فصلنامهٔ علمی - پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲۲ شمارهٔ ۲ ، صفحهٔ ۱۰۵ - ۱۱۶، (۱۳۸۵)

تعیین بهترین تیمار افزایش جوانه‌زنی بذر گیاهان دارویی روناس (*Rubia tinctorum* L.)، اکیناسه (*Echinacea angustifolia* D.C.) و مورد (*Myrtus communis* L.)

مریم مکی‌زاده تفتی[1*]، روزبه فرهودی[2]، حسنعلی نقدی بادی[3] و علی مهدی زاده[4]

۱ـ عضو هیأت علمی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی تهران، خیابان انقلاب،خیابان قدس،خیابان بزرگمهر غربی،شماره۹۷ ، صندوق پستی ۱۳۱٤٥-۱٤٤٦، e-mail: marytafti@yahoo.com
۲ـ عضو هیأت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر و دانشجوی دکتری زراعت دانشگاه تهران
۳ـ عضو هیأت علمی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی و دانشجوی دکتری زراعت دانشگاه تربیت مدرس
٤- کارشناس کشاورزی،جهاد کشاورزی استان گیلان

چکیده

در این تحقیق، به منظور تعیین مناسبترین تیمار جهت شکستن خواب بذرهای ۳ گونه دارویی روناس، اکیناسه و مورد سه آزمایش جداگانه انجام شد. در آزمایش اول جهت شکستن خواب بذر روناس تیمارهای روشنایی به مدت ۲٤ ساعت، اسید جیبرلیک ۵۰۰ پی‌پی‌ام، خراش‌دهی پوسته بذر با سمباده، خراش‌دهی پوسته بذر با اسید سولفوریک ۹۰ درصد به مدت ۱۰، ۱۵ و ۲۰ دقیقه، خراش‌دهی پوسته بذر با آب گرم ۷۰°C و ۹۰ °C به مدت ۵ و ۱۰ دقیقه و سرمادهی بذر به مدت ۲، ٤ و ٦ هفته اعمال گردید که نتایج نشان داد که بالاترین درصد جوانه‌زنی مربوط به تیمار اسید سولفوریک ۹۰ درصد به مدت ۱۵ دقیقه می باشد.از آنجا که مشکل خواب بذرهای روناس تحت تیمارهای خراش‌دهی پوسته توسط اسید سولفوریک رفع شد، می‌توان نتیجه گرفت خواب این بذرها از نوع فیزیکی بوده و ناشی از پوسته بذر می‌باشد.در آزمایش دوم به منظور شکستن خواب بذر اکیناسه، تیمارهای جیبرلیک اسید در دو غلظت ۲۵۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام، نیترات پتاسیم، سرمادهی به مدت ٤، ۷ و ۱۰ هفته، روشنایی به مدت ۲٤ ساعت و تیمار تلفیقی جیبرلیک اسید ۲۵۰ پی‌پی‌ام و سرمادهی به مدت ٤ هفته اعمال گردید و بالاترین درصد جوانه‌زنی در تیمار تلفیقی کاربرد جیبرلیک اسید بر روی بذرهای سرمادهی شده حاصل شد. از آنجاکه بذرهای تحت تیمار سرما و جیبرلیک اسید که نوعی جایگزین سرما می باشد دارای بالاترین درصد جوانه زنی بودند، می توان گفت که خواب بذر از نوع فیزیولوژیک بوده و عامل دخیل در این خواب، نارس بودن جنین ،وجود عامل بازدارنده در بذر و یا هر دو عامل می‌باشد.در آزمایش سوم که به‌منظور شکستن خواب بذر گیاه مورد اجرا شد تیمارهای جیبرلیک اسید در دو غلظت ۲۵۰ و۵۰۰ پی‌پی‌ام ،سرمادهی به مدت ۷ و ۱۰ هفته و خراش‌دهی مکانیکی توسط کاغذ سنباده و شکاف دهی پوسته با تیغ اعمال گردید که در این آزمایش، بالاترین درصد جوانه زنی در تیمار شکاف دهی پوسته حاصل شد.افزایش جوانه زنی بذرهای گیاه مورد تحت تیمارهای خراش‌دهی پوسته بذر موید وجود مقاومت مکانیکی پوسته در مقابل خروج جوانه است و به عبارت دیگر، پوسته به عنوان یک مانع فیزیکی از طریق ممانعت از گسترش رویان و یا از طریق ایجاد محدودیت در جذب آب و شاید تبادلات گازی عمل می کند.

واژه های کلیدی: خواب بذر ،جوانه زنی، روناس، اکیناسه، مورد

مقدمه

بذرهای بسیاری از گیاهان مرتعی ، دارویی و علفهای هرز موجود در رویشگاههای طبیعی با داشتن یکی از انواع خواب از طریق گسترش زمان و مکان جوانه‌زنی بقای خود را برای سالهای طولانی تضمین می‌کنند، اما برای تکثیر و کشت این گیاهان، رهایی از خواب و جوانه‌زنی یکنواخت بذرها ضروری می‌باشد.

خواب بذر در واقع یک پدیده ای فیزیولوژیکی است که بذرهای بسیاری از گیاهان زراعی یا خودرو با آن مواجه هستند و خواب به آن ها امکان می‌دهد که در مقابل شرایط نامساعد محیطی زنده بمانند و آنها را قادر

می‌سازد که بقای لازم را در مقابل شرایط خطرناک و نامناسب محیطی داشته باشند(تاجبخش، ۱۳۷۵). عوامل مؤثر در خواب بذر شامل پوسته بذر (نفوذ ناپذیری پوسته بذر نسبت به آب ،نفوذ ناپذیری پوسته بذر نسبت به اکسیژن و مقاومت مکانیکی پوسته بذر)، جنین (جنین در حال رکود و جنین نابالغ) و بازدارنده‌ها (وجود مواد بازدارنده در بذرها) می‌باشد که هر کدام از این سازوکارها به دلایل گوناگونی اتفاق افتاده و با توجه به عامل ایجاد کننده خواب، روشهای مختلفی برای تحریک جوانه‌زنی بذرها وجود دارد (لطیفی، ۱۳۸۰).

بنابراین با توجه به جوانه زنی اندک بذرهای گونه‌های روناس، اکیناسه و مورد و وجود منابع علمی ضد و نقیض پیرامون تیمار مناسب برای افزایش جوانه زنی بذرهای آن ها و همچنین اهمیت فوق‌العاده و روز افزون این گیاهان در طب گیاهی جدید، این تحقیق با هدف شناسایی و تعیین مناسبترین تیمار جهت شکستن خواب بذر ۳ گونه دارویی روناس، اکیناسه و مورد موجود در بانک ژن پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی اجرا شد.

ویژگیهای گیاه شناختی وخواص دارویی گیاهان تحت بررسی

روناس

روناس(*Rubia tinctorum* L.) گیاهی است علفی و پایا به ارتفاع ۰/۵ تا ۱/۵ متر از خانواده Rubiaceae که به حالت وحشی در منطقه مدیترانه از اسپانیا تا آسیای صغیر و همچنین در شمال آفریقا و برخی نواحی آسیا می روید. منشا روناس قفقاز و خاور نزدیک می باشد و این گیاه از دیر باز در نواحی مرکزی و غربی ایران می روید(زرگری، ۱۳۷۰). برگهای این گیاه دارای آرایش چرخه ای بوده و هر چرخه شامل ٤ تا ٦ برگ پهن دراز یا سرنیزه ای شکل می‌باشد.گلها زردرنگ و به صورت مجتمع در گرزن های دوشاخه در کنار برگها می باشد. میوه‌ها آبدار، سته مانند، کروی و سیاهرنگ می باشند(قهرمان، ۱۳٦۷). اندام اصلی مورد استفاده روناس ریشه ها و ریزوم های آن بوده که حاوی ترکیبها آلیزارین، اسید روبیستریک و پورپورین می باشند(زرگری، ۱۳۷۰). این گیاه در طب سنتی به عنوان مدر، صفرابر و دافع سنگ کلیه و مثانه بکار می رود (Chevallier, 1996 و زرگری، ۱۳۷۰).

به رغم اهمیت صنعتی،دارویی و مرتعی گیاه روناس و به ویژه آنکه این گونه بومی ایران نیز می‌باشد تاکنون تحقیق جامعی درباره غلبه بر خواب بذر آن انجام نگرفته است.

اکیناسه

اکیناسه (*Echinacea angustifolia* D.C.) گیاهی است چندساله از خانواده Asteraceae که ارتفاع آن به ۱۲۰-٦۰ سانتیمتر می‌رسد.این گیاه دارای ساقه عمودی، برگهای متقابل، تخم مرغی شکل و نیزه ای ، زبر و دندانه دار است.ریشه آن افشان بوده و گلهای آن بنفش رنگ، مخروطی شکل و منفرد می باشد(یزدانی، ۱۳۸۳). این گیاه بومی آمریکای شمالی بوده و در حال حاضر کشت آن در ایران روبه گسترش است. اکیناسه دارای جایگاه مهمی در داروهای گیاهی غرب بوده و دارای خاصیت تقویت سیستم ایمنی ،بهبود زخمها ،ضد آلرژی ،آنتی بیوتیک و پیشگیری کننده عفونت دستگاه تنفسی فوقانی و سرماخوردگی می‌باشد (Parmenter *et* Chevallier, 1996 ;*al.*, 1992; Macchia *et al.*, 2001).

مطالعات Smith – Jochum و Albercht (۱۹۸۷) نشان داده که بذرهای سه گونه دارویی اکیناسه دارای جوانه زنی پایینی بوده که البته گونه های *Echinacea pallida* و *Echinacea angustifolia* دارای خواب سخت‌تری نسبت به گونه *Echinacea purpurea* می‌باشند. لازم به ذکر است که بذرهای گونه *E. purpurea* بدون اعمال تیمار دارای ۷۰٪ جوانه‌زنی بودند، ولی بذرهای دو گونه *E. pallida* و *E. angustifolia* حتی پس از ٤۰ روز سرمادهی نیز صفر تا ۱ درصد جوانه زنی داشتند. در تحقیقی توسط Blake

(۱۹۳۵) مشاهده شد که هنگامی که بذرهای *E. pallida* و *E. angustifolia* به طور مستقیم در بهار کشت شوند جوانه زنی مشاهده نمی‌گردد، ولی در کشت پاییزی، جوانه زنی بذرها به ۲ تا ۳۸ درصد می‌رسد. در تحقیقی مشابه که توسط Salac و همکاران (۱۹۸۲) انجام شد در کاشت بهاره بذور *E. angustifolia* ، ۵ درصد جوانه زنی و در کشت پاییزی بذرها، ۵ تا ۷۵ درصد جوانه زنی مشاهده گردید. Parmenter و همکاران (۱۹۹۲) برای شکستن خواب بذر گونه *E. angustifolia* ، سرمادهی به مدت بیش از ۱۰ تا ۱۵ هفته را پیشنهاد کرده‌اند. در مطالعه دیگری برای بذرهای گونه *E. angustifolia* ،سرمادهی به مدت ٤ تا ٦ هفته پیشنهاد شده است (Li, 1998).

محققان دیگری گزارش کرده‌اند که بذرهای *E. angustifolia* هنگامی که در معرض نور و تاریکی قرار گرفتند به ترتیب صفر تا ٦ درصد و صفر تا ۲ درصد جوانه زنی داشتند، اما با ۱۲ هفته سرمادهی خواب بذر شکسته شد (Baskin *et al.*, 1992). همچنین Macchia و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند که سرمادهی بذرهای گونه *E. angustifolia* در معرض نور و اتفون به مدت ۱۱ روز باعث افزایش درصد جوانه زنی به میزان ۹۰ درصد خواهد شد.

مورد (مورت سبز)

مورد(*Myrtus communis* L.) درختچه ای است همیشه سبز از خانواده Myrtaceae به ارتفاع ۱ تا ۳ متر که دارای ساقه های بسیار متعدد و منشعب می باشد. برگهای این گیاه متقابل، به ابعاد(۱-۰/۷)×(۳-۱/۵) سانتیمتر، بدون دمبرگ، تخم مرغی- سرنیزه ای، چرمی و براق می باشند. گلها سفید رنگ، منفرد، به قطر تا ۲ سانتیمتر بوده و میوه‌ها سته و به رنگ آبی تیره متمایل به سیاه می باشد (قهرمان،۱۳۷۵). این گیاه بومی غرب آسیا، جنوب غرب اروپا و مدیترانه بوده و از قدیم مورد شناسایی ایرانیان بوده و در میان ملل مختلف نماد جوانی، زیبایی، عشق و ابدیت می باشد. قسمت مورد استفاده این درختچه برگ، میوه و گال موجود برروی ساقه آن می باشد.اثر درمانی این گیاه مربوط به اسانسی است که در اعضای مختلف این گیاه به ویژه در برگ آن وجود دارد (زرگری، ۱۳۷۵). این گیاه در طب سنتی و داروسازی به عنوان آنتی باکتریال، آنتی سپتیک، تونیک و در درمان ناراحتی‌های مجاری ادراری و تنفسی کاربرد دارد (Chevallier, Ritter, 1997 ; Al-Zohri *et al.*, 1985 ; 1996 و زرگری، ۱۳۷۵). به دلیل مشکلات موجود در جوانه زنی بذرهای گیاه مورد، روش تکثیر این گیاه قلمه ساقه می باشد و زمانی که کشت بذر مد نظر باشد بدون تردید نیاز به تیمارهای پیش از جوانه زنی می باشد. Dirr و Heuser (۱۹۸۷) و Raulston و Tripp (۱۹۹۵) نشان دادند که سرمادهی به مدت ۳۰ روز سبب افزایش جوانه زنی بذرهای مورد می شود. در مطالعه دیگری، (Fordham, 1983) گزارش شده که بذرهای این گیاه به دلیل داشتن پوشش مومی برای جوانه‌زنی مطلوب نیاز به تیمار خراش‌دهی پوسته به همراه ۹۰ روز سرمادهی دارند.

مواد و روشها

این تحقیق به صورت سه آزمایش جداگانه و در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار انجام شد.بذرهای مورد بررسی از مزرعه تحقیقاتی گروه پژوهشی کشت و توسعه پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی واقع در هلجرد کرج جمع آوری گردیدند.به منظور اجرای این آزمایش، برای هر تیمار از ٤ ظرف پتری که داخل هر کدام از آنها ۲۵ عدد بذر قرار داده شده بود استفاده گردید که هر ظرف پتری به منزله یک تکرار محسوب می شد. کشت بذرها در ظرفهای پتری با قطر ۹۰ و ضخامت ۱۵ میلیمتر انجام و در هر ظرف پتری یک عدد کاغذ صافی واتمن شماره ۱ قرار داده شد.کاغذهای صافی به مدت ۲-۱ ساعت در آون ۱۸۰ درجه سانتیگراد ضد عفونی شده بودند .بذرها به منظور ضد عفونی به مدت ۵ دقیقه در

محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۲۵ درصد قرار گرفتند و بلافاصله ۳-۲ مرتبه با آب مقطر شسته شدند.

در آزمایش اول تیمارهای اعمال شده جهت شکستن خواب بذرهای گیاه روناس عبارت بودند از:

- شاهد (آب مقطر)
- جیبرلیک اسید با غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام
- خراش‌دهی پوسته بذر با کاغذ سمباده
- تیمار بذر با اسید سولفوریک ۹۰ درصد به مدت ۱۰، ۱۵ و ۲۰ دقیقه
- تیمار بذر با آب گرم $70^{\circ}c$ و $90^{\circ}c$ به مدت ۵ و ۱۰ دقیقه
- روشنایی مطلق (۲٤ ساعته)
- سرمادهی بذرها به مدت ۲، ٤ و ٦ هفته و در دمای ۲ تا ٤ درجه سانتیگراد

در تیمار کاربرد اسید جیبرلیک، بذرها در بستر کاغذی مرطوب شده با ۷ میلی لیتر محلول ۵۰۰ پی‌پی ام جیبرلیک اسید قرار گرفتند. در تیمار سرمادهی، بذرها به مدت ۲، ٤ و ٦ هفته در ماسه مرطوب استریل شده و در دمای ۲ تا ٤ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. جهت اجرای تیمار آب گرم، ابتدا دمای آب توسط حمام بن ماری به $70^{\circ}c$ و $90^{\circ}c$ رسید و بعد بذرها به مدت ۵ و ۱۰ دقیقه در آب $70^{\circ}c$ و $90^{\circ}c$ قرار گرفتند. جهت اعمال تیمار اسید سولفوریک، بذرها به مدت ۱۰، ۱۵ و ۲۰ دقیقه در اسید سولفوریک غلیظ قرار داده شدند و سپس سه مرتبه با آب مقطر شستشو داده شدند.جهت اعمال تیمار خراش‌دهی با سمباده، پوسته بذرها حدود ۲۰ ثانیه توسط کاغذ سمباده (میان دو لایه کاغذ سمباده) مالش داده شد و برای اعمال تیمار روشنایی، بذرها در کل دوره آزمایش به صورت ۲٤ ساعته در معرض نور قرار گرفتند.

پس از اعمال تیمارهای فوق، بذرها جهت انجام آزمون جوانه زنی درون ظرفهای پتری که توسط ۷ میلی لیتر آب مقطر (به استثنای تیمار اسید جیبرلیک) مرطوب شده بودند قرار گرفتند. جهت جوانه زنی از ژرمیناتوری با درجه حرارت ۲۵ درجه سانتیگراد، ۱٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی(به استثنای تیمار روشنایی مطلق) و ٦۰ درصد رطوبت استفاده شد. نخستین شمارش جوانه زنی در سومین روز و آخرین شمارش ۲٤ روز پس از اعمال تیمارها انجام گرفت.

در آزمایش دوم تیمارهای اعمال شده جهت شکستن خواب بذر گیاه اکیناسه عبارت بودند از:

- شاهد (آب مقطر)
- جیبرلیک اسید با غلظت ۲۵۰ پی‌پی‌ام
- جیبرلیک اسید با غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام
- نیترات پتاسیم (۰/۳ درصد)
- روشنایی مطلق (۲٤ساعته)
- سرمادهی به مدت ٤ هفته و در دمای ۲ تا ٤ درجه سانتیگراد
- سرمادهی به مدت ۷ هفته و در دمای ۲ تا ٤ درجه سانتیگراد
- سرمادهی به مدت ۱۰ هفته و در دمای ۲ تا ٤ درجه سانتیگراد
- تیمار تلفیقی (سرمادهی به مدت ٤ هفته در دمای ۲ تا ٤ درجه سانتیگراد + جیبرلیک اسید ۲۵۰ پی‌پی‌ام).

به منظور اعمال تیمارهای جیبرلیک اسید ۲۵۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام و نیترات پتاسیم، ۷ میلی لیتر از محلولهای فوق به هر ظرف پتری اضافه گردید و به منظور اعمال تیمار روشنایی و شاهد به هر ظرف پتری ۷ میلی لیتر آب مقطر اضافه گردید.در تیمارهای سرمادهی بذرها به مدت ٤، ۷ و ۱۰ هفته درون ماسه مرطوب و در یخچالی با دمای ٤- ۲ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. برای اجرای تیمار تلفیقی، بذرها پس از ٤ هفته سرمادهی به ظرفهای پتری منتقل شدند و ۷ میلی لیتر محلول جیبرلیک اسید ۲۵۰ پی‌پی‌ام به آنها اضافه گردید.

پس از اعمال تیمارهای فوق، تمام ظرفهای پتری به استثنای تیمار روشنایی مطلق به ژرمیناتوری با شرایط

دمایی ۲۵درجه سانتیگراد ، ۱۶ ساعت روشنایی، ۸ ساعت تاریکی و ۶۰ درصد رطوبت منتقل شدند.ظرفهای پتری مربوط به تیمار روشنایی به ژرمیناتوری با شرایط دمایی °c ۲۵، ۶۰ درصد رطوبت و ۲۴ ساعت روشنایی منتقل شدند.نخستین شمارش جوانه زنی در سومین روز و آخرین شمارش جوانه زنی پانزده روز پس از اعمال تیمارها انجام گرفت.

در آزمایش سوم تیمارهای اعمال شده به منظور شکستن خواب بذر گیاه مورد عبارت بودند از:

- شاهد (آب مقطر)
- جیبرلیک اسید با غلظت ۲۵۰ پی‌پی‌ام
- جیبرلیک اسید با غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام
- سرمادهی به مدت ۷ هفته و در دمای ۲ تا ٤ درجه سانتیگراد
- سرمادهی به مدت ۱۰هفته و در دمای۲ تا٤ درجه سانتیگراد
- خراش‌دهی شیمیایی توسط اسید سولفوریک غلیظ
- خراش‌دهی مکانیکی توسط کاغذ سنباده
- خراش‌دهی مکانیکی با شکاف دهی در پوسته بذر توسط تیغ

به منظور اعمال تیمار خراش‌دهی شیمیایی بذرها به مدت ۳ دقیقه درون اسید سولفوریک غلیظ قرار داده شدند و بعد سه مرتبه با آب مقطر شستشو داده شدند. به منظور اجرای تیمارهای خراش‌دهی مکانیکی بذرها توسط کاغذ سمباده و توسط یک عدد تیغ خراش داده شدند. در تیمارهای جیبرلیک اسید ۲۵۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام ، پس از قرار دادن بذرها درون ظرف پتری به هر ظرف، ۷ میلی لیتر از محلولهای فوق اضافه گردید. پس از اعمال تیمارهای فوق ظرفهای پتری به ژرمیناتوری با شرایط دمایی ۲۵ درجه سانتیگراد ،۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند.نخستین شمارش هفتمین روز و آخرین شمارش چهارده روز پس از اعمال تیمارها انجام گرفت.

داده های مربوط به درصد جوانه زنی بذرهای روناس، مورد و اکیناسه توسط نرم افزار آماری MSTAT-C تجزیه و مقایسه میانگین ها به روش دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

در آزمایش اول، نتایج نشان داد که بین تیمارهای تحریک جوانه‌زنی بذر روناس در سطح آماری ۱٪ تفاوت معنی‌داری وجود دارد (جدول ۱) و تیمار اسید سولفوریک ۹۰ درصد به مدت ۱۰، ۱۵ و۲۰ دقیقه سبب افزایش معنی‌داری در میزان جوانه‌زنی بذور نسبت به تیمار شاهد گردید(جدول ۲). البته، بالاترین میزان جوانه زنی بذور در تیمار اسید سولفوریک به مدت ۱۵ دقیقه مشاهده شد که می‌توان گفت اسید سولفوریک قادر است با کاهش استحکام پوسته بذر و نقش بازدارندگی آن، سبب افزایش جوانه زنی و بهینه‌سازی این فرآیند گردد.

جدول۱- تجزیه واریانس جوانه زنی بذرهای روناس تحت تیمارهای مختلف

منابع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	Fآزمون
تیمار	۱۳	۳۲۱۰/۲۷	۲٤٦/۹٤	۱٦/۱٦**
خطا	٤۲	٦٤۱/۸۷	۱۵/۲۸	-
کل	۵۵	۳۸۵۲/۱٤	-	-

**: معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

اعمال تیمار ۲۰ دقیقه‌ای اسید سولفوریک، هر چند سبب افزایش جوانه زنی بذر روناس در مقایسه با شاهد گردید، اما در حاشیه ساقه‌چه و ریشه‌چه این گیاهچه‌ها، علایمی شبیه به آب سوختگی مشاهده شد و حدود یک سوم این گیاهچه ها غیر طبیعی بودند که ممکن است به دلیل نفوذ اسید سولفوریک به درون بذر و تماس اسید با جنین و سایر بافتهای بذر حادث شده باشد. Rana و

Nuatiya (۱۹۸۹) نیز با انجام آزمایش مشابهی در مورد بذرهای *Accasia farnesiana* مشاهده نمودند که تیمار اسید سولفوریک سبب افزایش جوانه زنی این بذرها گردید، اما افزایش مدت زمان تماس اسید با بذر سبب افزایش تعداد گیاهچه های غیر طبیعی شد که ناشی از آسیب به ساختار جنین بذر بود. همچنین، Mohammad و Amusa (۲۰۰۳) در تحقیقی درباره شکست خواب بذرهای *Tamarindus indica* گزارش نمودند که تیمار بذر با اسید سولفوریک ۴۹٪ نسبت به اسید سولفوریک ۹۸٪ (در مدت زمان مشابه) سبب افزایش جوانه زنی بذرها به طور معنی داری شد و اسید سولفوریک ۹۸٪ جوانه زنی بذرها را کاهش داده که احتمالا ناشی از آسیب اسید به جنین بذر می‌باشد.

همچنین نتایج نشان داد که قرار دادن بذرها به مدت ۵ و ۱۰ دقیقه در آب گرم $70^{\circ}C$ و $90^{\circ}C$ سبب افزایش معنی‌داری در جوانه‌زنی بذرهای روناس نسبت به شاهد می‌گردد (جدول ۲). البته تیمار ۵ دقیقه خیساندن بذر در آب $70^{\circ}C$ اثر کمی بر جوانه زنی بذرها داشت که ناشی از کم بودن تاثیر این تیمار در افزایش نفوذپذیری پوسته بذر می‌باشد. بنابراین آب گرم می‌تواند از طریق تغییر نفوذپذیری پوسته بذر سبب کاهش مقاومت پوسته در برابر خروج گیاهچه شود. Aliero (۲۰۰۴) نشان داد که خیساندن بذرهای سخت *Parkia bioglobosa* در آب گرم ۷۰ درجه سانتیگراد سبب تحریک جوانه زنی بذرها در مقایسه با شاهد شد. Mohammad و Amusa (۲۰۰۳) نیز در تحقیقی جهت شکستن خواب بذر *Tamarindus indica*، با خیساندن بذرها در آب داغ ۱۰۰ درجه سانتیگراد سبب افزایش جوانه زنی بذرها شدند. البته گیاهچه بذرهایی که به مدت ۱۰ دقیقه در معرض آب گرم $90^{\circ}C$ بودند علائم آب سوختگی و سیاه شدن را نشان دادند، در حالی که سایر تیمارهای آب گرم چنین اثری بر گیاهچه نداشتند. گیاهچه های غیر طبیعی در این تیمار احتمالاً ناشی از نفوذ آب گرم به درون ساختار بذر و تاثیر سوء آن بر بافتهای جنین می‌باشد.

جدول ۲- مقایسه میانگین های جوانه‌زنی بذرهای روناس تحت تیمارهای مختلف

تیمار	درصد جوانه زنی	طبقه
خراش‌دهی پوسته بذر با کاغذ سمباده	۸۳	ab
اسید سولفوریک ۹۰ درصد به مدت ۱۰دقیقه	۸۱	abc
اسید سولفوریک ۹۰ درصد به مدت ۱۵ دقیقه	۸۹	a
اسید سولفوریک ۹۰ درصد به مدت ۲۰ دقیقه	۸۲	abc
آب گرم $70^{\circ}C$ به مدت ۵ دقیقه	۲۳	e
آب گرم $70^{\circ}C$ به مدت ۱۰ دقیقه	۷٤	c
آب گرم $90^{\circ}C$ به مدت ۵ دقیقه	۷۸	bc
آب گرم $90^{\circ}C$ به مدت ۱۰ دقیقه	۷۵	bc
سرمادهی به مدت ۲ هفته	۸	c
سرمادهی به مدت ٤ هفته	٤۷	d
سرمادهی به مدت ٦ هفته	۷٦	bc
روشنایی (۲٤ساعت)	٦	f
جیبرلیک اسید (۵۰۰ ppm)	۵	f
شاهد	۵	f

میانگین‌های با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۱٪ می‌باشند.

همچنین، میزان جوانه زنی بذرهای روناس تحت خراش‌دهی پوسته بذر با کاغذ سمباده ۸۳٪ بود که نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد. بهرحال، نتایج نشان داد که بذرهای تحت این تیمار بعد از بذرهایی که در معرض تیمار اسید سولفوریک به مدت ۱۵ دقیقه بودند بالاترین میزان جوانه زنی را داشته و علاوه بر آن، تمامی جوانه ها طبیعی می‌باشند. تحقیقات مشابهی که توسط Roleston (۱۹۷۸) در مورد بذر گیاه *Ulex europaeus* انجام شد، نشان داد که استفاده از کاغذ سمباده تاثیر به سزایی بر افزایش جوانه زنی بذرهای این گیاه دارد.

سرمادهی بذرها به مدت ٤ و ٦ هفته در دمای $2-4^{\circ}C$ سبب افزایش جوانه زنی بذرها به میزان ٤۷٪ و ۷٦٪

گردید که این افزایش نسبت به شاهد معنی‌دار بود. سرمادهی بذرها به مدت ۲ هفته تاثیر معنی‌داری بر جوانه زنی بذرها نداشت و تنها سبب جوانه زنی ۸٪ از بذرها گردید. البته Rana و Nuatiyal (۱۹۸۹) در آزمایش مشابهی در مورد بذرهای *Accasia farnesiana* مشخص نمودند که سرمادهی این بذرها به مدت ۳ هفته در دمای ۱ درجه سانتیگراد سبب افزایش معنی دار جوانه زنی این بذر ها شد و این محققان، افزایش جوانه زنی را ناشی از شکافته شدن پوسته بذر در اثر سرما بیان نمودند.

کاربرد جیبرلیک اسید با غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام تاثیر معنی‌داری بر جوانه‌زنی بذرها نسبت به شاهد نداشت. میزان جوانه‌زنی در این تیمار ۵٪ (مشابه تیمار شاهد) بود. همچنین اعمال تیمار نور به طور ۲٤ ساعته طی دوره آزمایش نیز تاثیری بر جوانه‌زنی بذرها در مقایسه با شاهد نداشت و میزان بذرها جوانه زده در این تیمار ٦٪ بود (جدول ۲).

جالب آنکه، در پایان دوره آزمایش خراش‌دهی بذرهای شاهد و بذرهای تحت دو تیمار نور ۲٤ ساعته و جیبرلیک اسید نشان داد گیاهچه‌ها به خوبی رشد کرده و ریشه‌چه و ساقه‌چه تشکیل می‌شوند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که عامل دیگری به غیر از عوامل درونی نظیر تعادل هورمونی در خواب بذر این گیاه موثر می‌باشند.

از آنجا که بذرهای روناس تحت تیمارهای خراش‌دهی پوسته بذر اعم از کاربرد سمباده، اسید سولفوریک، آب گرم و سرما جوانه زدند و مشکل خواب بذر رفع شد، می‌توان نتیجه گرفت که خواب این بذرها از نوع فیزیکی بوده و ناشی از پوسته بذر می‌باشد. همچنین عدم تاثیر اسید جیبرلیک یا نور روی جوانه‌زنی بذرهای روناس، احتمال دخالت عوامل درونی و فیزیولوژیکی نظیر نارس بودن جنین یا عدم حضور جیبرلین کافی درون بذر را رد می‌کند. به طور کلی پوسته بذر روناس بعد از خیساندن در آب، یک حالت لاستیکی پیدا نموده و به رغم نرم بودن به سختی با تیغ شکاف داده می‌شد که با توجه به این موضوع دو احتمال را می‌توان مطرح نمود:

۱ـ خواب بذر ناشی از عدم جذب آب کافی یا عدم تبادل مناسب گازها از طریق پوسته بذر باشد.

۲ـ خواب بذر ناشی از مقاومت مکانیکی پوسته بذر در مقابل خروج جوانه باشد.

با توجه به شواهد این تحقیق احتمال اول رد می‌گردد، زیرا هنگامی که بذرهای شاهد بعد از ۲٤ روز با تیغ شکافته شدند مشاهده گردید که ساختار بذر کاملاً آب جذب نموده و گیاهچه نیز کاملاً تشکیل و ریشه‌چه و ساقه‌چه قابل مشاهده بود. بنابراین می‌توان گفت که احتمال دوم، دلیل اصلی خواب این بذر است. به ظاهر نیروی فشار ناشی از جذب آب و رشد جنین برای شکافتن پوسته بذر و خروج جوانه کافی نیست. اعمال تیمارهای خراش‌دهی سبب نازک شدن پوسته بذر (کاغذ سمباده) یا ایجاد شکاف و رخنه در پوسته بذر (سرمادهی، اسید سولفوریک و آب گرم) می‌شوند و از این طریق مقاومت مکانیکی مقابل خروج جوانه کاهش می‌یابد. موفق بودن جوانه زنی بذرهای روناس تحت اثر تیمار های خراش پوسته بذر موید تاثیر مقاومت مکانیکی پوسته در مقابل خروج جوانه است.

با توجه به نتایج این آزمایش می توان گفت که هر گونه تیمار پوسته بذر در جهت کاهش استحکام و یا افزایش نفوذپذیری آن نظیر تیمارهای اسید سولفوریک ، آب داغ، سرمادهی و سمباده سبب تحریک جوانه زنی و شکستن خواب بذر می گردد. البته از آنجا که کاربرد تیمارهای اسید سولفوریک یا آب داغ مشکلاتی چون خطر کار با اسید ، مشکل تنظیم دمای آب و ثابت نگهداشتن آن و مهمتر از همه، احتمال آسیب به ساختار جنین بذر در اثر کاربرد اسید سولفوریک یا آب داغ را به همراه دارد توصیه می‌گردد که از تیمار خراش‌دهی

مکانیکی (نظیر کاغذ سمباده و یا سایرتکنیک های سایش) استفاده گردد.

آزمایش دوم نشان داد که بین تیمارهای تحریک جوانه زنی بذر اکیناسه در سطح آماری ۱٪ تفاوت معنی‌داری وجود دارد (جدول ۳). بالاترین میزان جوانه زنی بذرها تحت تیمار تلفیقی سرمادهی (٤ هفته در دمای ٤-۲ درجه سانتیگراد) و اسید جیبرلیک (۲۵۰ پی‌پی‌ام) بدست آمد(جدول ٤). البته Macchia و همکاران (۲۰۰۱) در تحقیقی نشان دادند که سرمادهی بذرهای گونه *E.angustifolia* در معرض نور و اتفون به مدت ۱۱ روز باعث افزایش درصد جوانه زنی به میزان ۹۰ درصد خواهد شد.

مطالعه ما نشان داد که تیمار جیبرلیک اسید با غلظت های ۲۵۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام به طور معنی‌داری سبب افزایش جوانه‌زنی بذرهای اکیناسه (نسبت به شاهد)گردید و بذرها در تیمار جیبرلیک اسید با غلظت های ۲۵۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام به ترتیب ۷۷٪ و ۷٦٪ جوانه زدند که بمراتب بیشتر از شاهد بود(جدول ٤).

تیمار سرمادهی بذرها به مدت ٤ ، ۷ و ۱۰ هفته در دمای $^{\circ}C$ ٤-۲ سبب افزایش جوانه زنی بذرها به میزان ۸٤٪ ،۸۰٪ و ۸۳٪ گردید که به طورمعنی‌داری بیشتر از شاهد بود. همین طور Blake (۱۹۳۵) در بررسی خود مشاهده کرد که در کشت مستقیم بذرهای *E. pallida* و *E. angustifolia* در بهار ، جوانه زنی رخ نداده، در حالی که در کشت پاییزی این بذرها، ۲ تا ۳۸ درصد جوانه زنی مشاهده شد.

جدول ۳ – تجزیه واریانس جوانه زنی بذرهای اکیناسه تحت تیمارهای مختلف

منابع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	Fآزمون
تیمار	۸	٤۸۳۸٤	٦۰٤۸	۲٤۸/۹۲۷**
خطا	۲۷	٦٥٦	۲٤/۲۹٦	-

**: معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

جدول ٤ – مقایسه میانگین های جوانه‌زنی بذرهای اکیناسه تحت تیمارهای مختلف

تیمار	درصد جوانه زنی	کلاس
سرمادهی+ جیبرلیک اسید	۹٤	a
جیبرلیک اسید (۲۵۰ ppm)	۷۷	b
جیبرلیک اسید (۵۰۰ ppm)	۷٦	b
سرمادهی به مدت ٤ هفته	۸٤	b
سرمادهی به مدت ۷ هفته	۸۰	b
سرمادهی به مدت ۱۰ هفته	۸۳	b
نیترات پتاسیم	۹	c
روشنایی (۲٤ساعت)	٥	c
شاهد	۲	c

میانگین‌هایی با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۱٪ می‌باشند.

Salac و همکاران (۱۹۸۲) در تحقیقی مشابه در کاشت بهاری بذرهای این گیاهان، ٥ درصد و در کشت پاییزی بذرها ٥ تا ۷٥ درصد جوانه زنی مشاهده کردند. Parmenter و همکاران (۱۹۹۲) سرمادهی به مدت بیش از ۱۰ تا ۱٥ هفته را به منظور شکستن خواب بذر گونه *E. angustifolia* پیشنهاد کرده‌اند در حالی که Li (۱۹۹۸) سرمادهی به مدت ٤ تا ٦ هفته را برای بذرهای گونه *E. angustifolia* پیشنهاد داده است. Baskin و همکاران (۱۹۹۲) گزارش کرده اند که بذرهای *E. angustifolia* هنگامی که در معرض نور و تاریکی قرار گرفتند به ترتیب برابر صفر تا ٦ درصد و صفر تا ۲ درصد جوانه زنی داشتند اما با ۱۲ هفته سرمادهی خواب بذر شکسته خواهد شد.

اعمال تیمار نیترات پتاسیم تاثیر معنی‌داری بر جوانه‌زنی بذرها نسبت به شاهد نداشت و میزان جوانه‌زنی در این تیمار ۹٪ بود. همچنین قرار دادن بذرها در معرض نور به طور ۲٤ ساعته طی کل دوره آزمایش نیز تاثیری بر جوانه‌زنی بذرها در مقایسه با شاهد نداشت

و میزان بذرهای جوانه زده در این تیمار برابر ۵٪ بود (جدول ٤).

از آنجاکه بذرهای تحت تیمار سرما و جیبرلیک اسید که نوعی جایگزین سرما می باشد دارای بالاترین درصد جوانه زنی بودند، بنابراین می توان نتیجه گرفت که خواب بذر از نوع فیزیولوژیک بوده و عامل دخیل در این خواب، نارس بودن جنین یا وجود عامل بازدارنده در بذر و یا هر دو عامل بوده است. به نظر می رسد که سرما باعث افزایش ترشح هورمون جیبرلین (GA_3) در بذر شده و افزایش نسبت GA_3 به آبسزیک اسید (ABA) سبب افزایش فعالیت آنزیمی شکسته شدن قندها شده و نشاسته بذر را به مواد قابل استفاده جنین تبدیل می کند (هاشمی دزفولی و آقا علیخانی، ۱۳۷۸) که در نهایت جوانه زنی شروع می‌گردد. به عبارت دیگر سرما و جیبرلیک اسید منجر به تشکیل، آزادسازی یا فعال کردن آنزیم های هیدرولتیکی جهت تجزیه پروتئین ها و نشاسته ذخیره در بذر جهت تغذیه جنین می‌شوند(نصیری، ۱۳۷٤).

آزمایش سوم نشان داد که بین تیمارهای تحریک جوانه زنی بذر گیاه **مورد** در سطح آماری ۱٪ تفاوت معنی‌داری وجود دارد (جدول ۵) و بالاترین میزان جوانه زنی بذرهای تحت تیمار شکاف دهی پوسته بذر توسط تیغ(۹٦٪) بدست آمد که به طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بود (جدول ٦). درحالی که Fordham (۱۹۸۳) گزارش نموده که بذرهای گیاه مورد به دلیل داشتن پوشش مومی نیاز به خراش‌دهی پوسته به همراه ۹۰ روز سرمادهی دارند.

همچنین نتایج نشان داد که تیمار خراش‌دهی شیمیایی توسط اسید سولفوریک غلیظ و خراش‌دهی مکانیکی توسط کاغذ سنباده سبب افزایش جوانه‌زنی بذرها مورد نسبت به شاهد به طور معنی‌داری شد. خراش‌دهی شیمیایی توسط اسید سولفوریک غلیظ و خراش‌دهی مکانیکی توسط کاغذ سنباده به ترتیب سبب ۸۷٪ و ۸۵٪ جوانه زنی شدند(جدول شماره ٦).

جدول ۵ - تجزیه واریانس جوانه زنی بذرهای گیاه مورد تحت تیمارهای مختلف

منابع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F آزمون
تیمار	۷	٤۰٤٦۳	۵۷۸۰	۲٦۱/۱۷**
خطا	۲٤	۵۳۰	۲۲/۰۸	

**: معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

کاربرد سطوح مختلف اسید جیبرلیک تاثیر معنی‌داری بر جوانه‌زنی بذرهای گیاه مورد نسبت به شاهد نداشت و جیبرلیک اسید با غلظت های ۲۵۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام به ترتیب سبب ۵٪ و ۳٪ جوانه زنی شد(جدول ٦).

در این تحقیق، سرمادهی بذرها به مدت ۷ و ۱۰ هفته در دمای c °٤-۲ سبب افزایش جوانه زنی بذرها به میزان ۷۵٪ و ۸۰٪ گردید که این افزایش نسبت به شاهد از نظر آماری معنی‌دار بود. Dirr و Heuser (۱۹۸۷) و Raulston وTripp (۱۹۹۵) در تحقیقات مشابه دیگری به منظور افزایش جوانه زنی بذرهای گیاه مورد، سرمادهی به مدت ۳۰ روز را پیشنهاد نموده‌اند.محققان این افزایش جوانه‌زنی را ناشی از شکافته شدن پوسته بذر در اثر سرما بیان نمودند (Blake, 1935).

بنابراین از آنجا که مشکل خواب بذر گیاه مورد تحت تیمارهای مختلف خراش‌دهی پوسته بذر (اعم از کاربرد تیغ، سایش با سمباده، اسید سولفوریک و سرما) رفع شد، می‌توان گفت که خواب بذر ریشه در عوامل فیزیکی دارد. همچنین عدم تاثیر اسید جیبرلیک روی میزان جوانه‌زنی، احتمال دخالت عوامل درونی و فیزیولوژیکی نظیر نارس بودن جنین یا عدم وجود جیبرلین کافی در خواب بذرهای این گیاه را رد می‌کند.

جدول ٦ – مقایسه میانگین های جوانه‌زنی بذرهای گیاه مورد تحت تیمارهای مختلف

تیمار	درصد جوانه زنی	کلاس
شکاف دهی در پوسته بذر توسط تیغ	۹٦	a
خراش‌دهی شیمیایی توسط اسید سولفوریک غلیظ	۸۷	ab
خراش‌دهی مکانیکی توسط کاغذ سنباده	۸۵	b
سرمادهی به مدت ۱۰ هفته	۸۰	bc
سرمادهی به مدت ۷ هفته	۷۵	c
جیبرلیک اسید (۵۰۰ ppm)	۳	d
جیبرلیک اسید (۲۵۰ ppm)	۵	d
شاهد	۲	d

میانگین‌هایی با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۱٪ می‌باشند.

افزایش میزان جوانه زنی بذرهای گیاه مورد تحت تیمار های خراش پوسته بذر موید وجود مقاومت مکانیکی پوسته در مقابل خروج جوانه است و به عبارت دیگر، پوسته به عنوان یک مانع فیزیکی از طریق ممانعت از گسترش رویان و یا از طریق ایجاد محدودیت در جذب آب و شاید تبادلات گازی عمل می کند . در هر حال، اعمال تیمارهای خراش‌دهی سبب نازک شدن پوسته بذر (کاغذ سمباده) یا ایجاد شکاف و رخنه در پوسته بذر (سرمادهی، اسید سولفوریک و آب گرم) می‌شود و از این طریق مقاومت مکانیکی در مقابل خروج جوانه کاهش می‌یابد. در طبیعت خراشیدگی پوسته از راه‌های گوناگونی نظیر خسارت ناشی از قارچ ها و میکرو ارگانیسم های خاکزی، عبور از دستگاه گوارش جانوران، لگد مال شدن توسط حیوانات سم دار، آتش سوزی جنگلها، یخ زدن خاک، تغییرات شدید دما و ایجاد فشارهای هیدرواستاتیک بالا در درون جنین در پاسخ به سرما ایجاد می گردد.با توجه به نتایج فوق می‌توان گفت که خواب بذر مورد از نوع خواب اولیه و از گونه القایی می باشد که این خواب به طور عمده مربوط به خواص فیزیکی پوسته بذر می باشد (سرمدنیا، ۱۳۷۵; هاشمی دزفولی و آقا علیخانی، ۱۳۷۸).

به طورکلی از آنجا که کاربرد تیمار هایی چون اسید سولفوریک مشکلاتی چون خطر کار با اسید و مهمتر از همه، احتمال آسیب به ساختار جنین بذر را به همراه دارد پیشنهاد می شود که از کاغذ سمباده یا شکاف دهی با تیغ و یا سایر تکنیک‌های سایش مکانیکی برای حل این مشکل استفاده گردد، چراکه این دو روش ارزان بوده ، امکانات خاصی نیاز ندارد و از سوی دیگر اگر صحیح انجام شود بدون خسارت به بذر تاحدود ۸۵٪ جوانه زنی را تحریک می‌نماید.

به طورکلی، یکی از اصول مهم برای تولید انبوه و اقتصادی سه گونه ارزشمند دارویی روناس، اکیناسه و مورد، اعمال تیمار های مناسب برای شکستن خواب بذر آنها می‌باشد و بدون اعمال این تیمارها، کشت گسترده آنها با شکست مواجه خواهد شد.

منابع مورد استفاده

– تاجبخش، م.، ۱۳۷۵. بذر(شناخت- گواهی و کنترل آن). انتشارات احرار تبریز. ۱۸۲ صفحه.

– زرگری، ع. ، ۱۳۷۵. گیاهان دارویی. انتشارات دانشگاه تهران، جلد دوم، چاپ ششم، ۹۷٦ صفحه.

– سرمدنیا، غ. ، ۱۳۷۵. تکنولوژی بذر. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، ۲۲۸ صفحه.

– قهرمان، ا.، ۱۳٦۷. فلور ایران. مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، تهران، جلدیازدهم، شماره ۱۳٤۸ .

– قهرمان، ا.، ۱۳۷۵. فلور ایران. مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، تهران، جلدپانزدهم، شماره ۱۸۱۹ .

– لطیفی، ن.، ۱۳۸۰. فنون در علم بذر و فناوری. انتشارات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۳۱۰ صفحه.

– نصیری، م.، ۱۳۷٤. بررسی اثر عوامل مختلف بر شکستن خواب بذر کتان سفید (*Linum album* Boiss). مجله پژوهش و سازندگی، ۲۸ : ٤۷-٤۲.

- هاشمی دزفولی، س.ا. و آقاعلیخانی، م.، ۱۳۷۸. خفتگی و رویش بذر. انتشارات دانشگاه شهید چمران اهواز، ۲٤٦ صفحه.
- یزدانی، د.، شهنازی، س. و سیفی، ح.، ۱۳۸۳. کاشت، داشت و برداشت گیاهان دارویی. انتشارات جهاد دانشکاهی واحد شهید بهشتی، تهران. ۱۸۰ صفحه.
- Aliero, B.L., 2004. Effects of sulphuric acid, mechanical scarification and wet heat treatments on germination of seeds of *Parkia biolobosa.African*. journal of biotechnology, 3: 179-181.
- Al-Zohri, A., Al-Jeboory, A.A. and Javad, A.M., 1985.Cardiovascular and antimicrobial effects of *Myrtus communis*. Indian Journal of Pharmacy, 77: 233-235.
- Baskin, C.C., Baskin, J.M. and Hoffman, G.R., 1992. Seed dormancy in the prairie forbs *Echinacea angustifolia* (Asteraceae): after ripening pattern during cold stratification. Journal of Plant Science. 153: 239-243.
- Blake, A.K., 1935. Viability and germination of seeds and early life history of prairie plants. Ecological monographs, 405-460.
- Chevallier M.A., 1996. The Encyclopedia of Medicinal Plants. Dorling Kindersly, London.
- Dirr, M.A. and Heuser, J., 1987. The reference manual of woody plant propagation: from seed to tissue culture, propagation and uses, Athens, GA: Varsity Press, 239 p.
- Fordham, A.J., 1983. Of birds and bayberries: seed dispersal and propagation of three Myrica species, Arnoldia, 43 (4): 20-23.
- Li, T.S.C., 1998. Echinacea cultivation and medicinal value. Hort. Technology, 8: 122-129
- Macchia, M., Angelini, L.G. and Ceccarini, L., 2001. Method to overcome seed dormancy in *Echinacea angustifolia* Dc. Scientia Horticulturae, 89(4): 317-324.
- Mohammad, S. and Amusa, N.A., 2003. Effects of sulphuric acid and hot water treatment on seed germination of *Tamarindus indica*. African Journal of biotechnology, 2: 270-274.
- Parmenter, G., Brgmans, J., Burton, L., Douglas, M., Follett, J., Gray, G. and Smallfield, B., 1992. Production of the medicinal crops *Valerian* and *Echinacea* in New Zealand. Proceedings of the Agronomy society of New Zealand, 22: 61-65.
- Rana, U. and Nuatiyal, A.R., 1989. Coat imposed dormancy in *Acacia farnesiana* seeds, Seed Research, 17: 122-127.
- Raulston, J.C. and Tripp, K.E., 1995. The year in trees, Portland.OR: Timber Press, 204 p.
- Ritter, F., 1997. Shrubs and Climbers, Dorling Kindersley, London.336 p.
- Roleston, M.P., 1978. Water impermeable seed dormancy. Botanical review, 44:365-396.
- Salac, S.S., Traeger, J.M. and Jensen, P.N., 1982. Seeding dates and field establishment of wild flowers. Hort Science, 17: 805-806.
- Smith-Jochum, C.C. and Albercht, M.L., 1987. Field establishment of three *Echinacea* species for commercial production. Acta horticulture, 208: 115-119.

Assigning the Best Treatment for Increasing Germination of Three Medicinal Plants Seeds: *Rubia tinctourum* L., *Echinacea angustifolia* D.C. and *Myrtus communis* L.

M. Makkizadeh [1], R. Farhoudi [2], H.A. Naghdi badi [1], A. Mehdizadeh [3]

1- Department of Cultivation & Development, Institute of Medicinal Plants, ACECR.Tehran, Iran. e-mail: marytafti@yahoo.com
2- Islamic Azad University, Shushtar, Iran.
3- Agriculture of Jahad Organization,Gilan,Iran.

Abstract

This study has been conducted to overcoming seed dormancy of *Rubia tinctourum* L., *Echinacea angustifolia* D.C. and *Myrtus communis* L.. Treatments to break seed dormancy in *Rubia tinctourum* included: untreated seed (control), mechanical scarification with sandpaper, imbibitions in hot water at 70°C and 90°C for 5 and 10 minutes, chemical scarification with concentrated sulfuric acid for 10, 15 or 20 minutes, pre-chilling (4°C) for 2, 4 or 6 weeks, soaking in gibberellic acid (500ppm) and continuous light. Treatments to break seed dormancy in *Echinacea angustifolia* included: untreated seed (control), soaking in gibberellic acid (250 and 500 ppm), continuous light, Potassium Nitrate (0/3%), pre-chilling (4°C) for 4, 7 or 10 weeks, continuous light and combined treatment (soaking in gibberellic acid (250ppm) and pre-chilling for 4 week). Treatments to break seed dormancy in *Myrtus communis* included: untreated seed (control), mechanical scarification with blade and sandpaper, chemical scarification with concentrated sulfuric acid for 3 minutes, pre-chilling (4°C) for 7 or 10 weeks and soaking in gibberellic acid (250 and 500ppm). According to results in *R. tinctourum*, sulfuric acid for 15 minutes was significantly efficient in promoting germination. From the above one can infer that dormancy of the seeds of *R. tinctourum* was probably associated with the seeds coat, since the treatment that induce germination were those that can effect disruption of the seed coat. This experiment also showed that combined treatment significantly increased *E. angustifolia* seed germination. As stratification and GA3 had main role on breaking of seed dormancy so it is known that dormancy is physiological and it is related to embryo and inhibitor factor or both of them. Results indicated that germination of *M. communis* seeds mechanically scratched with blade significantly increased. So, reason of seed dormancy is hard coated seeds. The seed coat is as one physical barrier against growth of embryo or radicle that inhibits in absorption of water and gas-exchanges. Therefore, type of dormancy is initial dormancy (induced dormancy).

Key words: dormancy, germination, *Rubia tinctourum* L., *Echinacea angustifolia* D.C., *Myrtus communis* L.