Iranian Journal of Field Crop Science
Vol 51, No 2, Summer 2020 (199-222)
DOI: 10.22059/ijfcs.2019.275448.654580

علوم گیاهان زراعی ایران
دورۀ ۵۱، شمارۀ ۲، تابستان ۱۳۹۹ (ص۲۲۲-۱۹۹)

تأثیر تیمارهای اسید جیبرلیک، دمای جوانه‌زنی و سرمادهی بر شکست خواب بذر و جوانه‌زنی بذر آوندول (*Smyrnium cordifolium*)

مرضیه موسوی ناصرآباد[۱]، علی مرادی*[۲]، اسد معصومی اصل[۲]، حمیدرضا بلوچی[۲]

۱و۲- به‌ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۲۴ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/٤/۲٤)

چکیده

وجود خواب بذر در گیاهان تیره چتریان، یکی از موانع عمده جهت کشت و اهلی کردن آن‌ها می‌باشد. در این پژوهش، دو آزمایش جداگانه به‌منظور تعیین بهترین تیمار شکست خواب و بهبود جوانه‌زنی در بذر گیاه آوندول (*Smyrnium Cordifolium* Bioss.) صورت گرفت. در آزمایش اول، تأثیر سطوح مختلف اسید جیبرلیک (صفر، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) با مدت زمان پیش تیمار ٤۸ و ۷۲ ساعت با اسید جیبرلیک و سطوح مختلف سرمادهی (چهار، هشت و ۱۲ هفته) در دماهای مختلف جوانه‌زنی (پنج، ۱۰ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد)، به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت و در آزمایش دوم، تأثیر سطوح مختلف اسید جیبرلیک (مورد استفاده در آزمایش اول) در سطوح مختلف سرمادهی (صفر، دو، چهار، شش، هشت، ۱۰ و ۱۲ هفته) بر فعالیت آلفا آمیلاز و پراکسیدهیدروژن بررسی شد. نتایج نشان داد که در هر سه دمای جوانه‌زنی، ۱۲ هفته سرمادهی، بیشترین تأثیر را بر اغلب صفات اندازه‌گیری شده داشت. همچنین در اغلب تیمارهای زمانی سرمادهی، فعالیت آلفا آمیلاز و محتوی پراکسیدهیدروژن در پیش‌تیمار بذر با اسید جیبرلیک افزایش یافت. از بین تیمارهای اعمال شده، تلفیق تیمار ۱۲ هفته سرمادهی به همراه ۵۰۰ میلی‌گرم اسید جیبرلیک در لیتر و دمای پنج درجه سانتی‌گراد، بیشترین تأثیر را بر شکست خواب بذر آوندول (۵۵ درصد) داشت.

واژه‌های کلیدی: آلفا آمیلاز، آوندول، بنیه گیاهچه، پراکسید هیدروژن، خواب بذر.

Effect of gibberellic acid, germination temperature and stratification on dormancy breaking and seed germination of *Smyrnium cordifolium*

Marziye Mousavi Naserabad[1]. Ali Mordi[*1], Asad Masoumi Asl[1], Hamid Reza Balouchi[1]
1. Agronomy and Plant Breeding Department, Faculty of Agriculture, University of Yasuj.

(Received: February 13, 2019- Accepted: July 15, 2019)

ABSTRACT

Seed dormancy in Apiaceae family is one of the major obstacles for cultivation and domestication of these species. In this research, two separate experiments were conducted to determine the best treatment for breaking seed dormancy and improving germination in *Smyrnium cordifolium* Bioss**.** In the first experiment, effects of three factors including 7 levels of gibberellic acid (0, 500,1000 and 1500 mg L^{-1}) with pre-treatment with gibberellic acid for 48 and 72 hours and 3 levels of stratification (4, 8 and 12 weeks) and different germination temperatures (5, 10 and 15°C) were investigated in a factorial experiment based on a completely randomized design with four replications. In the second experiment, the effect of different levels of gibberellic acid (used in the first experiment) in different levels of stratification (0, 2, 4, 6, 8, 10 and 12 weeks) on the α-amylase activity and hydrogen peroxide content were studied**.** The results showed that in all three temperatures, 12 weeks stratification had the highest effect on most measured traits**.** Also, in most of the stratification periods, the amount of alpha-amylase activity and hydrogen peroxide content increased in pre-treatment with gibberellic acid. Among all the treatments, the combination of 12 weeks stratification along with 500 ppm gibberellic acid and germination temperature of 5 °C had the highest effect on breaking seeds dormancy of *Smyrnium cordifolium* Bioss.

Keywords: Alpha-amylase, hydrogen peroxide, seedling vigour index*Smyrnium cordifolium* Bioss, Seed dormancy.

* Corresponding author E-mail: amoradi@yu.ac.ir

مقدمه

در میان جنس‌های متفاوت تیره چتریان، جنس *Smyrnium* تنها یک گونه با نام علمی *Smyrnium cordifolium* Bioss. در ایران دارد (Rechinger,1982) که با نام‌های انحصاری و بومی آوندول و پنومه معرفی شده است (Mozaffarian, 2012). این گیاه دوساله، پراکنش گسترده‌ای در پهنه جغرافیایی زاگرس در مناطق غرب و جنوب غرب ایران و به‌خصوص در مراتع استان کهگیلویه و بویراحمد دارد (Rechinger,1982). از استفاده‌های این گیاه در طب سنتی می‌توان به درمان ورم اندام‌های داخلی بدن، به‌خصوص ورم مثانه و کلیه (Tabaraki & Ghidiri, 2013)، دفع سنگ کلیه و همچنین اثرات مدر و مقوی آن اشاره کرد که حاوی ترکیبات ارزشمند شیمیایی نظیر کوروزرن، کوروزرنون و ژرماسرن دی (Amiri *et al.*, 2007) با اثرات آنتی‌باکتریال می‌باشد (Amiri, 2007).

خواب بذر در واقع پدیده‌ای است که بسیاری از گیاهان دارویی و خودرو با آن مواجه هستند و به بذر این امکان را می‌دهد که در شرایط نامساعد محیطی زنده بماند. اگرچه این پدیده فیزیولوژیکی برای بذرها مزیت اکولوژیکی محسوب می‌شود و بذر را تا آماده شدن شرایط لازم جهت استقرار و جوانه‌زنی، در مقابل شرایط سخت محیطی حفظ می‌کند، ولی به دلیل درصد جوانه‌زنی پایین، از مشکلات عمده حفاظت منابع طبیعی به‌شمار می‌رود. از سوی دیگر، متخصصان فناوری بذر، هنگام آزمون قوه نامیه بذر این دسته از گیاهان با مشکلاتی روبرو می‌شوند (Shamsi *et al.*, 2015). سازوکارهای کلی خواب به پنج گروه فیزیکی، فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی، مورفوفیزیولوژیکی و ترکیبی تقسیم بندی شده است (Baskin & Baskin, 2004). گزارش‌های مختلف نشان داده‌اند که بذرهای برداشت شده از گیاهان تیره چتریان، دارای درجات مختلفی از خواب فیزیولوژیکی (Vnadelook *et al.*, 2007b)، مورفولوژیکی (Baskin & Baskin, 1990) و مورفوفیزیولوژیکی (Vnadelook *et al.*, 2007a) می‌باشند که متداولترین خواب در این تیره، خواب فیزیولوژیک (Kretshmer, 1999) است. وجود درجات مختلفی از خواب در بذرهای این تیره، به‌دلیل وجود نوعی سازوکار فیزیولوژیکی بازدارنده جنین است که از خروج ریشه‌چه جلوگیری می‌کند (Sharifi *et al.*, 2015). با توجه به تنوع وسیع گونه‌های تیره چتریان و همچنین تنوع نوع و عمق خواب، تیمارهای گوناگونی جهت شکستن خواب و تحریک جوانه‌زنی بذر گیاهان این تیره پیشنهاد شده است که از مهم‌ترین این تیمارها می‌توان به سرمادهی مرطوب (Sharifi *et al.*, 2016) و اسید جیبرلیک (Najafi *et al.*, 2006) اشاره کرد.

در آزمایشی، تأثیر تیمارهای مختلف شکست خواب روی بذر گیاه باریجه نتایج نشان داد که هم کاربرد اسید جیبرلیک خارجی و هم سرمادهی مرطوب همراه با شستشو، موجب شکست خواب بذر و افزایش درصد جوانه‌زنی در آن شده است (Nadjafi *et al.*, 2006). تحقیقات روی بذرهای گیاه جاشیر (*Prangos ferulaceae*) نشان داد که سرمادهی در دمای پنج و ۱۲ درجه سانتی‌گراد، به‌ترتیب ۳۵ و ۲۶ درصد جوانه‌زنی را افزایش داد (Razavi & Hajiboland, 2009). نتایج آزمایشی روی دو جمعیت بذر آنغوزه (*Ferula assafoetida* L.) نشان داد که در هر دو جمعیت مورد بررسی، حداکثر درصد جوانه‌زنی در بذرهای تیمار شده با غلظت‌های کمتر GA_3 در ماه‌های دوم و سوم مشاهده شد (Rajabian *et al.*, 2007). تأثیر تیمارهای مختلف بر شکست خواب بذرهای بیلهر (*Dorema aucheri*) نشان داد که تیمار سرمادهی به مدت چهار هفته به همراه شستشو و ۱۵۰۰ppm اسید جیبرلیک، بیشترین تاثیر را بر شکست خواب فیزیولوژیک موجود در بذرهای این گونه داشته است (Salehi *et al.*, 2015). در تحقیقی روی جوانه‌زنی بذر گیاه جاشیر گزارش شد که تیمار سرمادهی به مدت شش ماه (۶۷٪)، موجب تفاوت معنی‌دار جوانه‌زنی بذرهای جاشیر نسبت به شاهد شد (Safaian & Azarnivand, 2010).

برای گیاهانی که در اقلیم‌های سرد می‌رویند، معمولاً

دمای پنج درجه سانتی‌گراد یا اندکی کمتر، بیشترین تأثیر را در شکستن خواب بذر دارد (koornef *et al*, 2002). تیمار دمای پایین، سبب کاهش تراز هورمون‌های بازدارنده و افزایش تراز هورمون‌های محرک رشد و درنتیجه موجب افزایش پتانسیل جوانه‌زنی بذر می‌شود؛ این رویدادها به‌طور هم‌زمان رخ می‌دهد یعنی جوانه‌زنی در بذر، نتیجه توازن هورمون‌ها است (Tipirdamaz & Gomurgen, 2000). Mellati *et al* (2010) با بررسی دمای جوانه‌زنی سه گونه کندل، باریجه و آنغوزه نشان دادند که در این سه گونه، بیشترین درصد جوانه‌زنی در دمای چهار درجه سانتی‌گراد و کمترین آن در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد بوده است.

برخی از آنزیم‌ها و هورمون‌ها در حذف خواب و جوانه‌زنی نقش اساسی دارند (Xie *et al*., 2007). آلفا آمیلاز یک آنزیم حیاتی است که در تخریب گرانول‌های نشاسته به مولکول‌های آلی کوچک نقش دارد و انرژی و مواد غذایی را برای جوانه‌زنی بذر تهیه می‌کند (Liu *et al*., 2018). در گزارشی روی بذرهای خفته (بدون سرمادهی) و غیرخفته (سرمادهی شده) جاشیر نشان داده شد که فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز با پیشرفت رسیدگی بذر افزایش پیدا کرد (Moradi *et al*., 2017). همچنین در بذر مرزنگوش (*Origanum vulgare*) فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در بذرهایی که خواب آن‌ها شکسته شده بود، به‌طور معنی داری از بذرهای دارای خواب بیشتر بود (Dehghanpour Farashah *et al*., 2011).

اثر تحریک کننده پراکسیدهیدروژن بر جوانه‌زنی و قدرت گیاهچه‌ها در تعدادی از گونه‌ها مشاهده شده است. این ماده به‌صورت یک عامل تحریک کننده تنفسی و تسریع کننده تجزیه مواد ذخیره‌ای عمل می‌کند که باعث تولید انرژی برای سنتز در نقاط رشد می‌شود (Gupat, 2003). Debska *et al* (2013)، تاثیر تیمار سرمادهی روی محتوی پراکسیدهیدروژن در طی روند شکست خواب در بذر سیب را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این تحقیق نشان داد که محتوی پراکسید هیدروژن پس از یک هفته قرار گرفتن بذرها در دمای پنج درجه سانتی‌گراد، به‌طور معنی‌داری در جنین افزایش یافت و پس از طی دو ماه سرمادهی، غلظت آن در جنین به حداکثر رسید.

گیاه آوندول به‌دلیل برداشت بی‌رویه جهت مصارف دارویی و تغذیه دام، از جمله گیاهانی است که در معرض خطر انقراض قرار دارد؛ بنابراین حفظ این گونه گیاهی ضروری است. این گیاه به روش جنسی تولید مثل می‌کند و به‌دلیل تولید کم بذر و همچنین داشتن بذرهایی با خواب بالا، دارای تراکم و پراکندگی پایینی است؛ از این رو تکثیر گیاه آوندول در طبیعت به کندی صورت می‌گیرد که این امر خود سبب می‌شود که احیا و اهلی‌سازی آن با مشکل مواجه شود. یکی از راهکارهای مفید برای تکثیر این گیاه، تیمار هورمونی و دمایی مناسبی است که شکست خواب بذر را تسهیل کند و در کوتاه‌ترین زمان، بیشترین درصد جوانه‌زنی را فراهم نماید. طبق بررسی منابع موجود، تاکنون اطلاعات مدون و جامعی درباره شکست خواب بذر گیاه آوندول ارائه نشده است. بنابراین این پژوهش با هدف بررسی پاسخ خواب بذر گیاه آوندول به تیمارهای شکست خواب هورمونی و دمایی اجرا شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش اول

برای انجام این پژوهش، بذرهای گیاه آوندول در تیرماه سال ۱۳۹۶ از رویشگاه‌های طبیعی آن در منطقه چنارستان استان کهگیلویه و بویراحمد، پس از جمع‌آوری به آزمایشگاه دانشکده کشاورزی منتقل شدند. به‌منظور بررسی اثر اسید جیبرلیک و سرمادهی بر شکست خواب بذر آوندول، آزمایشی به صورت فاکتوریل سه عاملی و در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. عامل اول شامل دماهای جوانه‌زنی (پنج، ۱۰ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد) و عامل دوم شامل طول دوره سرمادهی (چهار، هشت و ۱۲ هفته) و عامل سوم شامل پیش‌تیمار با غلظت‌های صفر، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید جیبرلیک در زمان‌های مختلف ۴۸ و ۷۲ ساعت (GA0-48h، GA500ppm-48h، GA1000ppm-48h، GA1500ppm-48h، GA500ppm-72h، GA1000ppm-72h و GA1500ppm-72h) بود. هر واحد آزمایش شامل ۲۰

بذر کاملاً سالم بود که قبل از اعمال تیمارها، سه بار و هر بار به مدت ده دقیقه با استفاده از آب دو بار تقطیر و چند قطره مایع ظرف‌شویی، شستشوی سطحی شدند. پس از شستشوی سطحی، بذرها در زیر هود لامینار نیز ابتدا به مدت یک دقیقه در اتانول ۷۰ درصد غوطه‌ور شدند و سپس به مدت پنج دقیقه در هیپوکلریت سدیم دو درصد به همراه چند قطره توئین ۲۰ قرار گرفتند. پس از اتمام این زمان، سه بار با آب دو بار تقطیر ضد عفونی شدند و هر بار به مدت ده دقیقه شسته شدند. بذرها پس از ۴۸ و ۷۲ ساعت پیش تیمار با اسید جیبرلیک و سپس شستشو با آب مقطر، به پتری‌دیش دیگری با کاغذ صافی منتقل شدند. جهت تأمین رطوبت، پنج میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شد و به‌منظور جلوگیری از تبخیر ،دور پتری‌دیش‌ها با پارافیلم بسته شد و به یخچالی با دمای چهار درجه سانتی‌گراد و به مدت زمان چهار، هشت و ۱۲ هفته منتقل شدند. بعد از طی زمان سرمادهی، بذرها به پتری‌دیش‌هایی با بستر کشت ماسه بادی، حاوی ۱۰ میلی لیتر آب مقطر استریل شده منتقل شدند و پس از بستن دور پتری‌دیش با پارافیلم، درون اتاقک جوانه-زنی با دمای پنج، ۱۰ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد و شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی ۱۲ ساعت تاریکی به مدت پنج هفته قرار گرفتند. پتری‌دیش‌ها روزانه بررسی شدند و تغییرات جوانه‌زنی در آن‌ها یاداشت‌برداری شد. بذری جوانه‌زده در نظر گرفته شد که نوک ریشه‌چه به اندازه دو میلی متر از پوسته بذر خارج شده بود. در پایان دوره جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه نیز ثبت شدند.

در پایان درصد جوانه‌زنی (GP) از رابطه Fang *et al.* و همکاران (2006) به‌دست آمد (رابطه ۱):

$$GP \quad (\%)=\sum \frac{n}{N} \times 100$$

رابطه۱

در این رابطه، n: تعداد بذرهای جوانه زده و N: کل بذر در هر تکرار می‌باشد.

شاخص بنیه گیاهچه (VI) نیز از حاصلضرب مجموع طول ریشه‌چه (RL) و طول ساقه‌چه (SL) در درصد جوانه‌زنی (GP) به‌دست آمد (Abdul-Baki & Anderson, 1973) (رابطه ۲):

$$VI=(RL+SL)\times GP$$ رابطه ۲

آزمایش دوم

به‌منظور اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و محتوی پراکسیدهیدروژن، از بذرهای تیمار شده با آب مقطر و غلظت‌های مختلف اسید جیبرلیک (۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) در زمان‌های مختلف سرمادهی استفاده شد (صفر، دو، چهار، شش، هشت، ۱۰ و ۱۲ هفته). فعالیت پراکسیدهیدروژن در بذر، به روش Velikova & Loreto (2001) و با استفاده از ۰/۳۵ گرم بذر اندازه‌گیری شد و برای استخراج، از محلول تری‌کلرواستیک‌اسید (TCA) ۱٪ استفاده شد و جذب آن در طول موج ۳۹۰ نانومتر خوانده شد. محتوی پراکسیدهیدروژن به‌صورت واحد میلی مول بر گرم وزن تر بذر محاسبه شد.

برای استخراج عصاره بذری جهت اندازه‌گیری فعالیت آلفا آمیلاز، از روش Makkar *et al.* (2007) استفاده شد. بدین منظور، از ۰/۵ گرم بذر و پنج میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۰/۲ مولار سرد با pH=۷ استفاده شد. فعالیت آلفا آمیلاز در عصاره بذرها با روش Baker, (1991) و Bernfeld (1995) با اندکی تغییر تعیین شد و جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۴۰ نانومتر ثبت. مقدار فعالیت آنزیم به‌صورت واحد میلی‌گرم مالتوز بر گرم وزن تر بذر (mg maltos/g seed) گزارش شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/۴ و رسم نمودار با استفاده از نرم افزار Excel انجام شد. با معنی‌دار شدن برهمکنش‌ها، برش‌دهی اثر ترکیب سطوح مختلف اسید جیبرلیک و طول دوره سرمادهی برای هر دمای جوانه‌زنی، با استفاده از رویه L.S. Means و مقایسه میانگین اثرات ساده فاکتورها، با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

شاخص‌های بیوشیمیایی

نتایج تجزیه واریانس (جدول۱) نشان داد که اثر ساده اسید جیبرلیک، سرمادهی و برهم کنش آن‌ها بر فعالیت آلفا آمیلاز و پراکسیدهیدروژن در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. نتایج جدول برش‌دهی نیز نشان داد که تأثیر غلظت‌های مختلف اسید جیبرلیک برای

فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و محتوای پراکسید هیدروژن در طول دوره‌های سرمادهی مورد مطالعه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول۲).

پس از خیساندن بذرها در آب مقطر و پیش‌تیمار آن‌ها با اسید جیبرلیک در دمای چهار درجه سانتی‌گراد مشاهده شد که در تیمار بدون سرمادهی، بذرهای تیمار نشده با هورمون، محتوی پراکسید هیدروژن بیشتری داشتند.

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر غلظت‌های مختلف اسیدجیبرلیک و زمان‌های مختلف سرمادهی بر برخی شاخص های بیوشیمیایی بذر آوندول.

Table 1. Variance analysis of the effect of gibberellic acid concentrations and stratification periods on some biochemical indices of *Smyrnium cordifolium* Bioss seeds.

Source of Variation	Mean squares		
	Df	α-amylase	hydrogen peroxide
Stratification time (A)	6	0.253**	0.015**
Gibberellic acid (B)	6	5.088**	0.026**
A×B	36	0.271**	0.017**
Error	98	0.223	0.052
CV (%)	-	4.722	6.773

**: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد.

**: Significant at 1% of probability level.

جدول۲- نتایج برش‌دهی تأثیر اسید جیبرلیک بر فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و پراکسیدهیدروژن اندازه‌گیری شده بذر آوندول در زمان‌های مختلف سرمادهی.

Table 2. Slicing analysis of variance (mean squares) of gibberellic acid effects on α-amylase and hydrogenperoxide activity of *Smyrnium cordifolium* Bioss. seeds at different stratification periods.

stratification period	Df	hydrogen peroxide	α-amylase
0 Weeks	6	0.012**	0.225**
2 Weeks	6	0.010**	0.419**
4 Weeks	6	0.001**	0.775**
6 Weeks	6	0.006**	0.852**
8 Weeks	6	0.006*	1.08**
10 Weeks	6	0.018**	1.57**
12 Weeks	6	0.064**	1.98**

**: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد.

**: Significant at 1% of probability level.

در زمان سرمادهی دو هفته، تیمار GA1500-48 با ۰/۴۰۸ میلی‌مول بر گرم بیشترین و در مدت زمان سرمادهی چهار و ۱۲ هفته، پیش‌تیمار GA500-48، بیشترین مقدار را دارا بودند (جدول ۳). پیش‌تیمار GA500-72 بیشترین مقدار پراکسیدهیدروژن را برای مدت زمان سرمادهی شش هفته نشان داد. در هشت و ۱۰ هفته سرمادهی، بیشترین مقدار پراکسیدهیدروژن به تیمار GA1500-72 تعلق داشت؛ هرچند که در ۱۰ هفته سرمادهی، دو تیمار GA1500-72 و GA500-48 با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نشان ندادند. همچنین قرار دادن بذرها در معرض هورمون، بجز در تیمار بدون سرما، باعث افزایش مقدار پراکسیدهیدروژن در تمام تیمارهای سرمادهی شد. در پژوهشی بر روی بذر گیاه *Ferula ovina* نشان داده شد که با افزایش مدت زمان سرمادهی، محتوی پراکسیدهیدروژن افزایش یافت؛ به‌طوری‌که در هفته آخر، بیشترین مقدار خود را نشان داد (Fasih & Tavakkol Afshari, 2017). گونه‌های فعال اکسیژن مانند پراکسیدهیدروژن، باعث تجزیه ذخائر بذر در طی سرمادهی می‌شوند. هیدروژن سیانید (HCN)، به شدت بر روی کاتابولیسم ذخائر اثر می‌گذارد و باعث رشد جنین در طی سرمادهی می‌شود (Lewak, 2011). نشان داده شده است که در طی شکست خواب بذر، هیدروژن سیانید تحت کنترل گونه‌های فعال اکسیژن است (Oracz *et al.*, 2009). علاوه بر این، ترکیبات فعال اکسیژن با سست کردن دیواره سلولی، به طویل شدن دیواره آن کمک می‌کنند (Muller *et al.*, 2009).

توانایی اسید جیبرلیک برای کاهش خواب، توسط اکسید نیتریک کنترل می‌شود و افزایش ترکیبات گونه-های فعال اکسیژن مانند پراکسیدهیدروژن می‌تواند تولید اکسید نیتریک را در جنین تحریک کند (El-Maarouf-Bouteau & Bailly, 2008). به‌علاوه گونه‌های فعال اکسیژن، رشد جنین را تحریک می‌کنند و باعث شکست خواب مورفولوژیک می‌شوند.

جدول ۳- مقایسه میانگین تأثیر غلظت‌های مخلف اسید جیبرلیک در زمان‌های مختلف پیش‌تیمار بر محتوی پراکسیدهیدروژن (میلی‌مول بر گرم وزن تر بذر) در بذر آوندول در هر سطح از سرمادهی

Table 3. Mean comparison the effect of GA_3 concentrations in different pretreatment durations at stratification levels on *Smyrnium Cordifolium* Bioss seed hydrogen peroxide Content (mM/gr).

	Stratification period						
treatment	0 Weeks	2Weeks	4Weeks	6Weeks	8Weeks	10Weeks	12Weeks
GA0-48	0.474^{a}	0.254^{dc}	0.243^{d}	0.341^{c}	0.318^{d}	0.359^{b}	0.357^{c}
GA500-48	0.285^{c}	0.317^{b}	0.378^{a}	0.355b^{c}	0.369^{bc}	0.454^{a}	0.632^{a}
GA1000-48	0.400^{b}	0.280^{c}	0.337^{b}	0.365b	0.278^{e}	0.247^{e}	0.228^{e}
GA1500-48	0.353^{bc}	0.408^{a}	0.276^{c}	0.277^{e}	0.345d^{c}	0.346b^{c}	0.368^{c}
GA500-72	0.336^{bc}	0.328^{b}	0.219^{d}	0.411^{a}	0.374b^{c}	0.328^{c}	0.222^{e}
GA1000-72	0.301^{c}	0.259d^{c}	0.317^{b}	0.295^{d}	0.393^{ab}	0.290^{d}	0.282^{d}
GA1500-72	0.335^{bc}	0.249^{d}	0.344^{b}	0.337^{c}	0.412^{a}	0.458^{a}	0.470^{b}
Average	0.355	0.299	0.302	0.340	0.356	0.355	0.366

حروف مشابه در هر ستون، نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد است.

The same letters in the same column indicate no significant difference based on the Duncan test at 5% of probability level.

در بذرهای تیمار شده با اسید جیبرلیک و آب مقطر بدون سرمادهی، بیشترین مقدار فعالیت آلفا آمیلاز در تیمار بدون سرمادهی و شش هفته سرمادهی، به تیمار GA1000-72 تعلق داشت (جدول ۴). در دو، چهار، هشت، ۱۰ و ۱۲ هفته سرمادهی، بیشترین میزان فعالیت آنزیمی در تیمار GA500-72 مشاهده شد که دارای بیشترین درصد جوانه‌زنی در بین تیمارهای شکست خواب بود. در پیش‌تیمار ۴۸ و ۷۲ ساعت با اسید جیبرلیک، با افزایش غلظت هورمون، مقدار فعالیت آلفا آمیلاز در چهار، هشت، ۱۰ و ۱۲ هفته سرمادهی کاهش یافت. همچنین مدت زمان بیشتر قرارگیری بذرها در محلول اسیدجیبرلیک، باعث افزایش فعالیت این آنزیم شد. بذور تیمار شده با اسید جیبرلیک نیز نسبت به تیمار سرمادهی بدون هورمون، مقدار فعالیت آنزیمی بیشتری نشان دادند. بیشترین فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در تیمار GA500-72 که حداکثر درصد جوانه‌زنی را در بین تیمارهای شکست خواب دارا بود مشاهده شد. اعمال تیمارهای هورمونی و سرمادهی بر روی جوانه‌زنی بذر سرخ‌دار نشان داد که فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز پس از اعمال سرمادهی افزایش پیدا کرد (Zhang & Gao, 2012). پیش‌تیمار بذر با اسید جیبرلیک، سبب تسریع فرآیندهای بیوشیمیایی و هیدرولیز قندها فعال نمودن ژن‌های کدکننده آنزیم‌های دخیل در جوانه‌زنی بذر به‌ویژه Iا آمیلاز می‌شود و بذر را برای جوانه‌زنی آماده‌تر می‌کند (Tavili *et al.*, 2008).

جدول ۴- مقایسه میانگین تأثیر غلظت‌های مختلف اسید جیبرلیک در زمان‌های مختلف پیش‌تیمار بر فعالیت آلفا آمیلاز (میلی-گرم بر گرم وزن تر بذر) در بذر آوندول در هر سطح از سرمادهی.

Table 4. Mean comparison of the effect of GA_3 concentrations in different pre-treatment durations at stratification levels on seed α-amylase Activity (mM/gr).

	Stratification period						
(treatment)	0 Weeks	2Weeks	4Weeks	6Weeks	8Weeks	10Weeks	12Weeks
GA0-48	3.301^{c}	2.872^{d}	2.162^{f}	1.979^{d}	2.161^{e}	2.836^{e}	3.173^{d}
GA500-48	4.477^{a}	6.173^{b}	5.790^{c}	6.638^{b}	5.708^{b}	5.280^{c}	4.395^{c}
GA1000-48	3.611^{c}	6.273^{b}	5.471^{c}	3.027^{c}	3.228^{d}	1.660^{f}	1.850^{e}
GA1500-48	3.401^{cd}	3.894^{c}	3.547^{e}	2.198^{d}	4.121^{c}	2.781^{e}	2.197^{e}
GA500-72	4.080^{b}	7.568^{a}	9.346^{a}	6.639^{b}	9.529^{a}	11.453^{a}	11.544^{a}
GA1000-72	4.632^{a}	7.391^{a}	8.307^{b}	8.717^{a}	9.064^{a}	8.890^{b}	10.495^{b}
GA1500-72	4.495^{a}	3.894^{c}	4.411^{d}	3.146^{c}	2.808^{d}	3.821^{d}	2.808^{b}
Average of treatments	3.999	5.438	5.576	4.621	5.231	5.327	5.106

حروف مشابه در هر ستون، نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد است.

The same letters in the same column indicate no significant difference based on the Duncan test at 5% of probability level.

شاخص‌های جوانه‌زنی

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساده اسید جیبرلیک و طول دوره سرمادهی، دماهای جوانه-زنی و برهم‌کنش آن‌ها بر صفات درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و بنیه گیاهچه، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول۵). نتایج جدول تجزیه واریانس برش‌دهی نیز نشان داد که برهم‌کنش اسید جیبرلیک، طول دوره سرمادهی و دماهای جوانه‌زنی بر تمام صفات جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۶).

جدول ۵- تجزیه واریانس اثر دمای جوانه‌زنی، طول دوره سرمادهی و هورمون اسید جیبرلیک بر شاخص‌های جوانه زنی و گیاهچه‌ای بذر آوندول.

Table 5. Variance analysis of the effects of germination temperatures, stratification periods and gibberellic acid hormone on *Smyrnium cordifolium* Bioss seed germination and seedling

Source of Chang	Mean square				
	df	Germination percentage	Radicle length	Plumule length	Seedling Vigour Index
Germination temperature (A)	2	4657.5**	0.988**	0.700**	0.409**
Stratification period (B)	2	12148.9**	2.35**	2.809**	1.149**
Gibberellic acid (C)	6	1060.4**	0.117**	0.231**	0.114**
A×B	4	1164.4**	0.271**	0.193**	0.113**
A×C	12	195.1**	0.020**	0.020**	0.016**
B×C	12	380.3**	0.055**	0.080**	0.046**
A×B×C	24	123.5**	0.061**	0.065**	0.016**
Error	189	4.73	0.002**	0.003**	0.001**
CV (%)	-	17.88	27.27	30.97	28.30

**: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد.

**: Significant at 1% of probability level.

جدول ۶- تجزیه واریانس برش‌دهی اسید جیبرلیک و طول دوره سرمادهی برخی صفات جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای اندازه‌گیری شده بذر آوندول در دماهای مختلف جوانه‌زنی.

Table 6. Slicing analysis of variance of gibberellic acid and the of stratification periods on some germination and seedling traits of *Smyrnium cordifolium* Bioss. seeds at different germination temperatures.

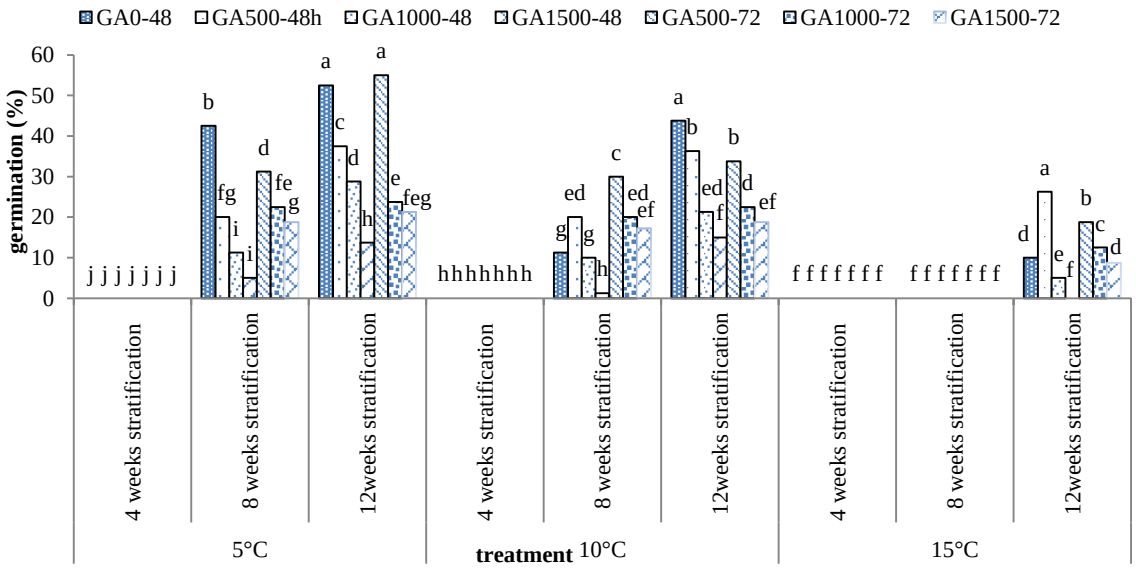
Germination temperature	df	Germination (%)	Radicle length	Plumule length	Seedling Vigour Index
5°C	20	1279.7**	0.157**	0.194**	0.116**
10°C	20	762.9**	0.187**	0.177**	0.082**
15°C	20	216.8**	0.099**	0.156**	0.030**

**: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد.

**: Significant at 1% of probability level.

نتایج مقایسه میانگین برهم‌کنش اسید جیبرلیک و طول دوره سرمادهی در دمای پنج درجه سانتی‌گراد نشان داد که بذرهای تیمار شده با اسیدجیبرلیک در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۷۲ ساعت (GA500ppm-72h) و ۱۲ هفته سرمادهی، دارای بیشترین درصد جوانه‌زنی (۵۵ درصد) بودند که با تیمار ۱۲ هفته سرمادهی بدون هورمون (GA0-48h) اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری نشان نداشتند (شکل۱). در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد، بیشترین درصد جوانه‌زنی در تیمار ۱۲ هفته سرمادهی و بدون هورمون (۴۳/۷۵) و در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد، فقط تیمارهایی با ۱۲ هفته سرمادهی جوانه‌زنی داشتند که بیشترین آن در پیش تیمار ۴۸ ساعت با ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید جیبرلیک (۲۶/۲۵) مشاهده شد. افزایش درصد جوانه-زنی تحت تأثیر اسید جیبرلیک و سرمادهی بر شکست خواب بذرهای آنغوزه، باریجه (*Ferula gummosa*) و کرفس کوهی (*Kelussia odoratissma*) (Farhoodi & Makizadeh Tafti, 2015; Sharifi *et al*, 2016)، کما (*Ferula ovina*) (Amoo Aghaie, 2007) ، جاشیر، آنغوزه (Keshtkar *et al.*, 2009)، ریواس (*Rheum ribes* L.) (Nabaei *et al*., 2011) و مریم گلی بنفش (*Salvia verticillata* L.)

(Khakpoor *et al.*, 2015) نیز گزارش شده است. دلایل متعددی پیرامون تأثیر مثبت سرمادهی بر شکستن خواب و بهبود ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر گیاهان گفته شده است که از این میان می‌توان به تحریک رشد جنین (Baskin & Baskin, 2014)، تحریک تولید اسید جیبرلیک در بذر و نفوذپذیر شدن سلول‌های بذر به اسید جیبرلیک (Fang *et al.*, 2006)، کاهش مقدار اسید آبسیزیک در بذر (Kucera *et al.*, 2005) و ایجاد یک تعادل هورمونی بین اسید جیبرلیک و اسید آبسیزیک در بذر اشاره کرد. مجموع این فرآیندها، زمینه را برای شکستن خواب و شروع فرآیند جوانه‌زنی در بذر مهیا می‌کنند. سرمادهی بذر آرابیدوبسیس، سبب افزایش رونویسی از ژن‌های دخیل در فعالیت اسید جیبرلیک شد و دلیل آن، نقش سرما در شکستن خواب بذر گیاهانی است که غلظت درونی اسید جیبرلیک در بذر آن‌ها برای آغاز فرایند جوانه‌زنی کم است (Yamauchi *et al.*, 2004).

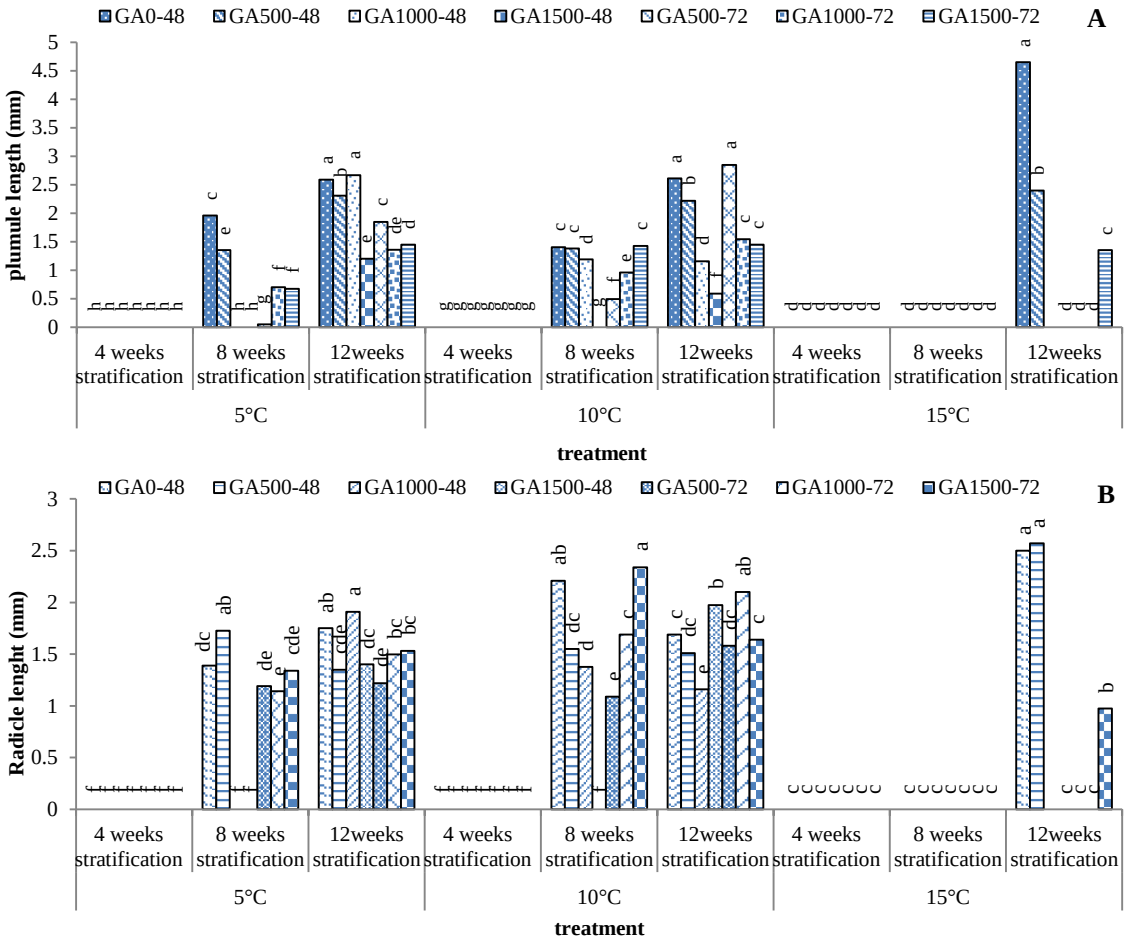


شکل۱- مقایسه میانگین اثر برهم‌کنش طول دوره سرمادهی و غلظت‌های اسید جیبرلیک در دماهای مختلف جوانه‌زنی بر صفت درصد جوانه‌زنی‌کل در بذر آوندول. در هر دما، میانگین‌های دارای حرف مشابه، در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون دانکن با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند. کدهای تیماری بالای نمودار به‌ترتیب از چپ به راست نشان دهنده غلظت اسید جیبرلیک و زمان پیش‌تیمار با اسید جیبرلیک است.

Figure 1. Mean comparison of the interaction effects of the stratification periods and gibberellic acid concentrations at different temperatures on *Smyrnium Cordifolium* Bioss. seeds germination percentage. In each temperature, means with the same letter are not significantly different at 5% of probability level based on test. The treatments codes above the diagram show gibberellic acid concentration and the pre-treatment duration from left to right.

طبق نتایج مقایسه میانگین (شکل۲ A) اثرات برهم-کنش طول دوره سرمادهی و اسید جیبرلیک در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد، بیشترین طول ساقه‌چه مربوط به تیمار ۱۲ هفته سرمادهی بدون هورمون با ۴/۶۵ میلی-متر بود. در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد، بیشترین طول ساقه‌چه در تیمار GA500ppm-72h با ۱۲ هفته سرمادهی (۲/۸۵) مشاهده شد. در دمای پنج درجه سانتی‌گراد، تیمار GA1000ppm-48h با ۱۲ هفته سرمادهی بیشترین مقدار طول ساقه‌چه را دارا بود که از لحاظ آماری با تیمار ۱۲ هفته سرمادهی اختلاف معنی‌داری نشان نداد. می‌توان گفت که در هر دما، با افزایش طول دوره سرمادهی از هشت هفته به ۱۲ هفته، طول ساقه‌چه افزایش یافت. در بررسی اثر برخی تیمارهای پیش‌رویشی برای شکست خواب دو توده زیره سیاه نشان داده شد که با افزایش زمان سرمادهی، طول ساقه‌چه افزایش معنی‌داری پیدا کرد (Nikkhah & Solimani, 2012). تلفیق تیمار اسید جیبرلیک در غلظت‌های پایین و سرمادهی مرطوب بر

روی بذر سوسن پرویی (*Alstroemeria ligtu* hybrid) نیز نقش مهمی بر افزایش طول ساقه‌چه این گیاه داشت (Nasri *et al.*, 2013). هورمون جیبرلین، تقسیم سلولی را به‌صورت طولی و به‌سرعت افزایش می‌دهد و از تنظیم کننده‌های اصلی گسترش دیواره سلولی و در نتیجه رشد می‌باشد. این هورمون با افزایش تقسیم سلولی و تحریک طویل شدن سلولی، موجبات رشد گیاه را فراهم می‌آورد (Zafariyan & Hoshmand, 2013). همچنین کاربرد اسیدجیبرلیک سبب افزایش طول میان‌گره‌ها و در نتیجه افزایش طول ساقه‌چه می‌شود (Taylor & Wearing, 1979). سرمادهی نیز تولید مواد تحریک‌کننده رشد نظیر جیبرلین را زیاد می‌کند و موجب رسیدن جیبرلین به محل فعالیت‌شان می‌شود (Soltanipoor *et al.*, 2010).



شکل۲- مقایسه میانگین اثر برهم‌کنش طول دوره سرمادهی و غلظت‌های اسید جیبرلیک در دماهای مختلف جوانه‌زنی بر طول ساقه‌چه شکل (A). و ریشه‌چه. شکل (B) در بذر آوندول. در هر دما، میانگین‌های دارای مشابه در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون دانکن با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند. کدهای تیماری بالای نمودار به‌ترتیب از چپ به راست، نشان دهنده غلظت اسید جیبرلیک و زمان پیش‌تیمار با اسید جیبرلیک است.

Figure 2 Mean comparison of the interaction effects of the stratification periods and gibberellic acid concentrations at different temperatureson plumule (A) and radicle length (B) in *Smyrnium cordifolium* Bioss. . In each temperature, means with the same letter are not significantly different in 5% of probability level based on Duncan multiple test. The treatments codes above the diagram show the gibberellic acid concentration and pre-treatment duration, from left to right.

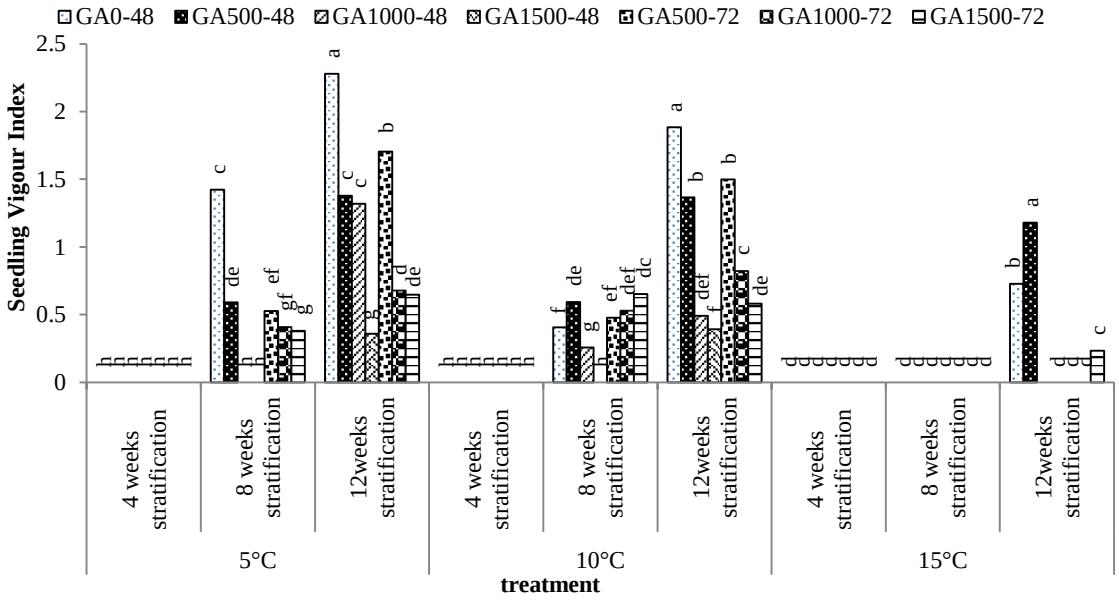
بیشترین طول ریشه‌چه به‌ترتیب در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد و در تیمار GA500-48 با ۱۲ هفته سرمادهی (۲/۵۷ میلی‌متر)، دمای ۱۰ درجه سانتی-گرادو تیمار GA1500-72 با هشت هفته سرمادهی و

در دمای پنج درجه سانتی‌گراد و تیمار GA1000-48 با ۱۲ هفته سرمادهی (۱/۹۱) مشاهده شد (شکل۲ ب). در هر سه دما، ۱۲ هفته سرمادهی، بیشترین اثر را روی طول ریشه‌چه نشان داد. در گیاه ازگیل ژاپنی مشاهده شد که سرمادهی مرطوب، خصوصیات رشدی گیاهچه از جمله طول ساقه‌چه و ریشه‌چه و وزن خشک را به طور معنی‌داری افزایش داد (Amoo Aghaie, 2010). در مطالعه‌ای بر روی درخت انار مشخص شد که تیمار همزمان سرمادهی و اسید جیبرلیک، سبب افزایش طول و وزن تر ریشه شد (Rawat *et al.*, 2010). سرما و هورمون، دو عامل موثر در جوانه‌زنی هستند که باعث جوانه‌زنی سریع‌تر بذرها و در نتیجه تکمیل سریع‌تر رشد رویشی گیاه می‌شوند. در واقع می‌توان گفت که بخشی از افزایش این شاخص‌ها، به جوانه‌زنی زودهنگام در این تیمارها مربوط است و بخشی دیگر، احتمالاً به دلیل تعدیلات هورمونی ایجاد شده در جهت جوانه‌زنی در اثر تیمار پیش سرما می‌باشد. اسید جیبرلیک با افزایش کشش دیواره سلولی یعنی انبساط دیواره از طریق هیدرولیز نشاسته به قند که کاهش پتانسیل آب سلول را به دنبال دارد، باعث ورود آب به درون سلول و طویل شدن سلول می‌شود (Stuart & Jones, 1977).

در دمای پنج و ۱۰ درجه سانتی‌گراد، بیشترین مقدار بنیه گیاهچه در ۱۲ هفته سرمادهی بدون هورمون مشاهده شد (شکل۳). در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد نیز تیمار GA500-72 با ۱۲ هفته سرمادهی، اثر بیشتری بر شاخص بنیه نشان داد. با افزایش زمان سرمادهی در همه دماها، میزان بنیه گیاهچه در همه تیمارهای اعمال شده افزایش پیدا کرد. بعد از تیمار سرمادهی، به‌نظر می‌رسد با این‌که بعضی از تیمارهای هورمونی، اختلاف معنی‌داری از لحاظ غلظت باهم در زمان پیش تیمار و سرمادهی مربوط به خود ندارند، ولی با افزایش غلظت هورمون از ۵۰۰ به ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر، صفت بنیه کاهش یافت. گیاهچه‌هایی که از بذرهای تیمار شده گیاه نمدار (*Tilia platyphyllus* Scop)، با اسید جیبرلیک و سرما تولید می‌شوند، رشد اولیه بیشتری دارند. تسریع و افزایش در رشد گیاهچه، باعث تسریع در سبز شدن و در نتیجه استقرار بهتر گیاهچه می‌شود (Nasiri, 2006). تلفیق تیمار اسید جیبرلیک و سرما با یکدیگر، سبب افزایش سرعت جوانه‌زنی، طول گیاهچه و شاخص بنیه در گیاه *Satureja sahendica* شد (Alizadeh, *et al.*, 2012). اثر تیمارهای مختلف رفع خواب جهت القاء رویش روی چهار گیاه دارویی جنس مرزه (*Satureja* spp.) مشخص نمود که شاخص بنیه، وزن تر و خشک گیاهچه در دو جمعیت قزوین و لرستان در تیمارهای پس‌رسی و سرمادهی، بیش از سایر تیمارها بهبود یافت (Alizadeh, *et al.*, 2016). تیمار سرمادهی با افزایش تقسیم سلولی و دیگر فعالیت‌های متابولیکی، باعث افزایش طول ساقه‌چه و ریشه‌چه می‌شود که خود از دلایل افزایش بنیه گیاهچه است. سرمادهی بر فعالیت‌های فیزیولوژیکی بذر مؤثر است و از طرفی اسید جیبرلیک، باعث افزایش درصد جوانه‌زنی و طول گیاهچه و در نهایت بنیه گیاهچه می‌شود (Golmohamdzadeh *et al.*, 2015).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که در همه دماها، با افزایش زمان سرمادهی، شاخص‌های جوانه‌زنی اندازه‌گیری شده افزایش یافتند. همچنین پیش تیمار بذر با اسید جیبرلیک، باعث افزایش فعالیت آلفا آمیلاز در همه زمان‌های سرمادهی شد. پیش‌تیمار بذر با هورمون در زمان‌های سرمادهی دو، چهار، شش و هشت هفته در مقایسه با تیمار بدون سرمادهی، سبب بهبود محتوی پراکسیدهیدروژن بذر شد. به‌طورکلی نتایج این آزمایش نشان داد که پیش‌تیمار بذر به مدت ۷۲ ساعت با ۵۰۰ میلی‌گرم اسید جیبرلیک در لیتر و ۱۲ هفته سرمادهی و دمای پنج درجه سانتی‌گراد، باعث افزایش درصد جوانه‌زنی بذر آوندول می‌شود.



شکل۳- مقایسه میانگین اثر برهم‌کنش طول دوره سرمادهی و غلظت‌های اسید جیبرلیک در دماهای مختلف جوانه‌زنی بر بنیه گیاهچه در بذر آوندول.

Figure 3. Mean comparison of the interaction effects of stratification period and gibberellic acid concentrations at different temperatures on seedling vigour index of *Smyrnium cordifolium* Bioss.

REFERENCES

1. Abdul-Baki, A. A. & Anderson, J. D. (1973). Vigor determination in soybean seed by multiple criteria 1. *Crop Science*, 13(6), 630-633.
2. Alizadeh, M. A., Arab, H. A., Tabai Aghdaei, R., Nasiri, M. & Jafari, A. A. (2012). Evaluation germination and vigor of seed and seedling for some population of *Satureja sahendica* with physical and chemical treatment. In: *Proceedings of 12th Iran Agriculture and Plant Breeding*. 4-6 Sep, Karaj university, Karaj, Iran.
3. Alizadeh, M. A., Hossein Pour Ghazvini, A. A., Jafari, A.A. & Daneshyan, J. (2016). Effect of different treatments removal seed dormancy for induction of growth and seedlings vigor in populations of four species *Satureja* spp. seductive medicine genus Saturej. *Iranian Journal of Seed Science and Technology*, 5(2), 223-233. (In Persian).
4. Amiri, H., Khavari-Nejad, R. & Rustaiyan, A. (2007). Chemical composition of essential oil and the study of secretory anatomy from *Smyrnium cordifolium* Boiss. *Pajouhesh and Sazandegi*, 19(4), 11-16. (In Persian).
5. Amiri, H. (2007). Antibacterial activity of essential oil and different extracts from *Smyrnium cordifolium* Boiss. *Pharmaceutical Sciences*,12(4), 15-19. (In Persian).
6. Amoo Aghaie, R. (2010). The effect of GA_3 and moist chilling on stimulation of seed germination and subsequent seedling growth of loquat. *Iranian Journal of Biology*, 23(2), 299-308. (In Persian).
7. Amoo Aghaie, R. (2007). The effect of GA_3 and moist chilling on seed dormancy breaking *Ferula ovina* Boiss. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 11(40), 471-481. (In Persian).
8. Baker, J. E. (1991). Purification and partial characterization of α-amylase allozymes from the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica*. *Insect Biochemistry*, *21*(3), 303-311.
9. Baskin, C. C. & Baskin, J. M. (2014). *Seeds: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination*. Second edition. San Diego: Elsevier/Academic Press.
10. Baskin, J. M. & Baskin, C. C. (1990). Germination ecophysiology of seeds of the winter annual *Chaerophyllum tainturieri*: A new type of morphophysiological dormancy. *The Journal of Ecology*, 78(4), 993-1004.

11. Baskin, J. M. & Baskin, C. C. (2004). A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research*, 14(1), 1-16.
12. Bernfeld, P. (1955). Amylases alpha and beta methods in enzymology. *Methods in Enzymology*, 1, 149-158.
13. Debska, K., Krasuska, U., Budnicka, K., Bogatek, R. & 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*, 5(170), 480-488.
14. El-Maarouf-Bouteau, H. & Bailly, C. (2008). Oxidative signaling in seed germination and dormancy. *Plant Signaling & Behavior*, 3(3), 175-182.
15. Fang, S., Wang, J., Wei, Z. & Zhu, Z. (2006). Methods to break seed dormancy in *Cyclocarya paliurus* (batal) iljinskaja. *Scientia Horticulturae*, 110(3), 305-309.
16. Farhoodi, R. & Makizadeh Tafti, M. (2015). Study breaking seed dormancy of *Kelussia odoratissma* under the influence of gibberellic acid and cold treatments. *Iranian Journal of Seed Science and Technology*, 3(2), 241- 249. (In Persian).
17. Fasih, M. & Tavakkol Afshari, R. (2018). The morphophysiological dormancy of *Ferula ovina* seeds is alleviated by low temperature and hydrogen peroxide. *Seed Science Research*, 28(1), 52-62.
18. Golmohamdzadeh, S., Zaefarian, F. & Rezvani, M. (2015). Effects of some chemical factors, prechilling treatments and interactions on the seed dormancy breaking of two Papaver species. *Weed Biology and Management*, 15(1), 11-19.
19. Gupta, V. 2003. Seed germination and dormancy breaking techniques for indigenous medicinal and aromatic plants. *Medicinal and Aromatic Plant Sciences*, 25, 402-407.
20. Keshtkar, H. R., Azarnivand, H. & Atashi, H. (2009). Effect of prechilling and GA_3 on seed germination of *Ferula assa-foetida* and *Prangos ferulacea*. *Seed Science and Technology*, 37(2), 464-468.
21. Khakpoor, A., Bibalani, G. H. & Mahdavi, S.K. (2015). Optimal treatment increased the seed germination of *Salvia verticillata* L. *Journal of BioScience & Biotechnology*, 4(3), 255-262.
22. Koornneef, M. Bentsink, L. & Hilhorst, H. 2002. Seed dormancy and germination. *Plant Biology*, 5(1), 33-36.
23. Kretshmer, M. (1999). Optimal germination temperature range and dormancy in apiaceae seeds. *Gemus Munchen*, 35, 526-528.
24. Lewak, S. (2011). Metabolic control of embryonic dormancy in apple seed: Seven decades of research. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33(1), 1-24.
25. Liu, L., Xia, W., Li, H., Zeng, H., Wei, B., Han, S. & Yin, C. (2018). Salinity inhibits rice seed germination by reducing α-amylase activity via decreased bioactive gibberellin content. *Frontiers in Plant Science*, 9, 275.
26. Loreto, F. & Velikova, V. (2001). Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of cellular membranes. *Plant Physiology*, 127(4), 1781-1787.
27. Makkar, H.P.S., Siddhuraju, P. & Becker, K. (2007) *Plant Secondary Metabolites*. Humana Press Inc, Totowa.
28. Mellati, F., Parsa, M. & Lale Gani, B. (2010). Study of germination behaviors and desirable planting dates in *Dorema ammoniacum*, *Ferula assa-foetida* & *Ferula gummosa*. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 8(3), 521-530. (In Persian).
29. Moradi, A., Bazi, T., Masumiasl, A. & Zaree, T. (2017). The effect of germination temperature on antioxidant enzymes activities and seed germination of *Prangos ferulacea* seeds harvested at different seed moisture content. *Iranian Journal of Field Crop Science,* 8(48), 79-88.
30. Mozaffarian, V. (2013). *Recognition of medicinal and aromatic herbs of Iran*. Contemporary Culture Publishing House. 1444P.
31. Muller, K., Carstens, A. C., Linkies, A., Torres, M. A. & Leubner-Metzger, G. (2009). The NADPH-oxidase AtrbohB plays a role in *Arabidopsis* seed after-ripening. *New Phytologist*, 184(4), 885-897.

32. Nabaei, M., Roshandel, P. & Mohammadkhani, A. (2011). Effective techniques to break seed dormancy and stimulate seed germination in *Rheum ribes* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 17(2), 212-223. (In Persian).
33. Nadjafi, F., Bannayan, M., Tabrizi, L. & Rastgoo, M. (2006). Seed germination and dormancy breaking techniques for *Ferula gummosa* and *Teucrium polium*. *Journal of Arid Environments*, 64(3), 542-547.
34. Nasiri, M. (2008). Investigation of suitable seed germination enhancement & breaking seed dormancy treatment of Montpellier maple (*Acer monospessulanum* L.). *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, 16(1), 94-105.
35. Nasiri, M. (2006). The optimal treatment for seed germination of large-leaved lime (*Tilia platyphyllus* Scop). *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, 14(3), 148-154. (In Persian).
36. Nikkhah, N. & Solimani, A. (2012). The effects of pre-treatment preparations and some chemical compounds on the breakdown of dormancy, seed germination and growth of seedlings of two masses of caraway seeds.in: Proceedings *of 3rd National Conference on Agricultural Science and Food Industry*, 6 Des., Islamic Azad University of Khorasgan Branch, Iran, Esfahan.
37. Oracz, K., El-Maarouf-Bouteau, H., Kranner, I., Bogatek, R., Corbineau, F. & Bailly, C. (2009). The mechanisms involved in seed dormancy alleviation by hydrogen cyanide unravel the role of reactive oxygen species as key factors of cellular signaling during germination. *Plant Physiology*, 150(1), 494-505.
38. Rajabian, T., Saboura, A., Hasani, B. & Falah, H. H. (2007). Effects of GA_3 and chilling on seed germination of *Ferula assa-foetida*, as a medicinal plant. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 23(3), 391-404. (In Persian).
39. Rawat, J. M. S., Tomar, Y. K. & Rawat, V. (2010). Effect of stratification on seed germination and seedling performance of wild pomegranate. *Journal of American Science*, 6(5), 97-99.
40. Razavi, S. M. & Hajiboland, R. (2009). Dormancy breaking and germination of *prangos ferulacea* seeds. *Journal of Biosciences* (EurAsian), 3, 78-83.
41. Rechinger, K. H. (1982). *Flora iranica*. akademische druck-u. Verlagsanstalt. GrazAustria. 150, 292-316.
42. Safaian, R. & Azarnivand, H. (2010). The effect of some treatments on seed dormancy breaking and germination of *Prangos ferulacea* (L.) Lindl. *Iranian Journal of Range and Desert Research*, 17(2), 331-339. (In Persian).
43. Salehi, A., Masoumiasl, A. & Moradi, A. (2015). Evaluation of the effective methods of seed dormancy breaking in medicinal plant of bilhar (*Dorema aucheri*). *Iranian Journal of Seed Research*, 2 (1), 65-72.
44. Shamsi, F., Roshandel, P. & Kharazian. N. (2015). Effects of different treatments on breaking seed dormancy in saltbush (*Atriplex leucoclada* Boiss.). *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 28(5), 1043-1053. (In Persian).
45. Sharifi, H., Khajeh-Hosseini, M. & Rashed-Mohassel, M. H. (2015). Study of seed dormancy in seven medicinal species from Apiaceae. *Iranian Journal of Seed Research, 2*(1), 25-36. (In Persian).
46. Sharifi, H., Nemati, A. & Gerdakaneh, M. (2016). Effects of breaking dormancy on seed germination characteristics in two medicinal plants species *Allium altissimum* & *Rubia tinctorum. Journal of Seed Ecophysiology*,1(2),105-116. (In Persian).
47. Soltanipoor, M., Asadpoor, R., Hajebi, A. & Moradi, N. (2010). Study of pre-treatments on seed germination of *Foeniculum vulgare* L., *Salvia sharifii Rech*. et Esfand. and *Abutilon fruticosum* Guill. et Perr. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 25*(4), 528-539. (In Persian).
48. Stuart, D. A. & Jones, R. L. (1977). Roles of extensibility and turgor in gibberellin-and dark-stimulated growth. *Plant Physiology*, 59(1), 61-68.
49. Tabaraki, R. & Ghadiri, F. (2013). In vitro antioxidant activities of aqueous and methanolic extracts of *Smyrnium cordifolium* Boiss and *Sinapis arvensis* L. *International Food Research Journal*, 20(5), 2111-2115.
50. Tipirdamaz, R. & Gomurgen, N. (2000). The effects of temperature and gibberellic acid on germination of *Eranthis hyemalis* (L.) salisb seeds. *Turkish Journal of Botany*, 24(2), 143-145.
51. Tavili, A., Safari, B. & Saberi, M. (2009). Comparing effect of gibberellic acid and potassium nitrate application on germination enhancement of *Salsola rigida*. *Rangeland*, 3(2), 272-280. (In Persian).

52. Taylor, J. & Wareing, P. (1979). The effect of stratification on the endogenous levels of gibberellins and cytokinins in seeds of douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (mirb.) franco) and sugar pine (*Pinus lambertiana* dougl.). *Plant, Cell & Environment*, 2(2), 165-171.
53. Vandelook, F., Bolle, N. & Van Assche, J. A. (2007a). Seed dormancy and germination of the *European chaerophyllum* temulum (Apiaceae), a member of a Trans-Atlantic genus. *Annals of Botany*, 100(2), 233-239.
54. Vandelook, F., Bolle, N. & Van Assche, J. A. (2007b). Multiple environmental signals required for embryo growth and germination of seeds of *Selinum carvifolia* L. and *Angelica sylvestris* L. (Apiaceae). *Seed Science Research*, 17(04), 283-291.
55. Yamauchi, Y., Ogawa, M., Kuwahara, A., Hanada, A., Kamiya, Y. & Yamaguchi, S. (2004). Activation of gibberellin biosynthesis and response pathways by low temperature during imbibition of *Arabidopsis thaliana* seeds. *The Plant Cell*, 16(2), 367-378.
56. Zhang, Y., Lu, S. & Gao, H. (2012). Effects of stratification and hormone treatments on germination and physio-biochemical properties of *Taxus chinensis* var. mairei seed. *American Journal of Plant Sciences*, *3*(7), 829-835.
57. Zafariyan, S. & Hoshmand, S. 2013. Study of time, rate and manner of applying benzylaminoporin and gibberellic acid growth regulators on seed dormancy breakdown of *Kelussia odoratissima* M. plant. *Magazine for the Production and Processing of Crops and Garden*, 3(8), 165-175. (In Persian).