity in kinds of seed dormancy: a revision of the Nikolaeva–Baskin classification system for primary seed dormancy. Seed Science Research, 31(4):249-277**(Journal)**

Beardsell, D.V., Knox, R.B. and Williams, E.G. 1993. Germination of seeds from the fruits of *Thryptomene calycina* (Myrtaceae). Australian Journal of Botany, 41(2): 263–273 **(Journal)**

Benvenuti. S. and Macchia, M. 2001. Dormancy and germination in *Myrtus communis* L. seeds. Agr. Med. 131: 77-81**(Journal)**

Bethke, P.C., Libourel, I.G., Reinohl, V. and Jones, R.L. 2006. Sodium nitroprusside, cyanide, nitrite, and nitrate break *Arabidopsis* seed dormancy in a nitric oxide-dependent manner. Planta, 223: 805–812. **(Journal)**

Bewley, J.D., Bradford, K.J., Hillhorst, H.W.M. and Nonogaki, H. 2013. Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy, New York: Springer-Verlag **(Book)**

Duermeyer, L., Khodapanahi, E., Yan, D., Krapp, A., Rothstein, S.J. and Nambara, E. 2018. Regulation of seed dormancy and germination by nitrate. Seed Science Research, 1–8 **(Journal)**

Ghadamyari, Sh., Mozafari, J., Sokhandan Bashir, N.,Mosavi, L., Rakhshandehroo, F. 2012. Synergistic effects of mechanical and chemical treatments on seed germination of Jimsonweed (*Datura stramonium* L.). Iranian Journal of Biology, 24(6): 809-817 (In Persian) **(Journal)**

Hamidi Moghaddam, A. 2022. Effect of mechanical and chemical treatments on germination characteristic, total phenolic compound and enzyme activity of henna seeds (*Lawsonia inermis* L.). Iranian Journal of Seed Science and Research, 8(4): 397-411(In Persian) **(Journal)**

Hernandez, A., Dominguez, P., Cruz, O., Ivanov, R., Carballo, C. and Zepeda, B., 2010. Laser in agriculture. International Agrophysic, 24: 407-422 **(Journal)**

Kępczyński, J., Cembrowska-Lech, D. and Sznigir, P. 2017. Interplay between nitric oxide, ethylene, and gibberellic acid regulating the release of *Amaranthus retroflexus* seed dormancy. Acta Physiol Plant, 39: 254 **(Journal)**

Krawiec, M., Dziwulska-Hunek, A., Sujak, A. and Palonka, S. 2015. Laser irradiation effects on scorzonera (*Scorzonera hispanica* L.) seed germination and seedling emergence. Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus, 14(2): 145-158**(Journal)**

Liu, J., Xue, T. and Shen, Y. 2019. Effect of Nitric oxide on seed germination and dormancy in empress trees. HortTechnology, **(Journal)**

Liu, X.Y., Deng, Z.J., Cheng, H.Y. and Song, S.Q. 2011. Nitrite, sodium nitroprusside, potassium ferricyanide and hydrogen peroxide release dormancy of *Amaranthus retroflexus* seeds in a nitric oxide-dependent manner. Journal of Plant Growth Regulation, 64: 155–161. **(Journal)**

Mardani Korrani, F., Amooaghaie, R. and Ahadi, A. 2022. He–Ne laser enhances seed germination and salt acclimation in *Salvia officinalis* seedlings in a manner dependent on phytochrome and H_2O_2. Protoplasma, 260(1):103-116 **(Journal)**

Paul, C., Bethke Igor, G., Liboure, L. and Russell L. Jones. 2018. Nitric oxide in seed dormancy and germination. Annual Plant Reviews book series, Volume 27: Seed Development, Dormancy and Germination https://doi.org/10.1002/9781119312994.apr0281

Pazhouhan I, Jalali S.Gh.A., Atabati H., Zarafshar M. and Sattarian A. 2017. Comparison of carbon nanotubes with chemical and physical treatments to break seed dormancy of *Myrtus communis*.L. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), 29 (2): 300-308 (In Persian) **(Journal)**

Perveen, R., Ali, Q., Ashraf, M., Al-Qurainy, F., Jamil, Y. and Ahmad M.R. 2010. Effects of different doses of low power continuous wave He-Ne laser radiation on some seed thermodynamic and germination parameters, and potential enzymes involved in seed germination of sunflower (*Helianthus annuus* L.), Photochemistry and Photobiology, 86: 1050-1055, 2010. **(Journal)**

Podles´ny, J., Stochmal, A., Podles´na, A. and Misiak, L.E. 2012. Effect of laser light treatment on some biochemical and physiological processes in seeds and seedlings of white lupine and faba bean. Plant Growth Regul, 67:227–233. **(Journal)**

Santos, C.C., Santos S.V., Pinto F., Dresch D.M., Scalon, S.P.Q. and Torales, E.P. 2022. Dormancy overcoming in seeds of *Myrciaria glomerata* O. Berg. Revista Brasileira de Fruticultura, 44(5): e-932. **(Journal)**

Sawada, Y., Aoki, M., Nakaminami, K., Mitsuhashi, W., Tatematsu, K., Kushiro, T., Koshiba, T., Kamiya, Y., Inoue, Y., Nambara, E. and Toyomasu, T., 2008. Phytochrome- and gibberellin-mediated regulation of abscisic acid metabolism during germination of photoblastic lettuce seeds. Plant Physiology 146, 1386–1396. **(Journal)**

Sujak, A., Dziwulska-Hunek, A. and Reszczyńska, E. 2013. Effect of electromagnetic stimulation on selected Fabaceae plants. Polish Journal of Environmental Studies 22(3):893-898 **(Journal)**

Sumbul, S., Ahmad, M.A., Asif, M. and Akhta, M. 2011. *Myrtus communis* Linn. : A review Indian Journal of Natural Products and Resources, 2(4): 395-402 **(Journal)**

Tang, D.S., Hamayun, M., Ko, Y., Zhang, Y., Kang, S. and Lee, I. 2008. Role of red light, temperature, stratification and nitrogen in breaking seed dormancy of *Chenopodium album* L. Journal of Crop Science and Biotechnology, 11(3): 199-204. **(Journal)**

Thorat, S.A., Poojari, P., Kaniyassery, A., Kiran, K.R., Satyamoorthy, K., Mahato, K.K. and Muthusamy, A. 2021. Red laser-mediated alterations in seed germination, growth, pigments and withanolide content of Ashwagandha [*Withania somnifera* (L.) Dunal]. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology و216:112144. **(Journal)**

Yan, A. and Chen, Z. 2020. The control of seed dormancy and germination by temperature, light and nitrate. The Botanical Review. **(Journal)**

Yang, L., Liu, S. and Lin, R. 2020. The role of light in regulating seed dormancy and germination, Journal of Integrative Plant Biology, **(Journal)**

Zargari, A. 1995. Pharmaceutical Plants. vol. 2. Tehran University Publisher. (In Persian) **(Book)**

The effect of various scarification methods, He-Ne laser and sodium nitroprusside on seed dormancy breaking and the growth of myrtle (*Myrtus commnius* L.) seedlings

Rayhaneh Amooaghaie[1*], Azadeh Rafieii[2]

Received: June 4, 2023 Accepted: September 28, 2023

Abstract

Myrtus communis is a medicinal plant that its seeds have primary dormancy. Therefore, in current study, firstly effect of various types of scarification (treatment with H_2SO_4 70 or 90% or sand paper for 5 and 10 min, blade and soaking in hot water for 10, 20 min) were evaluated on seed dormancy breaking. Results showed that without scarification, seed germination was very low, whereas various types of scarification significantly increased final seed germination. Among various levels of treatments, the highest seed germinatin obtained by soaking in hot water for 20 min (33%), treatment with H_2SO_4 90% for 5 min (59%), sand paper for 10 min (63%) and blade (65%). The next experiment showed that myrtle seeds were photoblastic and He-Ne laser more than white or red light increased germination of scarified seeds by above methods. He-Ne laser irradiation reached seed germination of scarified seeds by sand paper and blade to 80%. Results of the last experiment also showed that application of concentrations of 0.5% KNO_3 and 100 µM sodium nitroprusside (SNP as a NO donor) also increased seed germination, seedling length and vigor of seedlings grown from all scarified seeds and seed germination of scarified seeds by sand paper and blade achieved to 80%. These results showed that myrtle seeds have combination of physical and physiological dormancy that can be attenuated with scarification by sand paper and treatment with SNP or He-Ne laser irradiation.

Key words: Blade; Light; Hot water; Nitrate; Sand paper; Seed vigor; Sulfuric acid

How to cite this article
Amooaghaie, R. and Rafieii, A. 2023. The effect of various scarification methods, He-Ne laser and sodium nitroprusside on seed dormancy breaking and the growth of myrtle (*Myrtus commnius* L.) seedlings. Iranian Journal of Seed Science and Research, 10(2): 81-93. (In Persian)(**Journal)**
DOI: 10.22124/jms.2023.7610

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. Professor, Plant Science Department and Biotechnology Research Center, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran. rayhanehamooaghaie@yahoo.com
2. Plant Science Department, Faculty of Science, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran. aazadeh31@yahoo.com
*Corresponding author: rayhanehamooaghaie@yahoo.com