علوم و تحقیقات بذر ایران
سال دهم/ شماره سوم/ ۱۴۰۲ (۶۳ - ۴۹)
مقاله پژوهشی
DOI: 10.22124/jms.2023.7674

تأثیرخراش‌دهی بذر، پیش‌تیمار با ترکیبات ازته و چینه‌سرمایی بر درصد ظهور و رشد گیاهچه کنگر وحشی (*Gundelia tournefortii* L.)

ریحانه عموآقایی*[۱و۲]، ابوالفضل خدادادی[۱]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۷/۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۱۷

چکیده

تکثیر کنگر وحشی از طریق بذر، به‌دلیل پوشش به‌شدت لیگنینی‌شده حاصل از کاپیتول ثانویه، مشکل است. در تحقیق حاضر، ابتدا در دو آزمایش فاکتوریل جداگانه اثر برهمکنش شیوه‌های خراش‌دهی مکانیکی و شیمیایی (شاهد، سنباده‌زنی، اسکالپل، هیپوکلریت سدیم، پراکسید هیدروژن) با چینه‌سرمایی (صفر، ۱، ۲ و ۳ هفته) و یا با ترکیبات ازته (شاهد، تیوره، نیترات پتاسیم و سدیم نیتروپروساید) روی شکست خواب بذر ارزیابی شد. نتایج نشان داد که همه شیوه‌های خراش‌دهی، در حد معنی‌داری درصد ظهور و رشد گیاهچه را افزایش دادند و اثر متقابل خراش‌دهی با چینه‌سرمایی و یا ترکیبات ازته، روی این صفات معنی‌دار بود. در اولین آزمایش، بالاترین درصد ظهور (۷۵/۶٪) و طول (۲۲/۴ سانتی‌متر) گیاهچه ۴۵ روزه در تیمار خراش‌دهی با اسکالپل ۳ + هفته چینه‌سرمایی حاصل شد. در آزمایش دوم، بیشترین درصد ظهور (۶۵/۶٪)، طول ریشه (۱۰/۲ سانتی‌متر) و بخش هوایی (۸/۱ سانتی‌متر) گیاهچه و حداقل میانگین زمان ظهور (۱۱/۵ روز) در تیمار خراش‌دهی با اسکالپل و کاربرد سدیم نیتروپروساید بدست آمد. در آزمایش سوم اثر ترکیبی سدیم نیتروپروساید و سرمادهی بر شکست خواب بذرهای خراش‌دهی‌شده با اسکالپل ارزیابی شد. نتایج نشان داد که کاربرد سدیم نیتروپروساید طول دوره چینه‌سرمایی مورد نیاز برای حصول بیشترین شاخص‌های ظهور و وزن‌خشک گیاهچه را کاهش داد. این نتایج نشان داد که بذرهای کنگر وحشی دارای خواب فیزیکی و فیزیولوژیکی هستند و می‌توان با تیمارهای خراش‌دهی با اسکالپل و سپس چینه‌سرمایی یا تیمار با سدیم نیتروپروساید به بیشترین درصد ظهور (۸۵٪) و کمترین میانگین زمان ظهور (۸/۵ روز) دست یافت.

واژه‌های کلیدی: پراکسید هیدروژن، خراش‌دهی مکانیکی، سدیم نیتروپروساید، شکست خواب بذر، هیپوکلریت سدیم

۱- گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران. rayhanehamooaghaie@yahoo.com
۲- مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران. gholamrezakh2020@gmail.com
*نویسنده مسئول: rayhanehamooaghaie@yahoo.com

مقدمه

خواب بذر به‌عنوان عدم جوانه‌زنی یک بذر سالم و زنده، تحت شرایط مطلوب تعریف می‌شود و نوعی سازگاری محیطی است که به گونه‌های گیاهی اجازه می‌دهد تا زمان مناسب برای جوانه‌زنی بذرها را متناسب با شرایط محیطی تعیین کنند (Finch-Savage *et al*., 2006). خواب‌اولیه به سه گروه خواب بیرونی، خواب درونی و خواب ترکیبی تقسیم می‌شود. خواب بیرونی به‌دلیل مشکلات پوشش‌های بذر یا لایه‌های آندوسپرم و یا پریسپرم بذر ، ایجاد می‌شود. در خواب داخلی، در هنگام رسیدن بذر، رشد رویان کامل نشده است و یا تناسب هورمونی لازم برای جوانه‌زنی را ندارد. خواب ترکیبی حالتی است که دو (یا بیشتر) نوع خواب اولیه در بذر وجود دارد. مثلا بذرها به‌طور همزمان دارای خواب فیزیولوژیکی و فیزیکی (معمولا خواب پوشش دانه و خواب فیزیولوژیکی متوسط) و یا خواب مورفوفیزیولوژیکی (یک جنین نارس همراه با خواب فیزیولوژیکی) هستند. برای تحریک جوانه‌زنی، تمام شرایط ممانعت کننده باید به‌ترتیب مناسب حذف شوند (Bewlye *et al*., 2013). استفاده از خراش‌دهی شیمیایی (تیمار با اسیدها یا ترکیبات دیگر) یا مکانیکی (مانند سایش با سنباده یا اسکالپل) برای شکست خواب فیزیکی و کاربرد سرمادهی مرطوب، تیمار با جیبرلین و یا ترکیبات ازته مثل نیترات و تیوره برای تحریک جوانه‌زنی بذرهای دارای خواب فیزیولوژیکی توصیه شده است (Tiwari *et al*., 2016). قنبری و همکاران (Ghanbari *et al*., 2018) گزارش کردند که خواب بذر توده‌های فنوج، خاش و سراوان از گیاه دارویی پنیرباد (*Withania coagulans*) با هیپوکلریت سدیم به‌مدت ۳۰ دقیقه و سرمادهی مرطوب به‌مدت یک هفته شکسته می‌شود و ترکیب این تیمارها موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی از جمله آمیلازها در بذر شد. بادلی و زارعی (Badeli and Zarei, 2018) هم در پژوهشی دریافتند که بذر درخت سیدالاشجار (*Firmiana simplex* L) دارای خواب از نوع فیزیکی و فیزیولوژیکی است و بهترین روش تحریک جوانه-زنی آن خراش‌دهی با ماسه (۷۸ درصد) به‌مدت ۱۵ دقیقه و ۳۰ روز چینه‌سرمایی می‌باشد. مندنی و همکاران (Mondani *et al*., 2018) هم گزارش کردند تیمار با اسید سولفوریک ۹۸درصد یا پراکسید هیدروژن ۳۰ درصد، موجب افزایش درصد جوانه‌زنی بذر پنیرک (*Malva neglcta*) شد اما بیشترین تاثیر بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد بعدی دانه‌رست این گیاه با تیمار خراش‌دهی پوسته با سنباده و سپس سرمادهی مرطوب به‌دست آمد.

در بسیاری از بذرهای دارای خواب فیزیولوژیکی، پیش تیمار بذر با مواد ازته مانند نیترات پتاسیم و تیوره سبب جوانه‌زنی می‌شود. در اکثر منابع اثر مواد ازته به‌تاثیر این ترکیبات روی فیتوکروم‌ها یا اسیدی کردن دیواره‌های سلولی یا فعال‌کردن مسیرپنتوز فسفات نسبت داده می‌شود. مسیر پنتوز فسفات یک مسیر ضروری برای شکست خواب بذر است که در بذرهای دارای خواب، فعال نیست. احتمال دارد که سرعت اکسیداسیون مجدد NADPH یک عامل محدودکننده باشد. احتمالا نیترات با تحریک فعالیت پراکسیدازها یا آنزیم‌های درگیر در تجزیه آبسزیک اسید، موجب اکسیداسیون NADPH شده و در نتیجه $NADP^+$ مورد نیاز برای تحریک فعال شدن چرخه پنتوز فسفات را در بذرها تأمین می‌کند. همچنین معلوم شده است که نیترات بیان ژن‌های کد کننده برخی از آنزیم‌های چرخه پنتوز فسفات را افزایش می‌دهد (Finch-Savage *et al*., 2007; Bewlye *et al*., 2013). مطالعه یان و همکاران (Yan *et al*., 2016) نیز نشان داد که در پاسخ به نیترات، مسیر سیگنالی ویژه‌ای فعال می‌شود که موجب کاهش سطح آبسزیک اسید و در نتیجه تحریک جوانه‌زنی بذرهای آرابیدوپسیس تیمارشده با نیترات می‌شود. یافته‌های دیگر نشان می‌دهد که اثر مثبت کاربرد ترکیبات ازته مثل نیترات‌ها مرتبط با نقش آن‌ها در تولید ترکیبات سیگنالی مثل نیتریک اکساید (NO) است. ثابت شده است که در بافت گیاهی و بذرها، نیتریت و نیترات می‌توانند با استفاده از عمل آنزیم نیترات ردوکتاز یا به شیوه‌های غیر آنزیمی تولید نیتریک اکساید را راه‌اندازی کنند. نیتریک اکساید یک مولکول پیام‌رسان است که در تنظیم بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک گیاه از جمله جوانه‌زنی بذر نقش دارد (Ciacka *et al*., 2022; Krasuska *et al*., 2015). استفاده از سدیم نیتروپروساید (به‌عنوان یک ترکیب رها-کننده نیتریک اکساید) در شکست خواب فیزیولوژیکی بذر درخت پالونیا (*Paulownia elongata* S.Y.Hu) و بذر آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana* L.) مؤثر بود (Bethke *et al*., 2007; Liu *et al*., 2019). نیتریک اکساید می‌تواند بر روی ژن‌های مربوط به کاتابولیسم آبسزیک اسید و سنتز جیبرلین اثر کند و درنتیجه جوانه‌زنی

بذر را تحریک می‌کند (Krasuska *et al*., 2015). یک مطالعه نشان داد نیتریک اکساید در افزایش بیان ژن‌های درگیر در بیوسنتز جیبرلین در بذرهای جو (*Hordeum vulgar*) نقش دارد (Bethke *et al*., 2007). آندریکا دودک و همکاران (Andryka-dudek *et al*., 2019) هم از مجموع یافته‌های پژوهشگران در دهه اخیر نتیجه‌گیری کردند که نیتریک اکساید از طریق تحریک بیان ژن‌های درگیر در تجزیه آبسزیک اسید، فروتنظیمی ژن‌های مرتبط با سنتز آبسزیک اسید، اصلاح بیان ژن‌های درگیر در مسیرهای پیام‌رسانی و همچنین نیتراسیون برخی از پروتئین‌ها، موجب افت محتوای آبسزیک اسید و کاهش حساسیت محور جنینی به آن شده و زمینه شکست خواب بذر را فراهم می‌آورد.

چینه‌سرمایی شرایطی مشابه دوره سرمای زمستانی در طبیعت ایجاد می‌کند و یک روش کارآمد برای شکست خواب فیزیولوژیکی بذر است. ثابت شده است که سرمادهی موجب افزایش بیان برخی از ژن‌های کد کننده آنزیم‌های مسیر بیوسنتز جیبرلین می‌شود و از طریق افزایش جیبرلین و کاهش مقدار آبسزیک اسید در بذرها نقش تحریک کننده برای جوانه‌زنی بذر دارد (Bewlye *et al*., 2013; Yang *et al*., 2019). شواهد دیگر نشان می‌دهد که سرمادهی از طریق تولید ترکیبات پیام‌رسان مثل نیتریک اکساید در شکست خواب بذر عمل می‌کند. مطالعه دبسکا و همکاران (Debska *et al*., 2013) نشان داد که شکست خواب بذرهای سیب (*Malus domestica* Borkh) با استفاده از چینه‌سرمایی رابطه نزدیکی با تولید نیتریک اکساید دارد و بیشترین میزان نیتریک اکساید پس از ۲ ماه سرمادهی تولید می‌شود که همزمان با اوج جوانه‌زنی بذرهای سیب است.

گیاه کنگر وحشی با نام *Gundelia tournefortii* L از تیره کاسنی یا آفتابگردان (Asteraceae) یکی از گیاهان دارویی، خوراکی و علوفه‌ای ایران محسوب می‌شود که با اسامی کنگر صحرایی، کنگر کوهی و یا خارابی هم شناخته می‌شود. گیاه کنگر وحشی از دیرباز در ایران برای درمان کم‌خونی، کاهش کلسترول، مشکلات گوارشی، بیماری‌های کلیوی و پوستی، و دفع بلغم و صفرای اضافی بدن مورد استفاده مردم بوده است (Asadi-Samani *et al*., 2013). بذرهای کنگر وحشی به‌دلیل پوشش به‌شدت لیگنینی‌شده حاصل از کاپیتول ثانویه، نمی‌توانند به‌آسانی جوانه بزنند. با توجه به سازگاری این گیاه با شرایط اقلیمی ایران و از طرفی افزایش میل مصرف به این محصول، بررسی امکان کشت و اهلی‌سازی آن می‌تواند در جهت دست‌یابی به تولید پایدار این گیاه در سیستم‌های کم‌نهاده راهگشا باشد. اگرچه اثر شیوه‌های مختلف خراش‌دهی شیمیایی و مکانیکی بر شکست خواب فیزیکی بذرهای کنگر وحشی در چند مطالعه قبلی بررسی شده است (Panahi and Arast, 2019; Vaisi *et al*., 2018)، اما برهمکنش روش‌های خراش‌دهی پوشش بذر با ترکیبات ازته، نیتریک اکساید و سرمادهی بخوبی مطالعه نشده است. بنابراین، در پژوهش حاضر سعی شد تا با بررسی اثر تیمارهای مذکور روش‌های عملی برای دست‌یابی به‌حداکثر جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه‌های کنگر معرفی شود.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق بذرهای کنگر وحشی از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری شد و در همه آزمایش‌ها، ابتدا بذرها در آب فرو برده شدند و بذرهای پوک جدا شدند. کلیه آزمایش‌های این تحقیق در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم دانشگاه شهرکرد در سال ۱۴۰۱ اجرا شد.

بررسی اثر شیوه‌های خراش‌دهی و سطوح چینه-سرمایی بر ظهور و رشد گیاهچه کنگروحشی

در آزمایش اول، اثر متقابل روش‌های خراش‌دهی (شاهد دست نخورده، ۲۰ دقیقه تیمار در هیپوکلریت سدیم ۲۰ درصد، ده دقیقه سنباده‌زنی، شکاف پوسته با اسکالپل و ۶۰ دقیقه خیساندن در پراکسید هیدروژن) و چهار سطح چینه-سرمایی مرطوب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال (صفر، ۱، ۲و ۳ هفته سرمادهی) در یک آزمایش فاکتوریل با طرح کاملا تصادفی با شش تکرار در ۱۲۰ عدد گلدان کوچک بررسی شد. پس از خراش‌دهی بذرها با شیوه‌های فوق، تعداد ۱۵ بذر از هر تیمار به گلدان حاوی پرلیت منتقل شدند و مطابق طرح آماری با قرار دادن تعدادی از این گلدان‌ها در یخچال، چینه‌سرمایی مرطوب به‌مدت ۱ ، ۲ یا ۳ هفته اجرا شد. پس از اتمام زمان سرمادهی، گلدان‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و هر روز به‌میزان مساوی با آب مقطر آبیاری شدند. میزان ظهور نهائی از رابطه ۱ محاسبه شد.

$$\text{Emergence percentage} = 100 \quad (n/N) \quad \text{(رابطه ۱)}$$

که در این رابطه n تعداد نشاهای ظهور کرده در سطح پرلیت و N تعداد کل بذرهای کشت شده است.

همچنین پس از ۴۵ روز گیاهچه‌های کنگر وحشی از گلدان خارج و طول آن‌ها اندازه‌گیری شد.

بررسی اثر انواع شیوه‌های خراش‌دهی و ترکیبات ازته بر ظهور و رشد گیاهچه کنگر وحشی

در آزمایش دوم، اثر متقابل پنج سطح خراش‌دهی (شاهد، ده دقیقه سنباده‌زنی، شکاف پوسته با اسکالپل و ۲۰ دقیقه هیپوکلریت سدیم، ۶۰ دقیقه پراکسید هیدروژن) و ۴ سطح ترکیبات ازته (شاهد، تیوره و نیترات پتاسیم یک درصد و محلول ۱۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید) در یک آزمایش فاکتوریل با طرح کاملا تصادفی با شش تکرار، بررسی شد. پس از خراش‌دهی بذرهای هریک از تیمارهای خراش‌دهی به چهار گروه تقسیم شدند و سپس در آب مقطر (شاهد)، تیوره، نیترات پتاسیم و سدیم نیتروپروساید به‌مدت ۶ ساعت خیسانده شدند. سپس، تعداد ۱۵ بذر از هر تیمار به گلدان حاوی پرلیت منتقل شدند و گلدان‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و هر روز به‌میزان مساوی با آب مقطر آبیاری شدند. تعداد نشاهای ظاهر شده در هر گلدان هر روز ثبت گردید. میزان ظهور نهائی از رابطه ۱ و میانگین زمان ظهور هم از رابطه ۲ محاسبه شد.

$$MET = \frac{\sum Dn}{\sum n} \quad \text{(رابطه ۲)}$$

که در آن n = تعداد نشاهای جدیدا ظاهر شده در روز D و D= روزهای پس از کاشت و ∑n همان ظهور نهائی است.

همچنین پس از ۴۵ روز گیاهچه‌های کنگر وحشی از پرلیت خارج و طول بخش هوایی و ریشه آن‌ها اندازه‌گیری و ثبت شد.

اثر تلفیقی سدیم نیتروپروساید و سرمادهی بر ظهور و رشد گیاهچه حاصل از دانه‌های خراش‌دهی شده با اسکالپل

آزمایش سوم به‌صورت فاکتوریل با طرح کاملا تصادفی با شش تکرار، با دو سطح سدیم نیتروپروساید (صفر و ۱۰۰ میکرومولار) و ۴ سطح چینه‌سرمایی مرطوب (۰، ۱، ۲ و ۳ هفته سرمادهی) بر روی دانه‌های خراش‌دهی شده با اسکالپل اجرا شد.

برای این منظور ابتدا بذرها با اسکالپل خراش‌دهی شدند. سپس بذرهای خراش‌دهی شده به گلدان‌های حاوی پرلیت مرطوب منتقل و به مدت ۱، ۲ و ۳ هفته در یخچال سرمادهی شدند. سپس بذرهای سرمادهی شده به دو دسته تقسیم شدند و یک دسته در آب مقطر (بدون سدیم نیتروپروساید) و دسته دیگر در محلول ۱۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید خیسانده شدند. پس از شستشو، بذرها به گلدان‌های حاوی پرلیت جدید منتقل و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و هر روز به میزان مساوی با آب مقطر آبیاری شدند. تعداد نشاهای ظاهر شده در هر گلدان هر روز ثبت گردید و میزان ظهور نهائی و میانگین زمان ظهور از طریق رابطه‌های ۱ و ۲ محاسبه شد. همچنین پس از ۴۵ روز گیاهچه‌های کنگر وحشی از پرلیت خارج و در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند. سپس وزن خشک آن‌ها با ترازوی حساس برآورد شد.

تجزیه آماری

در این پژوهش، هر سه آزمایش به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملا" تصادفی اجرا گردید و همه آزمایش‌ها شامل شش تکرار بود. آنالیز واریانس با نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ و مقایسه میانگین، با استفاده از آزمون چند-دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. شکل‌ها با نرم افزار اکسل ترسیم شد.

نتایج و بحث

اثر برهمکنش خراش‌دهی پوشش بذر و سرمادهی بر ظهور و رشد گیاهچه کنگر وحشی

تجزیه واریانس داده‌های آزمایش اول نشان داد که اثر ساده انواع شیوه های خراش‌دهی و سطوح مختلف سرمادهی و اثر متقابل آنها بر درصد ظهور و طول گیاهچه کنگر وحشی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بوده است (جدول ۱).

بر طبق شکل ۱، بذر های کنگر وحشی بدون خراش‌دهی (بذرهای شاهد خیسانده در آب) هیچ ظهوری ندا شتند، اما خراش‌دهی شیمیایی با هیپوکلریت سدیم و پراکسید هیدروژن و مخصوصا خراش فیزیکی با اسکالپل و سنبادهاثر معنی‌داری بر شکست خواب بذرهای این گیاه داشت و جوانه‌زنی آن‌ها را در حد معنی‌داری افزایش داد (مقایسه ستون‌های آبی در شکل ۱). این نشان می‌دهد بخشی از خواب بذرهای کنگر وحشی از نوع مکانیکی است. در بذر کنگر وحشی پوسته بذر سخت یا نفوذناپذیر نسبت به آب یا گازها نیست، اما پوشش به‌شدت لیگنینی

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) داده‌های حاصل از اثر انواع شیوه‌های خراش‌دهی و سطوح سرمادهی بر شاخص-های ظهور و رشد گیاهچه کنگر وحشی

Table 1. The analysis of variance related to the effect of various scarification methods and stratification levels on emergence indices and growth of *Gundelia tournefortii* seedlings

منبع تغییرات V. O. S	درجه آزادی df	درصد ظهور Emergence percentage	طول گیاهچه Length of plantlet
شیوه‌های خراش‌دهی Scarification methods	4	6287.69**	625.47**
سطوح چینه‌سرمایی Stratification levels	3	186.23 **	36.40**
چینه‌سرمایی × خراش‌دهی Stratification × Scarification	12	311.41**	7.11**
خطا Error	100	5.981	1.15

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

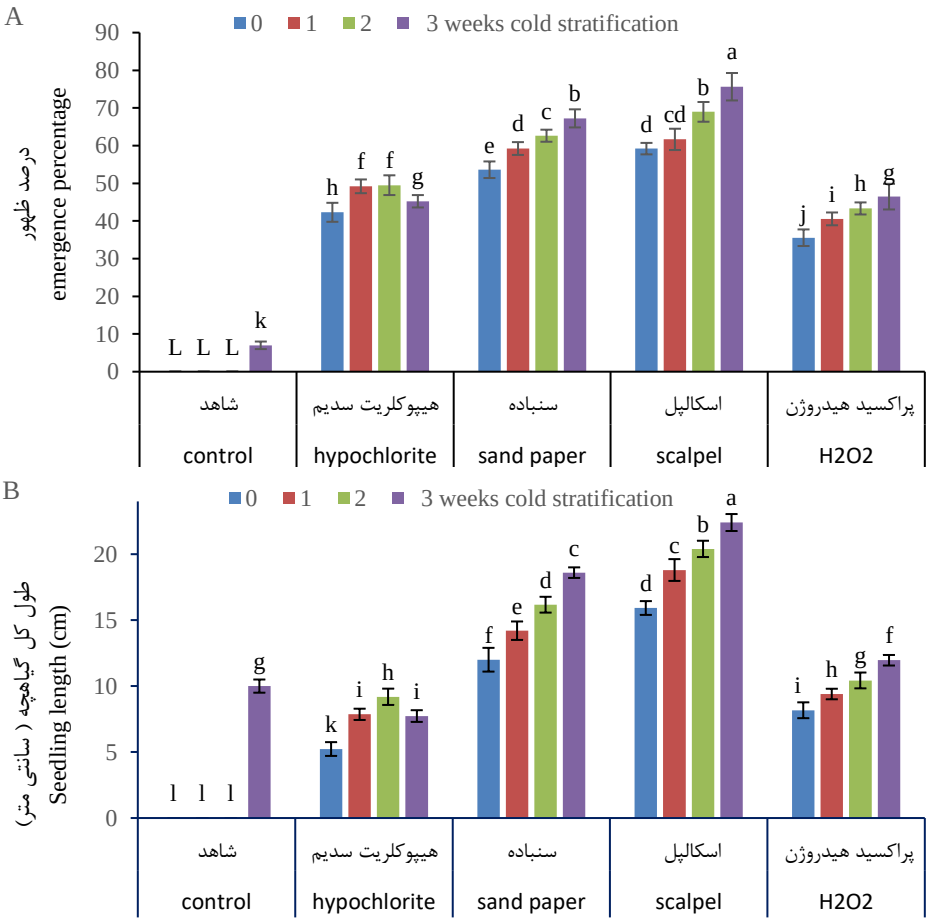
شده حاصل از کاپیتول ثانویه (شبیه پوست پسته) که بذر را در بر گرفته است به‌منزله یک سد قوی برای جوانه‌زنی و خروج ریشه‌چه عمل می‌کند (Mattana *et al*., 2022). به‌همین دلیل شکاف آن با اسکالپل، بر خواب فیزیکی مرتبط با مقاومت مکانیکی این پوشش غلبه کرده و امکان خروج ریشه‌چه از دانه را فراهم می‌کند و درنتیجه جوانه‌زنی بذر کنگر وحشی را بهبود می‌دهد.

نتایج همچنین نشان داد که بدون‌خراش‌دهی (گروه شاهد) ۱ تا ۲ هفته چینه‌سرمایی مرطوب بر درصد ظهور و رشد گیاهچه کنگر وحشی هیچ اثر معنی‌داری نداشت اما با ۳ هفته سرمادهی ۷ درصد جوانه‌زنی رخ داد. در مقابل، سرمادهی مرطوب نیز در حد معنی‌داری درصد ظهور و طول گیاهچه حاصل از بذرهای خراش‌دهی شده با هیپوکلریت سدیم، پراکسید هیدروژن، اسکالپل و سنباده را بهبود داد (شکل ۱). اثر مطلوب سرمادهی بر درصد ظهور و طول گیاهچه بذرهای خراش‌دهی شده تایید می‌کند که بخشی از خواب بذر کنگر وحشی هم از نوع فیزیولوژیکی است. سرمادهی مرطوب ممکن است با تاثیر بر افزایش ساخت اسیدهای نوکلئیک و تحریک فعالیت چرخه پنتوز فسفات در بذرها و همچنین با کاهش محتوای هورمون‌های بازدارنده مثل آبسزیک اسید و در مقابل افزایش تولید جیبرلین در رویان بذر، زمینه شکست خواب فیزیولوژیکی و جوانه‌زنی بذر و رشد دانه‌رست را فراهم می‌کند (Yang *et al*., 2019; Bewley *et al*., 2013).

بررسی اثر متقابل شیوه‌های مختلف خراش‌دهی و سطوح مختلف سرمادهی نشان داد که بیشترین درصد ظهور و طول گیاهچه برای بذرهای خراش‌دهی شده با پراکسید هیدروژن، سنباده و یا اسکالپل با ۳ هفته چینه سرمایی بدست آمد اما بیشترین مقادیر این صفات برای بذرهای خراش‌دهی‌شده با هیپوکلریت سدیم در ترکیب با ۱و۲ هفته سرمادهی حاصل شد و با ۳ هفته سرمادهی درصد ظهور و طول گیاهچه کمتر بود. در کل، بهترین تیمار ترکیبی خراش‌دهی بذرها با اسکالپل و ۳ هفته سرمادهی بود که درصد ظهور را به ۷۵/۶ درصد رساند و بیشترین طول گیاهچه هم در این تیمار به‌دست آمد (شکل ۱). ویسی و همکاران (Vaisi *et al*., 2018) هم گزارش کردند که اعمال سرمادهی بر بذرهای کنگر خراش‌دهی شده با اسکالپل شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد دانه‌رست این گیاه را در حد معنی‌داری افزایش داد. پناهی و آرست (Panahi and Arast, 2019) هم، اثر اسید سولفوریک و آب جوش بر شکست خواب فیزیکی بذر کنگر وحشی را تایید کردند و همچنین اعلام کردند ۷ و ۱۴ روز سرمادهی در حد چشمگیری جوانه‌زنی بذرهای خراش‌دهی نشده این گیاه را افزایش داد که این با یافته‌های ما مطابقت نداشت، چون در این تحقیق ۱ تا ۲ هفته چینه‌سرمایی مرطوب بر درصد ظهور گیاهچه بذرهای خراش‌دهی نشده (گروه شاهد) هیچ اثر معنی‌داری نداشت. اثر مثبت تیمار توام هیپوکلریت سدیم و سرمادهی مرطوب در گیاه دارویی پنیرباد (Ghanbari *et al*., 2018) و تیمار ترکیبی خراش‌دهی با سنباده و سرمادهی در خردل وحشی (Rezwani *et al*., 2013) برای شکست خواب فیزیکی و فیزیولوژیکی بذر این گیاهان نیز گزارش شده است.

اثر برهمکنش خراش‌دهی پوشش بذر و ترکیبات ازته بر ظهور و رشد گیاهچه کنگر وحشی

تجزیه واریانس داده‌های آزمایش دوم نشان داد که اثر ساده و همچنین اثر متقابل انواع شیوه‌های خراش‌دهی بذر و انواع ترکیبات ازته بر شاخص‌های ظهور و رشد گیاهچه کنگر در سطح یک یا پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).



شکل ۱- اثر انواع شیوه‌های خراش‌دهی پوسته بذر و سطوح مختلف چینه‌سرمایی بر درصد ظهور(A) و طول (B) گیاهچه-های کنگر وحشی

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

Figure 1. The effect of various methods of seed scarification and stratification levels on emergence percentage (A) and length (B) of *Gundelia tournefortii* seedlings

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

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) داده‌های حاصل از اثر روش‌های مختلف خراش‌دهی و ترکیبات ازته بر شاخص-های ظهور و رشد گیاهچه کنگر وحشی

Table 2. The analysis of variance related to the effect of various scarification methods and nitrogenous compounds on emergence indices and growth of *Gundelia tournefortii* seedlings

منبع تغییرات S.O.V	درجه‌آزادی df	درصد ظهور Emergence percentage	میانگین زمان ظهور Mean time of emergence	طول بخش‌هوایی Shoot length	طول ریشه Root length
شیوه‌های خراش‌دهی Scarification methods	4	6858.055**	426.693**	199.29**	142.39**
ترکیبات حاوی نیتروژن Nitrogenous compounds	3	149.53**	12.422**	6.27**	5.64**
ترکیبات حاوی نیتروژن × خراش‌دهی S × N	12	76.638**	2.181**	1.81**	1.58**
خطا Error	100	3.604	0.186	0.55	0.42

** shows significant differences at 1% probability level

**معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد

بررسی اثر ساده تیمارهای خراش‌دهی (جدول ۳) بر درصد و میانگین زمان ظهور و همچنین طول بخش‌هوایی و ریشه نشان داد که شیوه‌های مختلف خراش‌دهی در حد متفاوتی این صفات را تحت تاثیر قرار داده‌اند و بیشترین

درصد ظهور، طول بخش هوایی و ریشه و کمترین زمان ظهور با کاربرد تیمار خراش‌دهی با اسکالپل و سنباده‌زنی به‌مدت ۱۰ دقیقه بدست آمده است.

بررسی اثر ساده ترکیبات ازته هم نشان می‌دهد کاربرد همه ترکیبات ازته صفات فوق را در حد معنی‌داری تحت تاثیر قرار داد. بالاترین اثرات برای درصد ظهور با کاربرد نیترات پتاسیم و سدیم نیتروپروساید، کمترین میانگین زمان ظهور با کاربرد سدیم نیتروپروساید، و بیشترین طول ریشه و بخش هوایی با کاربرد نیترات پتاسیم به‌دست آمد (جدول ۳) این نتایج دوباره تایید می‌کند که بخشی از خواب بذر کنگر وحشی فیزیولوژیکی است. اثر مثبت تیوره و نیترات پتاسیم بر شکست خواب فیزیولوژیکی بذر کما (Amooaghaie, 2007) و قیچ (Amooaghaie, 2014) و بهبود سرعت جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه این گیاهان هم گزارش شده است. همچنین گزارش شده است که خواب فیزیولوژیکی رویان دانه‌های سیب (*Malus domestica* Borkh)، تاج خروس (*Amaranthus retroflexus* L.) و جو (*Hordeum vulgar*) با استفاده از سدیم نیتروپروساید (به‌عنوان یک ترکیب رهاکننده نیتریک اکساید) مرتفع می‌شود (Kępczyński and Sznigir, 2014; Ciacka *et al*., 2019; Nagel *et al*., 2018).

تاکنون مکانیسم‌های مختلفی برای اثر ترکیبات ازته بر شکست خواب بذر مطرح شده است. برخی از محققان معتقدند نیترات از طریق اسیدی کردن دیواره‌های سلول‌ها و یا راه‌اندازی مسیر تنفسی پنتوز فسفات به شکست خواب بذر کمک می‌کند. کاربرد نیترات می‌تواند باعث بهبود نفوذپذیری دیواره سلولی و در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم‌ها و سطح متابولیسم سلولی شود (Bewely *et al*., 2013). همچنین، اثر نیترات بر شکست خواب فیزیولوژیکی، ممکن است مرتبط با افزایش جذب آب از طریق ایجاد تغییرات در پتانسیل آب، ارتقاء فعالیت متابولیک و بیوسنتز اکسین در بذرها یا تغییرات در سطوح برخی فیتوهورمون‌ها، باشد (Kwon *et al*., 2020; Mousavi *et al*., 2019). تیمار نیترات پتاسیم با بالا بردن نسبت جیبرلین به آبسزیک اسید در بذر جوانه‌زنی بذر را تحریک می‌کند (Yan *et al*., 2016). تحقیقات قبلی نشان داده است که برخی ترکیبات پیام‌رسان مانند نیتریک اکساید در تنظیم نسبت جیبرلین به آبسزیک اسید و در نتیجه شکست خواب بذر نقش دارند (Ciacka *et al*., 2022). معلوم شده است که بذرها هنگام گذر از حالت خواب به جوانه‌زنی از یک وضعیت ویژه نیتروزاتیو عبور می‌کنند و تجمع بسیار کم نیتریک اکساید در بذر نقش مهمی در فعال کردن بسیاری از فرآیندهای مرتبط با جوانه‌زنی دارد (Krasuska *et al*., 2015). با توجه به این‌که در این آزمایش تیمار با سدیم نیتروپروساید به‌عنوان یک ترکیب آزادکننده نیتریک اکساید همانند

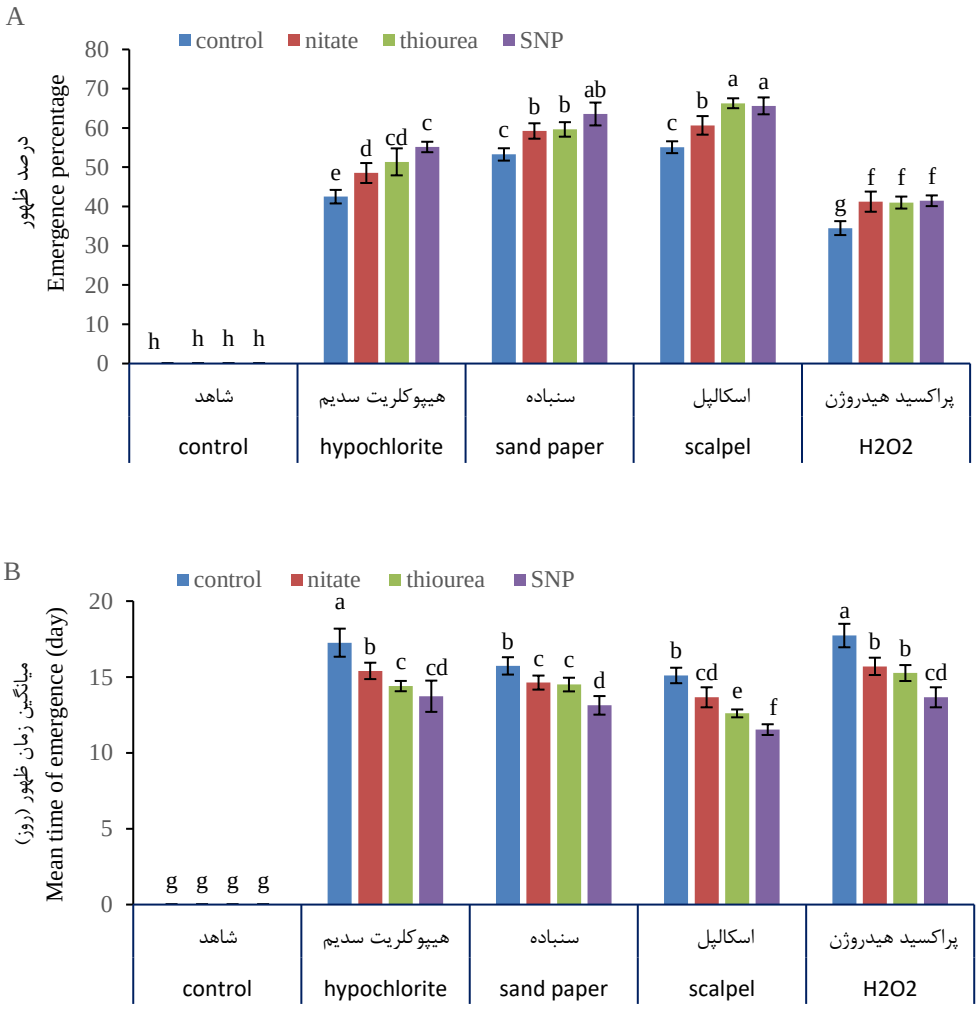
جدول۳- اثر شیوه‌های مختلف خراش‌دهی و ترکیبات ازته بر شاخص‌های ظهور و رشد گیاهچه کنگر وحشی

Table 3. The effect of various methods of seed scarification and nitrogenous compounds on emergence indices and growth of *Gundelia tournefortii* seedlings

تیمارها Treatments	درصد ظهور Emergence percentage	میانگین زمان ظهور (روز) Mean time of emergence (day)	طول بخش هوایی (سانتی‌متر) Shoot length (cm)	طول ریشه (سانتی‌متر) Root length (cm)
Cold scarification				
شاهد (Control)	0	-	-	-
هیپوکلریت سدیم (Hypochlorite)	45.89 c	15.70 a	2.52 d	40.08 d
پراکسید هیدروژن (H_2O_2)	40.05 d	15.59 a	4.30 c	4.99 c
سنباده (Sand paper)	57.67 b	14.57 b	6.72 b	8.019 b
اسکالپل (Scalpel)	66.92 a	13.22 c	7.43 a	9.54 a
Nitrogenous compounds				
شاهد (Control)	44.16 c	14.73 a	4.11 c	5.33 c
تیوره (Thiourea)	46.68 b	13.50 b	4.96 b	6.33 ab
نیترات پتاسیم (Nitrate)	49.38 a	13.63 b	5.54 a	6.88 a
سدیم نیتروپروساید (SNP)	51.42 a	12.7 c	4.3 b	6.3 b

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

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



شکل ۲- اثر انواع شیوه‌های خراش‌دهی پوسته بذر و ترکیبات ازته (شاهد، نیترات، تیوره و سدیم نیتروپروساید) بر درصد ظهور (A) و میانگین زمان ظهور (B) گیاهچه کنگر وحشی

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

Figure 2. The effect of various methods of seed scarification and nitrogenous compounds on emergence percentage (A) and mean time of emergence (B) of *Gundelia tournefortii* seedlings

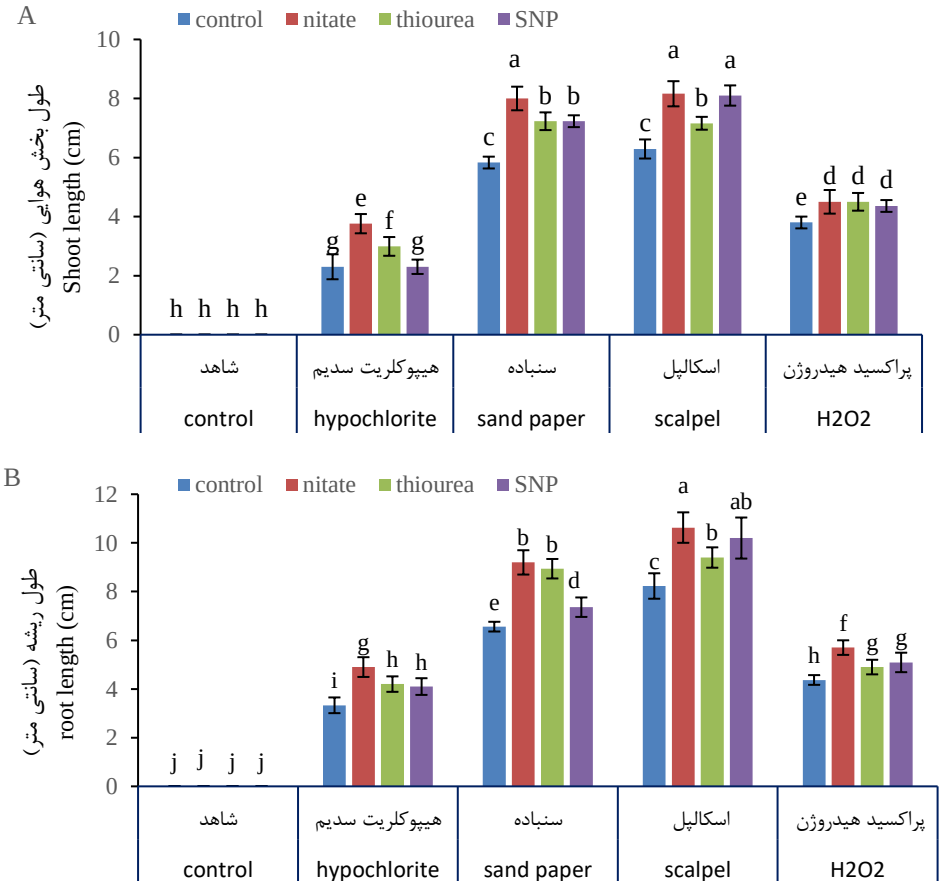
The same letters indicate non-significant differences between treatments according to Duncan's multiple range tests at P<0.05

نیترات و تیوره به‌طور معنی‌داری درصد ظهور و طول ریشه‌چه و بخش هوایی گیاهچه کنگر وحشی را افزایش داد، این فرضیه که نیترات هم با افزایش تولید مولکول پیام‌رسان نیتریک اکساید به شکست خواب بذر کنگر کمک کرده است، محتمل است. مطالعات قبلی نشان داده است که کاربرد نیتریت و نیترات همانند سدیم نیتروپروساید با افزایش تولید نیتریک اکساید موجب شکست خواب بذر تاج خروس و آرابیدوپسیس می‌شود (Bethke *et al*., 2006; Liu *et al*., 2011).

بررسی اثر متقابل انواع شیوه‌های خراش‌دهی و ترکیبات ازته نشان داد که تیمار با نیترات پتاسیم و تیوره و سدیم نیتروپروساید اثر معنی‌داری روی جوانه‌زنی بذرهای دست نخورده کنگر وحشی نداشت اما پس از خراش‌دهی بذرها با هیپوکلریت سدیم، اسکالپل، سنباده و پراکسید هیدروژن، کاربرد این ترکیبات ازته درصد ظهور را به‌طور معنی‌داری افزایش و میانگین زمان ظهور را کاهش داد. علاوه بر این، کاربرد ترکیبات ازته مختلف در حد متفاوتی درصد ظهور و میانگین ظهور دانه‌های خراش‌دهی شده به‌وسیله روش‌های مختلف را تحت تاثیر قرارداده است. بالاترین اثر بر درصد ظهور با کاربرد سدیم نیتروپروساید (به‌عنوان یک ترکیب رهاکننده نیتریک اکساید) بر روی بذرهای خراش‌دهی شده با سنباده یا اسکالپل بدست آمد (شکل ۲).

همچنین، کاربرد همه ترکیبات ازته میزان طول ریشه و بخش هوایی گیاهچه حاصل از بذرهای خراش‌دهی شده به

وسیله روش‌های مختلف را افزایش دادند و اغلب کاربرد نیترات بیشترین اثر را روی این شاخص‌های رشد گیاهچه داشت. بالاترین طول بخش هوایی و ریشه با کاربرد نیترات روی بذرهای خراش‌دهی شده با اسکالپل یا سنباده‌زده بدست آمد (شکل ۳). در بذرهای خراش‌دهی شده با پراکسید هیدروژن اثر هر سه ترکیب ازته از نظر آماری مشابه بود و بذرهای خراش‌دهی شده با هیپوکلریت سدیم فقط اثر نیترات و تیوره بر طول بخش هوایی معنی‌دار بود و سدیم نیتروپروساید اثر معنی‌داری بر این صفت نداشت.



شکل۳- اثر انواع شیوه‌های خراش‌دهی پوسته بذر و ترکیبات ازته (شاهد، نیترات، تیوره و سدیم نیتروپروساید) برطول بخش هوایی (A) و ریشه (B)گیاهچه کنگروحشی

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

Figure 3. The effect of various methods of seed scarification and nitrogenous compounds on shoot (A) and root (B) length of *Gundelia tournefortii* seedlings

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

مشابه با نتایج فوق، یک مطالعه نشان داد تیمار ترکیبی خراش‌دهی با تیغ یا سنباده و سپس تیمار با سدیم نیتروپروساید یا نیترات بیشتر از کاربرد منفرد این تیمارها برای شکست خواب بذر و رشد دانه‌رست گیاه مورد موثر بود (Amooaghaie and Rafeie, 2024). فرهودی و همکاران (Farhoudi *et al.*, 2013) هم گزارش کردند که تیمار ترکیبی خراش‌دهی بذر با آب جوش و نیترات پتاسیم برای جوانه‌زنی بذر بابا آدم از تیره کاسنی موثر بود و کاربرد نیترات پتاسیم سبب افزایش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و غلظت اکسین و کاهش غلظت آبسزیک اسید شد و در نتیجه جوانه‌زنی و رشد گیاهچه بابا آدم را بهبود داد.

اثر برهمکنش سرمادهی و ترکیبات ازته بر ظهور و رشد گیاهچه حاصل از بذرهای خراش‌دهی شده با اسکالپل

تجزیه واریانس داده‌های آزمایش سوم نشان داد که اثر ساده و متقابل فاکتورهای سرمادهی و ترکیبات ازته بر شاخص‌های ظهور و رشد گیاهچه کنگر وحشی حاصل از دانه‌های خراش‌دهی شده با اسکالپل در سطح ۱درصد معنی‌دار بوده است (جدول ۴).

جدول۴- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) داده‌های حاصل سطوح مختلف سرمادهی و غلظت سدیم نیتروپروساید بر شاخص‌های ظهور و وزن‌خشک گیاهچه کنگر وحشی حاصل از دانه‌های خراش‌دهی شده با اسکالپل

Table 4. The analysis of variance related to the effect of various stratification levels and sodium nitroprusside concentrations on emergence indices and dry weight of *Gundelia tournefortii* seedlings grown from seeds scarified by scalpel

منبع تغییرات V. O. S	درجه‌آزادی df	درصد ظهور Emergence percentage	میانگین زمان ظهور Mean time of emergence	وزن‌خشک گیاهچه Dry weight of plantlet
سطوح سرمادهی Cold stratification levels	3	3446.65**	383.28**	0.680**
غلظت‌های سدیم نیتروپروساید SNP concentrations	1	578. 20**	81.40**	0.76**
سرمادهی × سدیم نیتروپروساید SNP×Stratification	3	55.77**	31.49**	0.12**
خطا Error	40	18.5	6.213	0.010

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

کاربرد سدیم نیتروپروساید در حد معنی‌داری درصد ظهور بذرهای خراش‌دهی‌شده با اسکالپل و وزن‌خشک گیاهچه آن‌ها را افزایش و در مقابل میانگین زمان ظهور را کاهش داده است (جدول ۵). به‌عبارت دیگر می‌توان گفت احتمالا نیتریک اکساید رهاشده از این ترکیب نه‌تنها سرعت و درصد ظهور گیاهچه‌های حاصل از بذرهای خراش‌دهی با اسکالپل را بهبود داده است، بلکه توانسته است بر وزن گیاهچه نیز اثر مثبت و معنی‌داری داشته باشد.

بررسی اثر ساده سطوح مختلف سرمادهی هم نشان داد که با افزایش دوره سرمادهی درصد ظهور و وزن‌خشک گیاهچه حاصل از بذرهای خراش‌دهی با اسکالپل افزایش یافته است و بیشترین مقادیر این صفات در سطح سه هفته سرمادهی بدست آمده است (جدول ۵).

جدول۵- اثر سطوح مختلف چینه‌سرمایی و غلظت سدیم نیتروپروساید بر شاخص‌های ظهور و و وزن‌خشک گیاهچه کنگر وحشی حاصل از دانه‌های خراش‌دهی شده با اسکالپل

Table 5. The effect of cold stratification and sodium nitroprusside concentrations on emergence indices and dry weight of *Gundelia tournefortii* seedlings grown from seeds scarified by scalpel

تیمارها Treatments	درصد ظهور Emergence percentage	میانگین زمان ظهور (روز) Mean time of emergence (day)	وزن‌خشک گیاهچه (گرم) Shoot dry weight (g)
Cold Stratification (weeks)			
0	60.08 d	13.31 a	0.156 d
1	67.30 c	11.28 b	0.257 c
2	72.06 b	9.73 c	0.298 b
3	76.20 a	7.88 d	0.39 a
Sodium nitroprusside (µM)			
0	66.20 b	11.04 a	0.25 b
100	74.11 a	9.25 b	0.31 a

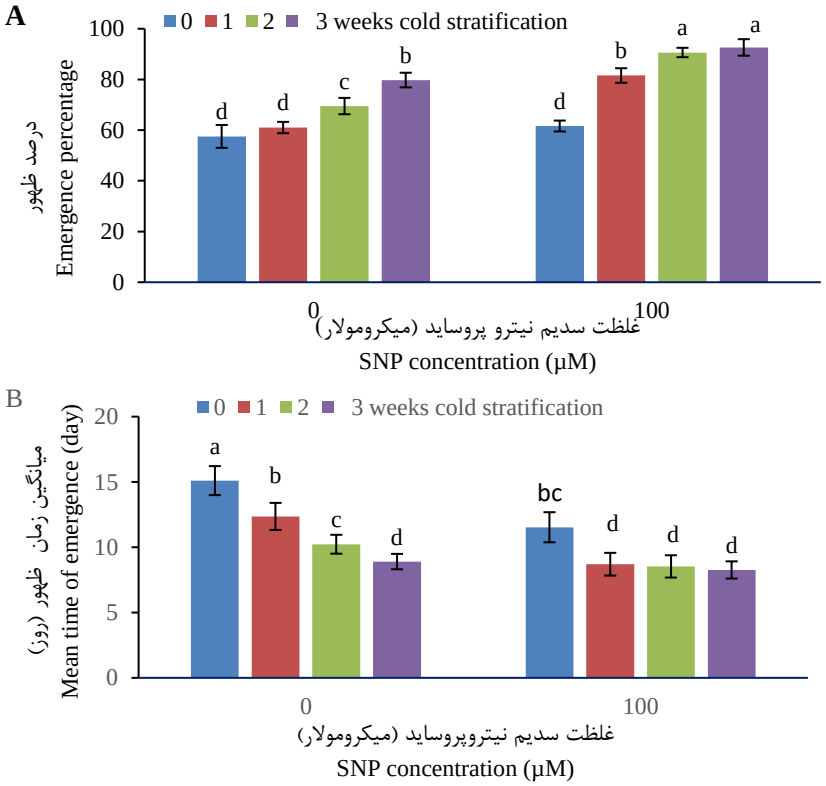
در هر ستون اعداد دارای حروف مشترک بر طبق آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

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

کاربرد سدیم نیتروپروساید بر روی بذرهای خراش‌دهی شده با اسکالپل و بدون کاربرد سرمادهی اثر معنی‌داری نداشت اما درصد ظهور بذرهای خراش‌دهی شده با اسکالپل و ۱، ۲ و ۳ هفته سرمادهی شده را در حد معنی‌داری افزایش داد (شکل۴-A). وقتی بذرهای خراش‌دهی شده با اسکالپل ۰، ۱ ۲ و ۳ هفته سرمادهی را تجربه کردند کاربرد سدیم نیتروپروساید به‌طور معنی‌داری میانگین زمان جوانه‌زنی بذرهای خراش‌دهی‌شده با اسکالپل را کاهش داد (شکل۴-B). زارع (Zare, 2019) هم گزارش کرد که اثر متقابل خراش‌دهی، نیترات و سرمادهی بر شکست خواب بذر شیر خشت سکه‌ای معنی‌دار بود و بهترین نتیجه با تیمار اسید سولفوریک- نیترات پتاسیم و سرمادهی به‌مدت ۴ ماه حاصل شد و نتیجه‌گیری کردند که بذر شیرخشت سکه‌ای دارای خواب فیزیکی و فیزیولوژیکی است. اثر سینرژیسم نیترات و سرمادهی در شکست خواب فیزیولوژیکی بذر کما (Amooaghaie, 2007) و کرفس کوهی (Amooaghaie and Valivand, 2015) هم گزارش شده است. گرزیک و همکاران (Grzesik *et al*., 2017) گزارش کردند که

چینه‌سرمایی در حضور نیترات پتاسیم، نه‌تنها باعث شکست خواب بذر سیب و افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر شد بلکه رشد و شاخص‌های فتوسنتزی گیاهچه را نیز در حد معنی‌داری افزایش داد.

قابل توجه است که با اعمال ۳ هفته سرمادهی کاربرد سدیم نیتروپروساید درصد ظهور را نسبت به بذرهای ۲ هفته سرمادهی شده افزایش بیشتری نداد (شکل۴-A). همچنین افزایش مدت سرمادهی به ۲ و ۳ هفته، اثر بیشتری بر کاهش میانگین زمان ظهور بذرهای خراش‌دهی با اسکالپل و تیمار شده با سدیم نیتروپروساید در مقایسه با بذرهای ۱ هفته سرمادهی شده نداشت (شکل۴-B).



شکل ۴- اثر چینه‌سرمایی (صفر، ۱، ۲ و۳هفته) و سدیم نیتروپروساید (۰ و۱۰۰میکرومولار) بر درصد ظهور (A) و میانگین زمان ظهور (B) گیاهچه کنگر وحشی حاصل از بذرهای خراش‌دهی شده با اسکالپل

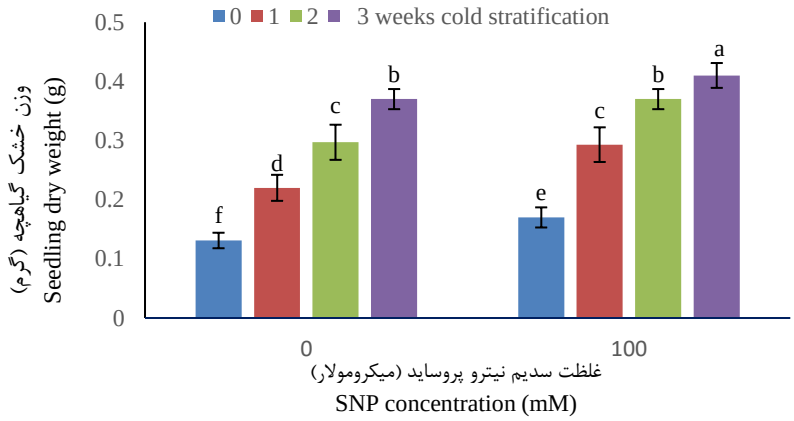
ستون‌های دارای حروف مشترک بر طبق آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

Figure 4. The effect of cold stratification and sodium nitroprusside on emergence percentage (A) and mean time of emergence (B) of *Gundelia tournefortii* seedlings grown from seeds scarified by scalpel

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

همچنین بر طبق شکل ۵، کاربرد سدیم نیتروپروساید وزن خشک گیاهچه‌های حاصل از بذرهای خراش‌دهی شده با اسکالپل و صفر، ۱و۲ هفته سرمادهی شده را در حد چشمگیری افزایش داد اما اثر مثبت این ترکیب روی وزن خشک گیاهچه‌های حاصل از بذرهای خراش‌دهی شده کنگر وحشی که ۳ هفته سرمادهی شدند کمتر بود و به ملایمت وزن خشک گیاهچه‌های ۳ هفته سرمادهی شده نسبت به گیاهچه‌های ۳ هفته سرمادهی شده با پیش‌تیمار سدیم نیتروپروساید افزایش یافت.

این یافته‌ها نشان می‌دهد احتمالا سرمادهی با تحریک تولید نیتریک اکساید در شکست خواب فیزیولوژیکی بذر نقش دارد. به‌طور مشابهی، ترکیبات تولیدکننده نیتریک اکساید نیاز به انبارداری خشک (پس‌رسی) یا چینه‌سرمایی در بذرهای تاج خروس (*Amaranthus refroflexus*) را تاحدودی جایگزین کرد و اثر این ترکیب روی بذرها با سطوح مختلف سرمادهی متفاوت بود (Kępczyński and Sznigir, 2014). ویسی و همکاران (Vaisi *et al*., 2018) هم گزارش کردند وقتی بذرهای کنگر وحشی خراش‌دهی شده با اسکالپل تحت تیمار ترکیبی ۳ هفته سرمادهی و تیوره ۰/۱ درصد قرار گرفتند، درصد و سرعت جوانه‌زنی، بنیه طولی گیاهچه، و وزن‌خشک گیاه، افزایش و میانگین زمان جوانه‌زنی در حد معنی‌داری کاهش یافت اما این اثر



شکل ۵- اثر چینه‌سرمایی (صفر، ۱، ۲ و۳هفته) و سدیم نیتروپروساید (صفر و۱۰۰میکرومولار) بر وزن خشک گیاهچه کنگر وحشی حاصل از بذرهای خراش‌دهی شده با اسکالپل

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

Figure 5. The effect of cold stratification and sodium nitroprusside on dry weight of *Gundelia tournefortii* seedlings grown from seeds scarified by scalpel

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

مثبت تیوره روی بذرهای خراش‌دهی‌شده کنگر وحشی که ۶ هفته سرمادهی شدند کمتر بود. بنابراین، احتمالا با زمان طولانی سرمادهی، سطوح کافی نیتریک اکساید مورد نیاز برای شکست خواب بذر کنگر وحشی تولید می‌شود و در نتیجه کاربرد سدیم نیتروپروساید به‌عنوان یک ترکیب آزاد کننده نیتریک اکساید دیگر اثر بیشتری ندارد. در تایید این فرضیه، گزارش‌هایی مبنی بر اثبات تولید نیتریک اکساید در طی دوره چینه‌سرمایی در بذرهای سیب و آرابیدوپسیس نیز وجود دارد (Bethke *et al*., 2009; Ciacka *et al*., 2019; Debska *et al*., 2013). یک مطالعه پروتئومیک بوسیله آرک و همکاران (Arc *et al*., 2012) نشان داد که تیمار با نیترات و چینه‌سرمایی الگوی پروتئوم مشابهی را در بذر آرابیدوپسیس ایجاد کرد که مبین آن است که این تیمارها با مکانیسم مشابهی عمل می‌کنند. آن‌ها دریافتند هر دو تیمار سرمادهی و نیترات با ایجاد تغییرات در سطح رونویسی یا پس از ترجمه پروتئین‌ها، فعالیت آنزیم‌های درگیر در تجزیه ذخایر بذر را تحریک می‌کند تا انرژی لازم برای جوانه‌زنی بذر و سپس استقرار دانه‌رست را تامین نماید. همچنین تاثیر هر دو تیمار سرمادهی (Amooaghaie and Ahmady, 2017; Yang *et al*., 2019) و نیتریک اکساید (Krasuska *et al*., 2015; Nagel *et al*., 2018) در تحریک بیوسنتز جیبرلین و کاهش سطح آبسزیک اسید در بذرها اثبات شده است. بنابراین، می‌توان احتمال داد سرمادهی با تحریک تولید نیتریک اکساید باعث افزایش نسبت جیبرلین به آبسزیک اسید در بذر و شکست خواب فیزیولوژیکی می‌شود و به‌همین دلیل کاربرد چینه‌سرمایی و سدیم نیتروپروساید اثر سینرژیک در افزایش ظهور و رشد گیاهچه کنگر وحشی دارد.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که بذرهای کنگر وحشی دارای دو نوع خواب فیزیولوژیکی و فیزیکی هستند و بهترین تیمار برای شکست آن، شکاف پوسته با اسکالپل و سپس سرمادهی به‌مدت ۳ هفته است که تقریبا تا ۸۵ درصد جوانه‌زنی بذر این گیاه را تحریک می‌نماید. اما چنانچه دوره سرمادهی کوتاه‌تر باشد کاربرد توام سرمادهی با سدیم نیتروپروساید برای حصول حداکثر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه لازم است.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از دانشگاه شهرکرد برای پشتیبانی مالی این پژوهش در قالب پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد و مسئول آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشکده علوم دانشگاه شهرکرد سپاسگزاری می‌شود.

منابع

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)**

Amooaghaie, R. and Ahmady, F. 2017. Triangular interplay between ROS, ABA and GA in dormancy alleviation of *Bunium persicum* seeds by cold stratification. Russian Journal of Plant Physiology, 64(4): 588–599. **(Journal)**

Amooaghaie, R. and Rafeie, A. 2024. 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 Sciences and Research. (Accepted)**(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)**

Arc, E., Chibani, K., Grappin, P., Jullien, M., Godin, B., Cueff, G., Valot, B., Balliau, T., Job, D. and Rajjou, L. 2012. Cold stratification and exogenous nitrates entail similar functional proteome adjustments during *Arabidopsis* seed dormancy release. Journal of Proteome Research, 11(11): 5418–5432. **(Journal)**

Asadi-Samani, M., Rafieian-Kopaei, M. and Azimi, N. 2013. Gundelia: a systematic review of medicinal and molecular perspective. Pakistan Journal of Biological Sciences, 16(21): 1238-1247. **(Journal)**

Badeli, S. and Zarei, H. 2018. The effect of different treatments on breaking dormancy and stimulate germination of Firmiana simplex. Iranian Journal of Seed Science and Technology, 7(1): 167-179. (In Persian)**(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. (In Persian)**(Journal)**

Bethke, P.C., Libourel, I.G.L., Aoyama, N., Chung, Y.Y., Still, D.W. and Jones, R.L. 2007. The *Arabidopsis* aleurone layer responds to nitric oxide, gibberellin, and abscisic acid and is sufficient and necessary for seed dormancy. Plant Physiology, 143: 1173–1188. (In Persian)**(Journal)**

Bewley, J.D., Bradford, K.J., Hillhorst, H.W.M. and Nonogaki, H. 2013. Seeds: Physiology of development, germination and dormancy (3th Ed.). New York, Springer-Verlag. **(Book)**

Ciacka, K., Krasuska, U., Otulak-Kozieł, K. and Gniazdowska, A. 2019. Dormancy removal by cold stratification increases glutathione and *S*-nitrosoglutathione content in apple seeds. Plant Physiology and Biochemistry, 138: 112-120. **(Journal)**

Ciacka, K., Staszek, P., Sobczynska, K., Krasuska, U. and Gniazdowska, A. 2022. Nitric oxide in seed biology. International Journal of Molecular Sciences, 23(23): 14951. (In Persian)**(Journal)**

Debska, K., Krasuska, U., Budnicka, K., Bogatek, R. and Gniazdowska, A. 2013. Dormancy removal of apple seeds by cold stratification is associated with fluctuation in H_2O_2, NO production and protein carbonylation level. Journal of Plant Physiology, 170: 480–488. **(Journal)**

Farhoudi, R., Modhej, A. and Motamedi, M. 2021. Evalution of *Arctium lappa* seed dormancy breaking methods. Iranian Journal of Seed Sciences and Research, 8(2): 161-175. (In Persian)**(Journal)**

Finch-Savage, W.E. and Leubner-Metzger, G. 2006. Seed dormancy and the control of germination. New Phytologist, 171: 501–523. **(Journal)**

Grzesik, M., Górnik, K., Janas, R., Lewandowki, M., Romanowska-Duda, Z. and Van Duijn, B. 2017. High efficiency stratification of apple cultivar Ligol seed dormancy by phytohormones, heat shock and pulsed radio frequency. Journal of Plant. Physiology. 219: 81–90. **(Journal)**

Ghanbari, M., Modarres-Sanavy, S.A.M. and Mokhtassi-Bidgoli, A. 2018. Germination characteristics and seed activity of enzymes of different landraces of Indian cheese maker (*Withania coagulans*) in response to sodium hypochlorite and pre-chilling. Iranian Journal of Seed Research, 5(1): 119-135. (In Persian)**(Journal)**

Kępczyński, J. and Sznigir, P. 2014. Paticipation of GA_3, ethylene, NO and HCN in germination of *Amaranthus refroflexus* L. seeds with various dormancy levels. Acta Physiologiae Plantarum, 36: 1463–1472. **(Journal)**

Krasuska, U., Ciacka, K. and Gniazdowska, A. 2015. Nitrosative door" in seed dormancy alleviation and germination. Reactive Oxygen and Nitrogen Species Signaling and Communication in Plants, 23: 215-237. Retrieved November 24, 2014. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-10079-1-11.

Kwon, H.J., Shin, S.L., Kim, Y.R. and Kim, S.Y. 2020. Effects of temperature, gibberellic acid, and KNO_3 treatments on seed germination of the wild plant *Maesa japonica*. Seed Science. Technology, 1: 65–72. **(Journal)**

Liu, J., Xue, T. and Shen, Y. 2019. Effect of nitric oxide on seed germination and dormancy in empress trees. HortTechnology, 29(3): 271-275. **(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)**

Mattana, E., Gómez-Barreiro, P., Hani, N.Y., Khaled Abulaila, K.H. and Ulian, T. 2022. Physiological and environmental control of seed germination timing in Mediterranean mountain populations of *Gundelia tournefortii*. Plant Growth Regulation, 97: 175–184. **(Journal)**

Mondani, F., Jalilian, A. and Olfati, A. 2018. Efficiency of chemical and mechanical priming in breaking seed dormancy and germination traits of Malva (*Malva neglcta*). Iranian Journal Seed Research, 5(1): 55-70. (In Persian)**(Journal)**

Mousavi, L., Wan, I., Wan, R. and Mousavi, M. 2019. Evaluation of physicochemical methods for dormancy breakage and germination of *Datura stramonium* seeds. Journal of Chemistery. Health Risks, 9: 217–224. **(Journal)**

Nagel, M., Alqudah, A.M., Bailly, M., Rajjou, L., Pistrick, S., Matzig, G., Börner, A. and Kranner, I. 2018. Novel loci and a role for nitric oxide for seed dormancy and preharvest sprouting in barley. Plant Cell Environment, 42: 1318–1327. **(Journal)**

Panahi, F. and Arast, M. 2019. The effect of different treatments on seeds dormancy and germination of *Gundelia tournefortii*. Iranian Journal of Seed Science and Research, 6(3): 347-358. (In Persian)**(Journal)**

Rezwani, H., Asghari, J. and Ehteshami, S.M.R. 2013. Investigation of prechilling and scarification (chemical and physical) treatments in break of wild mustard (*Sinapis arvensis*) seed dormancy. Iranian Journal of Seed Science and Technology, 2(2): 147-159. (In Persian)**(Journal)**

Tiwari, A.K., Tiwari, T.N. and Prasa, S.R. 2016. Seed dormancy in ornamental plants: A review. Indian Journal of Agricultural Sciences, 86(5): 580–92. **(Journal)**

Vaisi, G., Mohtadi, A. and Moradi, A. 2018. The effect of different treatments on seed germination and dormancy breaking in seeds of (*Gundelia tournefortii* L.). Nova Biologica Reperta, 5(1): 26-37. (In Persian)**(Journal)**

Yan, D., Easwaran, V., Chau, V., OkamotoM, I.M, Kimura, M., Endo, A., Yano, R., Pasha, A., Gong, Y., Bi Y-M Provart, N., Guttman, D., Krapp, A., Rothstein, S.J. and Nambara, E. 2016. NIN-like protein 8 is a master regulator of nitrate-promoted seed germination in Arabidopsis. Nature Communication, 7: 13179–13179. **(Journal)**

Yang, B., Cheng, J., Wang, J., Cheng, Y., He, Y., Zhang, H. and Wang, Z. 2019. Physiological characteristics of cold stratification on seed dormancy release in rice. Plant Growth Regulation 89(6): 131–141. **(Journal)**

Zare, A. 2019. Effects of cold stratification and chemical scarification duration on germination of Cotoneaster nummularioides Pojark. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), 32(2): 353-362. **(Journal)**

Impact of seed scarification, pretreatment with nitrogenous compounds and cold stratification on emergence percentage and growth of *Gundelia tournefortii* L. seedlings

Reyhaneh Amooaghaie[1,2*], Abolfazl Khodadadi[1]

Received: September 27, 2023 Accepted: January 7, 2024

Abstract

The propagation of *Gundelia tournefortii* L. via seed faces certain problems due to the strongly lignified disseminule from secondary capitulum. Therefore, in this study, in first, the interaction of chemical and mechanical scarification (Control, sodium hypochlorite, H_2O_2, scalpel and sand paper for 10 min) with cold stratification (0, 1, 2, 3 weeks) or nitrogenous compounds (control, thiourea, nitrate, sodium nitroprusside) on seed dormancy breaking were investigated in two separate factorial experiments. Results showed that all scarification methods significantly increased emergence percentage and growth of seedlings and the interaction of scarification methods with stratification or nitrogenous compounds on these attributes was significant. In the first experiment, the highest emergence percentage (75.6 %) and length of seedlings (22.4 cm) was gathered in treatment of seed scarification by scalpel + 3 weeks cold stratification. In the second experiment, the maximum emergence percentage (65.6 %) and length of root (10.2 cm) and shoot (8.1 cm), and minimum mean time of emergence (11.5 days) of seedlings, was obtained in treatment of seed scarification by scalpel and applying sodium nitroprussid (SNP). In third experiment, the impact of combined application of SNP and cold stratification was assessed on dormancy breaking of seeds scarified with scalpel. Results showed that the application of SNP reduced duration of cold stratification required for obtaining the best emergence indices and maximum dry weight of seedlings. These results indicate that *Gundelia tournefortii* seeds have physical and physiological dormancy and can achieve the highest percentage of emergence (85%) and the lowest average emergence time (8.5 days) by treatments of scarification with scalpel and then cold stratification or SNP treatment.

Keywords: Hypochlorite; H_2O_2; Mechanical scarification; Seed dormancy breaking, Sodium nitroprusside

How to cite this article
Amooaghaie, R. and Khodadadi, A. 2023. Impact of seed scarification, pretreatment with nitrogenous compounds and cold stratification on emergence percentage and growth of *Gundelia tournefortii* L. seedlings Iranian Journal of Seed Science and Research, 10(3): 49-63. (In Persian)**(Journal)**
DOI: 10.22124/jms.2023.7674

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. Department of Plant Science, Faculty of Science, Shahrekord University, Shahrekord, Iran. rayhanehamooaghaie@yahoo.com
2. Biotechnology Research Center, Shahrekord University, Shahrekord, Iran. gholamrezakh2020@gmail.com
*Corresponding author: rayhanehamooaghaie@yahoo.com