

تأثیر تیمار سرمایی و شیمیایی بر شکست خواب بذر پنیرباد (*Withania somnifera*)

آی سن قهرمانی^۱، ابراهیم گنجی مقدم^{۲*}، مریم تاتاری^۳، سوسن خسرویاری^۴

^۱دانشجو دکتری، گروه کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیروان، شیروان، ایران
^۲دکتری، بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی،

سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد؛ ایران

^۳دکتری، گروه کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیروان، شیروان، ایران

^۴دکتری، گروه مهندسی شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قوچان، قوچان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۱/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۳/۰۱

چکیده

پنیرباد (*Withania somnifera*) گیاهی دارویی، متعلق به خانواده سیب‌زمینی (*Solanaceae*) می‌باشد. این تحقیق با هدف بهینه سازی روش های شکستن رکود بذر پنیرباد انجام گرفت. بدین منظور از دو آزمایش مستقل استفاده گردید. آزمایش اول به صورت فاکتوریل دو فاکتوره در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ تکرار انجام شد. فاکتور اول تیمار سرمایی در ۵ سطح (۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) و فاکتور دوم تیمار شیمیایی در ۷ سطح، شامل اسید جیبرلیک در ۳ سطح (۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام) و نترات پتاسیم در ۳ سطح (۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ پی پی ام) و تیمار شاهد آب مقطر می‌باشد. بذر ها در داخل لوله آزمایش در محیط موراشیک و اسکوگ کشت شدند. آزمایش دوم، در قالب طرحی مشابه آزمایش اول انجام گرفت. با این تفاوت که بذر ها پس از اعمال تیمارهای سرمایی و شیمیایی در داخل پتری دیش استریل شده که کف آن را با کاغذ صافی پوشانده‌ایم کشت شدند و در نهایت درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و میانگین سرعت جوانه‌زنی محاسبه شد. در آزمایش اول بیشترین (۱۰۰ درصد) و کمترین (۱۵ درصد) جوانه زنی در تیمار سرمادهی به مدت ۱۰ روز + جیبرلیک اسید ۷۵۰ پی پی ام و تیمار شاهد به ترتیب بود. کمترین زمان لازم برای جوانه‌زنی بذور سرمادهی ۱۰ روز + تیمار شیمیایی در مقادیر مختلف می‌باشد. در آزمایش دوم بیشترین درصد بذر جوانه‌زنی با میزان ۸۵ درصد متعلق به تیمار دوره سرمادهی ۲۰ روز + نترات پتاسیم ۳۰۰۰ پی پی ام می‌باشد. اعمال تیمارهای سرمایی و شیمیایی بر سرعت جوانه‌زنی بذور سبب ایجاد اختلاف معنی‌دار بین دوره‌های مختلف سرمادهی و تیمارهای شیمیایی و همچنین اثرات متقابل آنها در سطح احتمال یک درصد شد. کمترین زمان لازم برای جوانه‌زنی بذور در تیمار، دوره سرمادهی به مدت ۱۰ روز + نترات پتاسیم ۲۰۰۰ پی پی ام بود. نتایج این پژوهش نشان داد که سرمادهی عاملی ضروری برای حذف رکود بذر پنیرباد می‌باشد. همچنین استفاده توأم سرمادهی با جیبرلیک اسید و نترات پتاسیم سبب بهبود درصد و سرعت جوانه‌زنی بذور این گیاه گردید.

واژگان کلیدی: پنیرباد، پرایمینگ بذر، نترات پتاسیم، جیبرلیک اسید، پیش تیمار بذر، درصد جوانه‌زنی.

مقدمه

گیاه پنیرباد متعلق به تیره سیب زمینی و بومی نواحی شرقی مدیترانه تا جنوب آسیا می باشد. در جنس ویتانیا ۲۳ گونه گیاهی وجود دارد که دو گونه آن شامل *W.somnifera* و *W.coagulans* می باشد که از نظر دارویی و اقتصادی منحصر به فرد است. این گیاه به صورت بوته‌ای یا درختچه ای و همیشه سبز به ارتفاع ۱۲۰-۱۳۰ سانتی متر می باشد. برگ ها به رنگ سبز کدر و جام گل به رنگ زرد می باشد. میوه از نوع سته و به رنگ کرم یا قهوه ای روشن دیده می شود. گیاه پنیرباد در زمره گیاهان دارویی و چند منظوره است که در ایران پراکنش بسیار محدودی داشته و یکی از گونه های اندمیک بلوچستان می باشد (Valizade et al., 2015). رویشگاه آن اغلب در خاک هایی با بافت سبک در مراتع و گاهی در مزارع و باغ های میوه دیده شده است و این گیاه در قسمت جنوب شرقی سیستان و بلوچستان، در منطقه ایرانشهر، سراوان، زابل و خاش یافت می شود. در سطح دنیا به طور عمده در مناطق شرقی مدیترانه تا جنوب آسیا از جمله پاکستان، شمال غرب هند، افغانستان و ایران می روید (Valizade et al., 2015). پنیرباد به دلیل سازگاری بسیار وسیع نسبت به شرایط دشوار اکولوژیکی از جمله گرما و خشکی می تواند در تثبیت شن های روان در مناطق استان سیستان و بلوچستان به کار رود و گونه *W.coagulans* می تواند به عنوان پنیربند یا رنین گیاهی نیز شناخته شود. زیرا از عصاره (پروتئاز) میوه های آن به عنوان عامل منعقد کننده ی شیر برای تهیه پنیر استفاده می شود (Valizade et al., 2015). تاکنون ۱۲ نوع الکلوتید و بیش از ۳۵ نوع ویتانوئید و تعدادی گلیکوپروتئانوئید به نام سیتوایندوزید از اندام هوایی، ریشه و میوه از دو گونه دارویی *W.somnifera* و *W.coagulans* جداسازی و مطالعه شده است (Kaykha et al., 2012). مهم ترین انواع ویتانوئیدهای موجود در این گونه ویتافرین A، ویتانوئید A و ویتانول می باشد. هم چنین عصاره گیاه پنیرباد روی دو گونه آفات انباری مهم و زیان آور مثل شپشک آرد و شپشک برنج خاصیت دورکنندگی و کشندگی دارد (Gaur et al., 2010). امروزه مطالعات حیوانی و بالینی نشان داده است که فرآورده های دارویی این گیاه محدوده وسیعی از بیماری های مربوط به سیستم عصبی نظیر اضطراب و هیجان، اسکیزوفرنی، آلزایمر، پارکینسون، صرع و همچنین رشد سلول های سرطانی را کنترل و درمان می نماید (Gupta et al., 1996).

یکی از مشکلات اساسی در کشت گسترده گیاهان دارویی عدم جوانه زنی مناسب و در نتیجه عدم استقرار مناسب در شرایط زراعی است. جوانه زنی بذر فرآیند پیچیده ای است که با جذب آب آغاز می شود و پس از یک وقفه کوتاه پروتئین آنزیمی ساخته و فعال می شود. بازدارنده های بیوستنز جیبرلین از جوانه زنی بذر جلوگیری می کنند. بنابراین مرحله جوانه زنی گیاهیچه مرحله حساس و مهمی است که با استقرار مطلوب گیاهیچه ها در فرآیند تولید نقش مهمی دارد (Mahmoodzadeh et al., 2005). پیش تیمار بذر به عنوان یک راهکار جهت افزایش استقرار گیاهیچه به ویژه در شرایط نامطلوب مطرح است. اسید جیبرلیک، کینتین، تیوره آ، نیترا تپتاسیم و سرما از عوامل متداول در القا جوانه زنی می باشند (Baskin et al., 1998). اسید جیبرلیک یکی از هورمون های مهم رشد است که نقش بسیار مهمی در شکستن خواب بذر و جایگزین سرمادهی در بذره های دارای پوسته سخت و در نهایت جوانه زنی بذر گیاهان دارد (Akram-Ghaderi et al., 2008). نمک هایی مانند نیترا تپتاسیم یکی دیگر از موادی هستند که از آن جهت پرایمینگ بذر استفاده می شود. نتایج مطالعات در گیاهانی مانند آرتیشو (Souri et al., 2017)، سرخارگل (Nategh et al., 2012) و گلرنگ (Seyedi et al., 2013) نشان داده است، پرایمینگ بذور با نیترا تپتاسیم منجر به بهبود جوانه زنی قبل از کشت می گردد. یکی از دلایل اثر مثبت محرک های شیمیایی مانند نیترا تپتاسیم بر جوانه زنی بذر گونه های گیاهی احتمالا به دلیل به تعادل نسبت هورمونی در بذر و کاهش مواد بازدارنده های رشد نظیر اسیدآبسیزیک می باشد. این

محرک های شیمیایی باعث شکستن خواب فیزیولوژیکی بذر می شوند. بسیاری از محققان معتقدند که بسیاری از هورمون های گیاهی از جمله اکسین، جیبرلین، سیتوکینین، اتیلن احتمالاً از راه های مشخصی که منجر به کنترل عملکرد اسیدهای نوکلئیک می شود، در تحریک جوانه زنی نقش دارند (Ghasemi jobshahr et al., 2008). در بسیاری از بذرها نیازمند به سرما مانند فندق و افرا چناری، سرما موجب کاهش مقادیر اسید آبسزیک و افزایش مقادیر اسید جیبرلیک در بذر شده و جوانه زنی را تحریک می کند. جیبرلین از طریق تحرک مواد ذخیره ای و با آزاد سازی آنزیم آلفا- آمیلاز و در نتیجه از طریق هیدرولیز نشاسته جوانه زنی در بذر را تقویت می کند (Rezaee et al., 2017). تغییرات فیتوکروم تحت تاثیر نور، بر ساخت و جابجایی اسید جیبرلیک موثر است و سرما نیز احتمالاً با تاثیر بر نفوذ پذیری غشاهای سلولی موجب تغییر در جابجایی یون ها، مخصوصاً یون کلسیم و در نتیجه پیام رسانی به سلول برای تحریک تولید اسید جیبرلیک می شود (Valerie et al., 1992). با توجه به اثر پیش تیمار بذور بر ویژگی های جوانه زنی گیاهان مختلف و مشکل جوانه زنی بذور گیاه این مطالعه با هدف بررسی اثر تیمار سرمایی و شیمیایی و برهمکنش آنها بر جوانه زنی گیاه پنبه انجام شد.

مواد و روش ها

به منظور ارزیابی تاثیر پیش تیمار سرمایی و تیمارهای شیمیایی بر شکست خواب بذر و القا جوانه زنی در این گیاه دو آزمایش مستقل در آزمایشگاه کشت بافت مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی انجام گرفت. بذرها پنبه از رویشگاه طبیعی این گیاه در استان سیستان و بلوچستان جمع آوری گردید. در آزمایش اول، اثر پیش تیمار سرما و تیمارهای شیمیایی بر شکستن رکود بذر پنبه در شرایط درون شیشه ای مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل دو فاکتوره در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ تکرار انجام گرفت. فاکتورهای این آزمایش شامل مدت تیمار سرمایی در ۵ سطح (صفر، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ روز در دمای ۴ درجه سانتیگراد) و فاکتور دوم، تیمار شیمیایی شامل اسیدجیبرلیک در ۳ سطح (۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام) و نیترات پتاسیم در سطوح (۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۳۰۰۰ پی پی ام) و تیمار شاهد بدون سرما و در نظر گرفته شد. ابتدا در آزمایشگاه بذرها از مواد خارجی جدا شدند و پس از پاکسازی، بذرها انتخاب شده به مدت ۱ ساعت در معرض آب روان قرار داده شدند و پس از سه بار شستشو با آب مقطر استریل شده در داخل کاغذ صافی استریل قرار گرفتند و در دمای ۴ درجه سانتیگراد در یخچال نگهداری شدند (پیش تیمار سرمایی). به منظور از بین بردن هر گونه آلودگی بذرها در زیر هود لامینار با الکل ۷۵ درصد به مدت ۵ دقیقه و هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی و پس از سه بار شستشو با آب مقطر استریل شده در محیط درون شیشه ای کشت شدند. به منظور اعمال تیمارهای شیمیایی، بخشی از بذور سرمادهی شده در داخل تنظیم کننده های رشد ذکر شده به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند (Ghasemi Pirbalooti et al., 2007). سپس در اتاقک کشت در زیر هود لامینار ضد عفونی و در داخل محیط موراشیگ و اسکوگ کشت شدند. کلیه تیمارها پس از کشت در اتاقک رشد با دمای ۲۴ درجه سانتیگراد با دوره نوری متناوب ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ۵۰ درصد نگهداری شدند.

آزمایش دوم، در قالب طرحی مشابه آزمایش اول انجام شد. با این تفاوت که بذرها پس از اعمال تیمارهای سرمایی و شیمیایی و پس از ضد عفونی شدن در داخل پتری دیش استریل شده که کف آن را با کاغذ صافی پوشانده شده بود کشت شدند. فاکتورهای این آزمایش، تیمار سرمایی در ۵ سطح (صفر، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ روز در دمای ۴ درجه سانتیگراد) و فاکتور دوم، شامل

تیمار شیمیایی اسید جیبرلیک در ۳ سطح (۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام) و نیترات پتاسیم در سطوح (۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۳۰۰۰ پی پی ام) و تیمار شاهد صفردر نظر گرفته شد. در غلظت صفر تیمارهای هورمونی از آب مقطر استریل استفاده شد. در هر پتری دیش ۲۵ بذر در ۴ تکرار قرار گرفت. جهت تامین رطوبت مورد نیاز بذرها حدود ۵ میلی لیتر آب مقطر به پتری ها اضافه شد. جوانه زنی بذرها به مدت ۲۱ روز کنترل و مبنای جوانه زنی خروج ریشه چه به میزان ۲ میلی متر بود. در پایان با استفاده از روابط زیر درصد و سرعت جوانه زنی بذور محاسبه گردید. در این فرمول GP درصد جوانه زنی، n تعداد بذر جوانه زده در پایان آزمایش و N تعداد کل بذور می باشند (Ranal et al., 2006).

$$\text{رابطه (۱)} \quad GP = \frac{n}{N} \times 100$$

برای محاسبه سرعت جوانه زنی از رابطه (۲) استفاده گردید (Niyaz et al., 2014).

$$RS = \sum_{i=1} \frac{Si}{Di}$$

در این فرمول RS سرعت جوانه زنی (بذر در روز)، S_i تعداد بذر جوانه زده در هر شمارش و D_i تعداد روز تا شمارش n ام میباشد.

متوسط زمان لازم برای جوانه زنی که شاخصی از سرعت و زمان جوانه زنی محسوب میگردد و از رابطه (۳) زیر محاسبه میگردد (Abdolrahmani et al., 2009).

$$MGT = \frac{\sum(ND)}{\sum N}$$

N تعداد بذر جوانه زده در طی D روز، D تعداد روزها از ابتدای جوانه زنی، $\sum N$ کل تعداد بذور جوانه زده

برای تجزیه تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS استفاده شد. رسم جداول با استفاده از اکسل انجام گرفت.

نتایج و بحث

آزمایش اول

درصد جوانه زنی: براساس نتایج تجزیه واریانس داده های این تحقیق مشاهده گردید که اعمال تیمارهای سرمایی و شیمیایی بر درصد جوانه زنی در محیط درون شیشه ای و اثرات متقابل آنها در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد. با توجه به جدول مقایسه میانگین (شکل ۲) بیشترین درصد بذر جوانه زده (۱۰۰ درصد) متعلق به تیمارهای دوره سرمادهی ۱۰ روز + جیبرلیک اسید ۷۵۰ پی پی ام بود. همچنین کمترین درصد بذر جوانه زده به میزان ۱۵ درصد در اثر اعمال تیمار بدون دوره سرمادهی بود. Koochaki et al (2005) گزارش کردند که با افزایش غلظت جیبرلیک اسید از ۱۰۰ به ۲۵۰ درصد جوانه زنی بذر کلپوره به طور معنی داری افزایش یافت. در این بررسی مشخص شد که اعمال دوره سرمادهی ۲۰ روز سبب افزایش درصد جوانه زنی بذرها بود و برعکس با افزایش طول دوره سرمادهی درصد جوانه زنی بذرها کاهش یافت. (Mahmoodzadeh et al (2005) نیز گزارش کردند، تیمار نیترات پتاسیم در گیاه تاتوره موجب افزایش جوانه زنی بذور تاتوره شد. در آزمایشی که توسط Sharma (2004) روی برخی از بذور گیاهان دارویی در منطقه پرادش هند صورت گرفت، نتایج نشان داد نیترات پتاسیم موجب شکستن خواب و افزایش جوانه زنی در برخی از بذور گیاهان دارویی این منطقه شد.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمار سرمایی و ترکیبات شیمیایی بر شاخص‌های جوانه‌زنی پنبه‌باد

میانگین مربعات (MS)				
منابع تغییر	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی	میانگین زمان لازم برای جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی
تیمار سرمایی	۴	۳۴/۴۶**	۴۳۴/۷۶***	۰/۱۸**
تیمار شیمیایی	۶	۲۰/۹۳۰**	۱۲/۳۶۱***	۰/۰۰۷**
تیمار سرمایی × تیمار شیمیایی	۲۴	۲/۴۴۰**	۹/۱۷۰***	۰/۰۱**
خطا	۱۰۵	۱/۱۱۰	۲/۲۵۶	۰/۰۰۰
ضریب تغییرات (%)	-	۹/۳۷۸	۹/۳۷۸	۲/۳۸

ns, * و **: به ترتیب عدم معنی داری، معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد را نشان می‌دهد.

جدول ۲- اثر تیمار سرمایی و شیمیایی بر درصد جوانه‌زنی بذور پنبه‌باد در شرایط درون شیشه ای

ترکیبات شیمیایی							
دوره سرما	صفر	اسید ۵۰۰	جیبرلیک اسید ۷۵۰	جیبرلیک اسید ۱۰۰۰	نیتрат ۱۰۰۰ پتاسیم	نیترات ۲۰۰۰ پتاسیم	نیترات ۳۰۰۰ پتاسیم
صفر	۰/۱۵h	۰/۵۵b.g	۰/۴۵efg	۰/۶۰a.g	۰/۵۵b.g	a-e۰/۸۰	۰/۶۰a.g
۱۰	۰/۳۰ g	۰/۷۵ a.e	۰/۱۰۰ a	۰/۱۰۰ a	۰/۸۵ a.d	۰/۸۵ a.d	۰/۱۰۰ a
۲۰	۰/۵۵ b.g	۰/۹۰ abc	۰/۹۰ abc	۰/۱۰۰ a	۰/۹۵ ab	۰/۹۵ ab	۰/۹۰ abc
۳۰	۰/۴۵ efg	۰/۶۰ a.g	۰/۴۵ efg	۰/۶۰ a.g	۰/۶۵ a.f	۰/۶۵ a.g	۰/۶۵ a.f
۴۰	۰/۴۵ efg	۰/۴۵ efg	۰/۴۵ efg	۰/۵۰ d.g	۰/۴۵ efg	۰/۶۰ a.g	۰/۶۰ a.g

در هر ستون و ردیف میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، براساس آزمون دانکن در سطح ۰/۰۱ دارای اختلاف معنی داری نمی‌باشد.

سرعت جوانه‌زنی: طبق نتایج تجزیه واریانس داده‌های این تحقیق مشاهده گردید که سرعت جوانه‌زنی بذور در داخل لوله آزمایشی در هفته اول سبب ایجاد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد شد. به ازای هر یک هفته افزایش مدت زمان سرمادهی سرعت جوانه‌زنی کاهش پیدا کرد. در بررسی جدول مقایسه میانگین اثرات متقابل دوره سرمادهی و ترکیبات شیمیایی مشاهده شد، که بیشترین سرعت جوانه‌زنی بذر در هفته اول در اثر اعمال دوره سرمادهی ۱۰ روز + ترکیبات شیمیایی بود که با تیمار ۲۰ روز + ترکیبات شیمیایی دارای اختلاف معنی داری نبود. بقیه تیمارهای اعمال شده تاثیر مثبتی بر جوانه‌زنی بذرها در هفته اول نداشتند. (Zangoie et al (2013 بیان کردند که کاربرد توام هورمون جیبرلیک اسید با سرمادهی مرطوب سبب افزایش معنی‌دار سرعت جوانه‌زنی گیاه دارویی کندل نسبت به تیمار سرمادهی گردید.

در بررسی جدول مقایسه میانگین (جدول ۳) اثرات متقابل دوره سرمایی و ترکیبات شیمیایی در هفته دوم مشاهده شد که بیشترین میزان سرعت جوانه‌زنی بذر در هفته دوم همانند هفته اول در اثر اعمال دوره سرمادهی ۱۰ و ۲۰ روز + ترکیبات شیمیایی

به دست آمد. بقیه تیمارهای اعمال شده تاثیر مثبتی بر جوانه‌زنی بذرها در هفته دوم نداشتند. در این تحقیق مشخص شد که اعمال دوره سرمادهی ۲۰ روز سبب افزایش تعداد برگ در گیاهچه‌ها، درصد جوانه زنی و سرعت جوانه‌زنی بذر در هفته اول و دوم شد و برعکس با افزایش طول دوره سرمایی میزان تعداد برگ، درصد جوانه زنی و سرعت جوانه‌زنی بذر کاهش یافت. اعمال تیمارهای سرمادهی و ترکیبات شیمیایی بر سرعت جوانه‌زنی بذر در داخل لوله آزمایشی در هفته سوم و همچنین اثرات متقابل آنها در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد. نتایج سرعت جوانه‌زنی در هفته سوم همانند هفته‌های اول و دوم بود. (2007) Amoo Aghaiim گزارش داد که افزایش مدت زمان سرمادهی در محدوده صفر تا نه هفته سبب افزایش معنی دار درصد و زمان تا ۵۰ درصد جوانه زنی در بذر آنغوزه (*Erula Ovina Boiss*) گردید، کاهش زمان جوانه زنی نشان دهنده افزایش سرعت جوانه زنی بذر می باشد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. (2002) Peng and Harberd عنوان کردند، سرما به عنوان محرک ثانویه تولید هورمون اسید جیبرلیک در بذر عمل می کند، و با افزایش این هورمون میزان اسید آبسزیک کاهش می یابد، سپس اسید جیبرلیک به لایه آلورن رفته و آنزیم های مختلفی را فعال می کند. یکی از این آنزیم ها آلفا امیلاز است که موجب شکسته شدن قندها و نشاسته شده و آنها را به مواد قابل استفاده بذر تبدیل می کند.

جدول ۳- اثر تیمار سرمایی و شیمیایی بر سرعت جوانه زنی بذر پنبه‌ریز در شرایط درون شیشه ای

ترکیبات شیمیایی							دوره سرما
نیترات ۳۰۰۰ پتاسیم	نیترات ۲۰۰۰ پتاسیم	نیترات ۲۰۰۰ پتاسیم	جیبرلیک ۱۰۰۰ اسید	جیبرلیک ۷۵۰ اسید	جیبرلیک ۵۰۰ اسید	صفر	
.b	.b	./۰.۳۶b	./۰.۳۶ b	./۰.۰۰ b	./۰.۳۶b	./۰.۰۰b	صفر
./۲۲۸a	./۲۰۲ abc	./۲۰۲ abc	./۲۲۸ a	./۲۳۸ a	./۱۷۹ a.e	./۰.۷۱ gh	۱۰
./۲۱۴ab	./۲۲۶ a	./۲۲۶ a	./۲۲۸ a	./۲۴۱ ab	./۲۱۴ ab	./۱۳۱ g.d	۲۰
./۱۵۵b.f	./۱۴۳ c.f	./۱۵۵ b.f	./۱۴۳ c.f	./۱۰۷ fg	./۱۴۳ c.f	./۱۰۷ fg	۳۰
./۱۴۳c.f	./۱۴۳ c.f	./۱۷۰ fg	./۱۱۹ efg	./۱۰۷ fg	./۱۰۷ fg	./۱۰۷ fg	۴۰

در هر ستون و ردیف میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند. براساس آزمون دانکن در سطح ۰/۰۱ دارای اختلاف معنی داری نمی باشند.

متوسط زمان لازم برای جوانه زنی: کمترین زمان لازم برای جوانه‌زنی بذر در اثر اعمال تیمارهای دوره سرمادهی ۲۰ روز + کاربرد ترکیبات شیمیایی در مقادیر مختلف دیده شد، که در مقایسه با تیمارهای دوره سرمادهی ۱۰ روز + ترکیبات شیمیایی دارای اختلاف معنی داری نبود. هرچه طول دوره جوانه‌زنی بذرها کاهش یابد از لحاظ اقتصادی و رشد رویشی گیاهچه‌ها بهتر می باشد.

جدول ۴- اثر تیمار سرمایی و شیمیایی بر میانگین زمان جوانه زنی (MGT) (روز) بذور پنبه در شرایط درون شیشه ای

ترکیبات شیمیایی							
دوره سرما	صفر	جیبرلیک اسید ۵۰۰	جیبرلیک اسید ۷۵۰	جیبرلیک اسید ۱۰۰۰	نیتрат پتاسیم ۱۰۰۰	نیترات پتاسیم ۲۰۰۰	نیترات پتاسیم ۳۰۰۰
صفر	۲۱a	۱۶/۶۳ c.d	۱۷/۷۹ a.d	۱۷/۶۵ a.d	۱۷/۳۶ bcd	۱۸/۵۲a.d	abc۱۹
۱۰	۱۷/۵۰ bcd	۱۰/۶۷e	۱۱/۹۰ e	۱۱/۹۰ e	۱۱/۵۵ e	۱۱/۵۵ e	۱۰/۸۵ e
۲۰	۱۵/۷۵ d	۱۰/۸۵e	۱۰/۸۵ e	۱۰/۵۰ e	۱۰/۳۳ e	۱۰/۳۳ e	۱۰/۷۶ e
۳۰	۱۷/۱۱ bcd	۱۷/۵۰ bcd	۱۹/۵۳ abc	۱۹/۸۴ abc	۱۸/۵۲ a-d	۱۹/۴۰ abc	۱۸/۵۲ a-d
۴۰	۱۸/۳۸ a-d	۲۰/۴۲ ab	۱۹/۵۳ abc	۲۰/۴۲ ab	۲۱/۰۰ a	۱۹/۲۵ abc	۲۰/۱۳ ab

در هر ستون و ردیف میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند. براساس آزمون دانکن در سطح ۰/۰۱ دارای اختلاف معنی داری نمی‌باشند.

اعمال تیمارهای سرمایی و ترکیبات شیمیایی بر تعداد شاخه در داخل لوله آزمایشی در سطح احتمال یک درصد معنی دار شده است. با توجه به جدول مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمار سرمایی و شیمیایی مشاهده می‌گردد که اعمال تیمارهای مختلف سبب اختلاف معنی داری بین تعداد برگ شده است. بیشترین تعداد برگ متعلق به تیمار دوره سرمادهی ۲۰ روز + نیترات پتاسیم ۱۰۰۰ می‌باشد. همچنین کمترین میزان تعداد برگ با میزان ۱، ۱/۵ و ۲ عدد در اثر اعمال تیمار شاهد می‌باشد. با توجه به جدول مقایسه میانگین مشاهده شد که اعمال تیمارهای مختلف سبب اختلاف معنی داری در طول ساقه شده است. بیشترین طول ساقه متعلق به تیمارهای دوره سرمادهی ۱۰ روز + جیبرلیک اسید ۷۵۰ پی‌پی‌ام می‌باشد.



نمودار ۵- اثر مدت زمان تیمار شیمیایی بر میانگین زمان جوانه زنی بذور پنبه در شرایط درون شیشه ای

آزمایش دوم

درصد جوانه زنی بذر: براساس نتایج تجزیه واریانس، اعمال تیمارهای سرمایی و شیمیایی بر درصد جوانه زنی، سبب ایجاد اختلاف معنی داری در سطح احتمال یک درصد شد. بیشترین درصد بذر جوانه زده (۸۵ درصد) متعلق به تیمار دوره سرمادهی ۲۰ روز + نیتراپتاسیم ۳۰۰۰ پی پی ام می باشد. در این بررسی مشخص شد که اعمال دوره سرمادهی ۲۰ روز سبب افزایش درصد جوانه زنی بذرهای می شود. همچنین کمترین درصد بذر جوانه زده در اثر اعمال تیمار شاهد است. (Suri et al (2017 گزارش کردند تیمار بذر آریشیو به مدت ۱۲ تا ۲۴ ساعت سبب افزایش درصد و سرعت جوانه زنی در این گیاه می گردد.

جدول ۶- میانگین مربعات مربوط به اثر تیمار سرمایی و ترکیبات شیمیایی بر شاخص های جوانه زنی پنبیرباد.

منابع تغییر	درجه آزادی	درصد جوانه زنی	میانگین زمان لازم برای جوانه زنی	سرعت جوانه زنی
تیمار سرمایی	۴	۷۶/۳۷۸**	۱۶۳/۵۹**	۰/۳۴۶۸**
تیمار شیمیایی	۶	۲۲/۴۷۷**	۲۶/۹۷۱**	۰/۱۰۷**
تیمار سرمایی × تیمار شیمیایی	۲۴	۴/۲۶۸**	۴/۵۲۲**	۰/۰۱۹**
خطا	۱۰۵	۱/۰۱۴	۱/۵۷۸	۰/۰۰۴
ضریب تغییرات	-	۱۶/۱۹	۸/۳۷۲	۶/۹۹

NS، * و ** به ترتیب عدم معنی داری، معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد را نشان می دهد.

جدول ۷- اثر تیمار سرمایی و شیمیایی بر درصد جوانه زنی بذر پنبیرباد کشت شده در داخل پتری دیش.

دوره سرما	صفر	اسید ۵۰۰	اسید ۷۵۰	جیبرلیک	اسید ۱۰۰۰	نیتراپتاسیم ۱۰۰۰	نیتراپتاسیم ۲۰۰۰	نیتراپتاسیم ۳۰۰۰
صفر	۰/۲ m	۰/۹ lm	۰/۱۲ klm	۰/۶ m	۰/۳۶ e.j	۰/۳۷ c.j	۰/۳۷ c.j	۰/۲۴ ijk
۱۰	۰/۲۶ g.k	۰/۶۰ a.f	۰/۶۵ a.e	۰/۶۴ a.f	۰/۳۷ c.j	۰/۶۶ a.d	۰/۶۶ a.d	۰/۶۳ a.f
۲۰	۳۳ f.j	۰/۶۲ a.f	۸۲ ab	۷۸ ab	۶۹ abc	۵۵ a.f	۵۵ a.f	۸۵ a
۳۰	۲۳ ijk	۴۹ a-i	۴۰ c.j	۲۰ jkl	۲۵ h.k	۵۳ a.g	۵۳ a.g	۵۸ a.f
۴۰	۱۹ jkl	۴۹ a-i	۴۰ c.j	۲۰ jkl	۲۵ h.k	۵۱ a.h	۵۱ a.h	۵۶ a.f

در هر ستون و ردیف میانگین هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می باشند. براساس آزمون دانکن در سطح ۰/۰۱ دارای اختلاف معنی داری نمی باشد.

سرعت جوانه زنی بذر: طبق جدول تجزیه واریانس اعمال تیمارهای سرمایی و شیمیایی بر سرعت جوانه زنی بذر در هفته اول سبب ایجاد اختلاف معنی دار و همچنین اثرات متقابل آنها در سطح احتمال یک درصد شد. براساس جدول مقایسه میانگین (جدول ۹) بیشترین میزان سرعت جوانه زنی بذر متعلق به تیمارهای دوره سرمادهی ۲۰ روز + جیبرلیک اسید ۷۵۰ پی پی ام می باشد که با

تیمارهای دوره سرمادهی ۱۰ روز + نیترات پتاسیم ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام و جیبرلیک اسید ۷۵۰ پی‌پی‌ام دارای اختلاف معنی داری نمی باشد. همچنین کمترین سرعت جوانه‌زنی بذر در اثر اعمال تیمار شاهد می باشد.

اعمال تیمارهای سرمایی و شیمیایی بر سرعت جوانه‌زنی بذر در هفته دوم، سبب ایجاد اختلاف معنی دار در سطح احتمال یک درصد شد. براساس جدول مقایسه میانگین (جدول ۱۰) بیشترین میزان سرعت جوانه‌زنی بذر متعلق به تیمارهای دوره سرمادهی ۲۰ روز + جیبرلیک اسید ۷۵۰ می باشد. همچنین کمترین سرعت جوانه‌زنی بذر در اثر اعمال تیمار شاهد می باشد. اعمال تیمارهای سرمایی و شیمیایی بر سرعت جوانه‌زنی بذر در داخل پتری دیش در هفته سوم سبب ایجاد اختلاف معنی دار و همچنین اثرات متقابل آنها در سطح احتمال یک درصد شد (جدول ۱۱). بیشترین سرعت جوانه‌زنی بذر متعلق به تیمارهای دوره سرمادهی ۲۰ روز + نیترات پتاسیم ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام می باشد که در مقایسه با تیمارهای جیبرلیک اسید ۷۵۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام دارای اختلاف معنی داری نمی باشد. همچنین کمترین درصد بذر جوانه زده در اثر اعمال تیمار شاهد است. (Bretzloff and Pellet 1979) گزارش کرد که اثر جیبرلیک اسید هنگامی که با سرما همراه گردد افزایش می یابد. زیرا سرما نقش مهمی در فراهم شدن شرایط لازم برای غلبه بر خواب بذر دارد. سرما سبب القای افزایش غلظت جیبرلیک اسید میگردد. (Yamauchi et al 2004) بیان کردند که دمای ۴ درجه سانتیگراد سبب افزایش بیان ژن و تولید جیبرلیک اسید در ریشه چه و لایه آلورون گردید.

جدول ۸- اثر تیمار سرمایی و شیمیایی بر سرعت جوانه زنی بذر پنیر باد در هفته اول (پتری دیش).

دوره سرما(روز)	صفر	جیبرلیک اسید۵۰	جیبرلیک اسید۷۵۰	جیبرلیک اسید۱۰۰۰	نیترات پتاسیم۱۰۰۰	نیترات پتاسیم۲۰۰۰	نیترات پتاسیم۳۰۰۰
صفر	۰h	۰/۱۰۷ h	۰/۲۱۴ fgh	۰/۱۰۷h	۰/۲۱۴fgh	۰/۳۹۳d.h	۰/۳۵۷ d.h
۱۰	۰/۰۷۱ h	۰/۷۱۴ a.e	۱/۰۷۱ ab	۰/۸۹۳ abc	۰/۶۰۷ b.f	۱/۱۰۷ a	۰/۸۹۳ abc
۲۰	۰/۱۰۷ h	۰/۵۳۶ c.g	۱/۱۰۷ a	۰/۹۶۴ abc	۰/۷۵۰ a.d	۰/۷۵۰ a.d	۱/۰۰۰ abc
۳۰	۰ h	۰/۱۷۹ fgh	۰/۱۷۹ fgh	۰/۱۰۷ h	۰/۱۴۳ gh	۰/۲۸۶ e.h	۰/۲۸۶ e.h
۴۰	۰ h	۰/۳۲۱ d.h	۰/۱۴۳ gh	۰/۰۷۱ h	۰/۰۷۱ h	۰/۲۱۴ fgh	۰/۲۱۴ fgh

در هر ستون و ردیف میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند. براساس آزمون دانکن در سطح ۰/۰۱ دارای اختلاف معنی داری نمی‌باشد.

جدول ۹- اثر تیمار سرمایی و شیمیایی بر سرعت جوانه زنی بذور پنیرباد در هفته دوم (پتری دیش).

دوره سرما (روز)	صفر	جیبرلیک ۵۰۰ اسید	جیبرلیک ۷۵۰ اسید	جیبرلیک ۱۰۰۰ اسید	نیترا ۱۰۰۰ پتاسیم	نیترا ۲۰۰۰ پتاسیم	نیترا ۳۰۰۰ پتاسیم
صفر	۰/۱۸ k	۰/۱۴۳ h.k	۰/۱۹۶ f.k	۰/۱۰۷ ijk	۰/۵۳۶ c.f	۰/۴۴۶ e.h	۰/۳۳۹ e.j
۱۰	۰/۲۱۴ f.k	۰/۸۹۳ abc	۱/۰۷۱ a	۱/۰۷۱ a	۰/۵۸۹ b.e	۱/۰۸۹ a	۰/۹۶۴ ab
۲۰	۰/۲۳۲ e.k	۰/۸۹۳ abc	۱/۲۶۸ a	۱/۱۹۶ a	۱/۰۰۰ a	۰/۸۳۹ a.d	۱/۲۳۲ a
۳۰	۰/۱۴۳ h.k	۰/۲۵۰ e.k	۰/۳۵۷ e.j	۰/۱۴۳ h.k	۰/۱۶۱ g.k	۰/۳۵۷ e.j	۰/۵۰۰ d.g
۴۰	۰/۰۸۹ jk	۰/۴۲۹ e.i	۰/۲۵۰ e.k	۰/۱۴۳ h.k	۰/۱۷۹ g.k	۰/۳۷۵ e.j	۰/۴۶۴ e.h

در هر ستون و ردیف میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند. براساس آزمون دانکن در سطح ۰/۰۱ دارای اختلاف معنی داری نمی‌باشد.

جدول ۱۰- اثر تیمار سرمایی و شیمیایی بر سرعت جوانه زنی بذور پنیرباد در هفته سوم (پتری دیش).

دوره سرما (روز)	صفر	جیبرلیک ۵۰۰ اسید	جیبرلیک ۷۵۰ اسید	جیبرلیک ۱۰۰۰ اسید	نیترا ۱۰۰۰ پتاسیم	نیترا ۲۰۰۰ پتاسیم	نیترا ۳۰۰۰ پتاسیم
صفر	۰/۲۴ m	۰/۱۰۷ lm	۰/۱۴۳ klm	۰/۰۷۱ lm	۰/۴۲۹ g.j	۰/۴۴۰ f.j	۰/۲۸۶ jkl
۱۰	۰/۳۱۰ li	۰/۷۱۴ a.g	۰/۷۴۴ a.e	۰/۷۶۲ a.e	۰/۴۴۰ f.j	۰/۷۸۶ a.e	۰/۷۵۰ a.f
۲۰	۰/۳۹۳ h.k	۰/۷۳۸ a.g	۰/۹۷۶ ab	۰/۹۲۹ abc	۰/۸۲۱ a.d	۰/۶۵۵ b.h	۱/۰۱۲ a
۳۰	۰/۲۷۴ jkl	۰/۵۸۳ d.i	۰/۴۷۶ e.j	۰/۲۳۸ j.m	۰/۲۹۸ jkl	۰/۶۳۱ b.h	۰/۶۹۰ a.h
۴۰	۰/۲۲۶ j.m	۰/۵۸۳ d.i	۰/۴۷۶ e.j	۰/۲۳۸ g.m	۰/۲۹۸ jkl	۰/۶۰۷ c.h	۰/۶۶۷ b.h

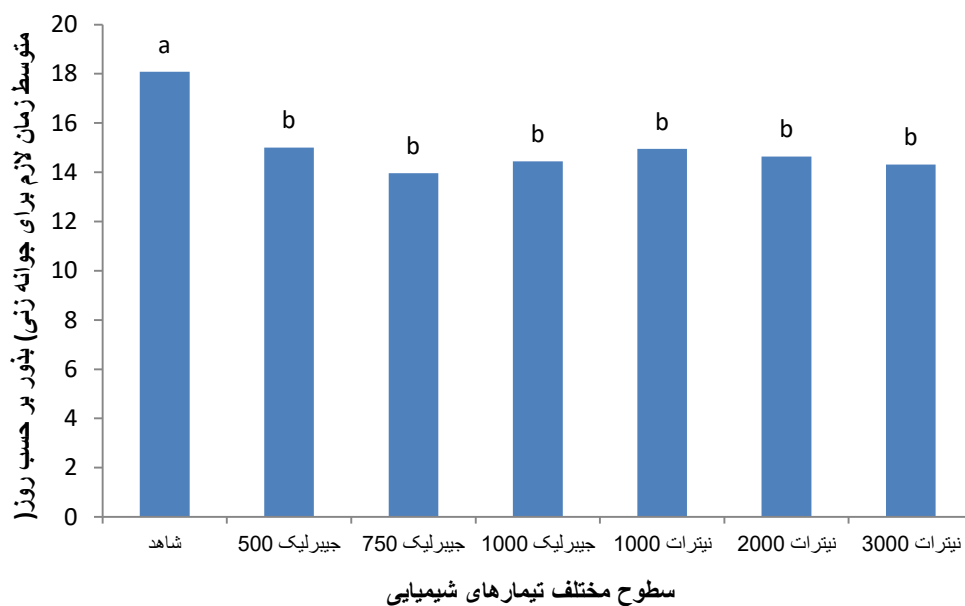
در هر ستون و ردیف میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند. براساس آزمون دانکن در سطح ۰/۰۱ دارای اختلاف معنی داری نمی‌باشد.

متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی: براساس جدول مقایسه میانگین (جدول ۱۱) بیشترین زمان لازم برای جوانه‌زنی بذر متعلق به تیمارهای دوره سرمادهی ۴۰ روز و تیمار شاهد است. کمترین زمان لازم برای جوانه‌زنی بذور در اثر اعمال تیمارهای، دوره سرمادهی ۱۰ روز + نیترا ۲۰۰۰ می‌باشد که در مقایسه با جیبرلیک اسید ۷۵۰ پی‌پی‌ام دارای اختلاف معنی داری نمی‌باشد. همچنین اعمال تیمارهای دوره سرمادهی ۲۰ روز + جیبرلیک ۷۵۰ و ۱۰۰۰ و نیترا ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام نیز جز تیمارهایی هستند که سبب کاهش زمان لازم برای جوانه‌زنی بذر شدند. (Ghasemi et al (2007 دریافتند که تیمار ۰/۲ درصد نیترا پتاسیم موجب افزایش جوانه زنی بذور آویشن دناپی، زوفا، بومادران و انیسون می‌گردد. (Akram et al (2008 گزارش کردند، تیمار نیترا پتاسیم در بیشتر بذور موجب افزایش درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی، و متوسط زمان جوانه زنی می‌گردد. نیترا پتاسیم احتمالاً حساسیت بذور در حال جوانه زدن به نور را افزایش می‌دهد و به عنوان یک فاکتور مکمل فیتوکروم عمل می‌کند.

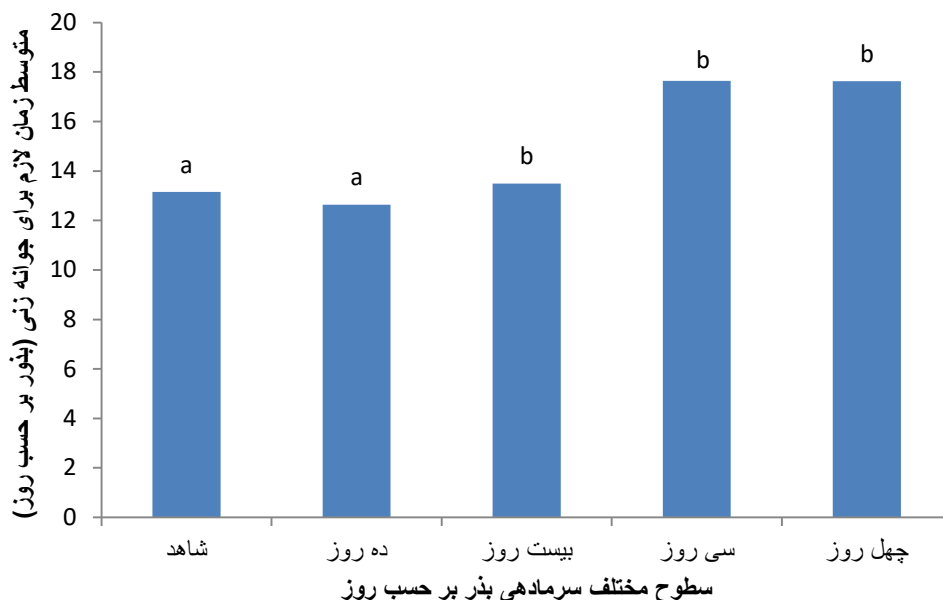
جدول ۱۱- اثر تیمار سرمایی و شیمیایی بر میانگین زمان جوانه زنی (MGT) (روز) بذور پنبه‌باد در پتری دیش

دوره سرما (روز)	صفر	جیبرلیک ۵۰۰ اسید	جیبرلیک ۷۵۰ اسید	جیبرلیک ۱۰۰۰ اسید	نیتрат ۱۰۰۰ پتاسیم	نیترات ۲۰۰۰ پتاسیم	نیترات ۳۰۰۰ پتاسیم
صفر	۱۷/۵۰ a	۱۳/۲۲ def	۱۰/۶۱ f	۱۰/۵۰ f	۱۴/۴۹ bcd	۱۴/۴۹ bcd	۱۲/۵۴ def
۱۰	۱۷/۱۳ ab	۱۳/۰۸ def	۱۱/۳۶ ef	۱۱/۶۱ f	۱۱/۲۵ ef	۱۱/۲۵ ef	۱۲/۲۱ def
۲۰	۱۷/۶۰ a	۱۳/۵۹ cde	۱۲/۳۰ def	۱۲/۳۰ def	۱۳/۱۳ def	۱۲/۳۳ def	۱۳/۰۰ def
۳۰	۱۸/۵۸ a	۱۸/۴۳ a	۱۶/۷۹ ab	۱۶/۷۹ ab	۱۷/۵۹ a	۱۷/۵۹ a	۱۶/۷۹ ab
۴۰	۱۹/۱۶ a	۱۶/۲۳ abc	۱۷/۸۹ a	۱۷/۸۹ a	۱۷/۶۷ a	۱۷/۵۸ a	۱۷/۰۴ ab

در هر ستون و ردیف میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند. براساس آزمون دانکن در سطح ۰/۰۱ دارای اختلاف معنی داری نمی‌باشد.



نمودار ۱۲- اثر مدت زمان تیمار شیمیایی بر میانگین زمان جوانه زنی بذور پنبه‌باد کشت شده در پتری دیش



نمودار ۱۳- اثر مدت زمان تیمار سرمایی بر میانگین زمان جوانه زنی بذر پنیرباد کشت شده در پتری دیش

نتیجه گیری کلی

بر اساس نتایج (Omid et al (2005) به نظر می رسد تکنیک پرایمینگ اجازه رونویسی زود هنگام، رونویسی از DNA را می دهد و رشد رویان را نیز افزایش می دهد، بخش های آسیب دیده بذور را ترمیم می بخشد و ترشحات متابولیت ها را کاهش می دهد. با توجه به نتایج بدست آمده از بذرهای کشت شده در لوله آزمایش مشخص شد که اعمال تیمار سرمایی ۲۰ روز سبب افزایش تعداد برگ در گیاهچه ها، درصد جوانه زنی و سرعت جوانه زنی بذر در هفته اول و دوم می شود و برعکس با افزایش طول دوره سرمادهی تعداد برگ، درصد جوانه زنی و سرعت جوانه زنی بذر کاهش می یابد. همچنین، دوره سرمادهی در محدود ۱۰ تا ۲۰ روز + کاربرد ترکیبات شیمیایی (مقادیر مختلف نیترات پتاسیم و جیبرلیک اسید) سبب کاهش زمان لازم برای جوانه زنی می باشد به عبارتی باعث افزایش سرعت جوانه زنی می گردد. همچنین دوره سرمادهی ۲۰ روز سبب افزایش درصد جوانه زنی بذرها می شود و برعکس با افزایش طول دوره سرمادهی درصد جوانه زنی بذرها کاهش می یابد. با توجه به نتایج بدست آمده از بذرهای کشت شده در پتری دیش مشخص شد که بهترین تیمار برای افزایش درصد و سرعت جوانه زنی بذرها و همچنین کاهش زمان لازم برای (بر حسب روز) جوانه زدن بذرها، تیمارهای دوره سرمادهی ۲۰ روز + جیبرلیک اسید ۱۰۰۰ پی پی ام می باشد. در این تحقیق مشخص شد که کاربرد مقادیر مختلف نیترات پتاسیم و سرمادهی بذر به مدت ۲۰ روز سبب افزایش تعداد برگ در گیاهچه ها و افزایش طول دوره سرمادهی سبب کاهش تعداد برگ می شود و همچنین کاربرد جیبرلیک اسید سبب افزایش طول ساقه می گردد.

Reference

- Amoo Aghaii, R. 2007.** Effect of Gibberellic acid and moist chilling on the seed dormancy breaking *Ferula ovina* Boiss. Water and Soil Sciences. 11(40): 471-482. (In Persian)
- Abdolrahmani, B., Ghassemi-Golezani, K., Valizadeh, Feizi-Asl, M. and Tvakoli, A. 2009.** Effects of seed priming on seed vigor and grain yield of barley (*Hordeum vulgare* L. cv. Abidar) in rainfed conditions. Iranian Journal of Crop Sciences, 11 (4): 337-352. (In Persian)
- Akram-Ghaderi, F., Kamkar, B. and Soltani, A. 2008.** Principles of seed science and technology. Jahade Daneshgahi Mashhad Press. p: 152.
- Baskin, C.C. and Baskin, J.M. 1998.** Seeds, Ecology, and Evolution of Dormancy and Germination. Academic Press, New York. 6: 101-106
- Bretzloff, I.V. and Pellett, N.W. 1979.** Effect of stratification and gibberellic acid on the germination of *Carpinus caroliniana* Walt. Horticultural Science. 14, 621- 622
- Ghasemi Pirbalooti, A. Golparvar, A. Riahi Dehkordi, M. and Navid, A. 2007.** The effect of different treatments on seeds dormancy and germination of five species of medicinal plants of Chahar Mahal and Bakhteyari province. Pajouhesh and Sazandegi. 74: 186-192.(In Persian)
- Gaur, R., and Kumar, K. 2010.** Insect growth-regulating effects of *Withania somnifera* in a polyphagous pest, *Spodoptera litura*. Phytoparasitica. 38, 237-241.
- Ghasemi jobshahr, E. and Khoramivafa, M. 2013.** Effect of Pretreatment of Salicylic Acid on Germination and Seedling Properties *Callendulla officinalis* in Salt Stress Condition. Plant Production Technology. 17(2): 57-70. (In Persian)
- Koochaki, A., and Azizy, G. 2005.** Effect of different seed dormancy breaking treatments on the *Teucrium polium* seed germination. Iranian Field Crop researches. 3 (1): 81-88. (In Persian)
- Gupta, A.P. Verma, R.K. Misra, H.O. and Gupta, M.M. 1996.** Quantitative determination of withaferm-A in different plant parts of *Withania somnifera* by TLC densitometry. Journal of Medicinal and Aromatic Plant Science. 18: 788-790.
- Kaykha, Z., Valizade , M., Valizadeh, J. and Taheri, Kh. 2012.** Studying the quantity and quality of fatty acids in the seeds of *Withania coagulans* (*Stocks*) Dun. and (*Withania somnifera* L.) Dun., collected from different habitats of Sistan and Baluchestan. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 33(5): 2017.
- Matilla A.J. and Matilla-Vázquez M.A. 2008.** Involvement of ethylene in seed physiology. Sci 175:87-9.
- Mahmoodzadeh, A., Nojvan, M. and Bagheri, Z. 2005.** Effects of different treatments on breaking of dormancy and seed germination of *Datura stramonium* L. Journal of Biology. 18(4):341-349.
- Nategh, M. Klarestaghi, K. Sadrabadi Haghighi, R. and Ghadiri, N. 2012.** Effect of priming on germination and seedling growth of *Purpurea Echinacea*. 2nd Iranian Nation. Conference of Seed Science and Technology. PP: 1-5.
- Niyaz, A. and Nabi, S.E. 2014.** Seed Germination of *Withania Somnifera*, European journal of Medicinal Plants. 4(8): 920-926.
- Ranal, M.A. and De Santana, D.G. 2006.** How and why to measure the germination process Revista Brasil. Botanicue. 29(1): 1-11.
- Rezaee, A. 2014** Investigation of Effective Methods in Breaking the Seed dormancy of (*Hyoscyamus Reticulatus* L.), Iranian Journal of Field Crops Research. 12(2): 246-253.(In Persian)
- Sharma, R. 2004. Agro-Techniques of Medicinal Plants, Daya Publishing House, New Delhi, India, pp. 31-33.
- Seyedi, M. Hamzeye, J. BurBur, A. and Dadresi, V. 2013.** Effect of hydro-priming on germination properties and seedling growth of the safflower (*Carthamus Tinctorius* L.) under drought stress. Agro. Sci. 4: 63-76.(In Persian)
- Souri, M.K. Arab, M.A., Tohidloo, GH. and Kashi, A.K. 2017.** Effect of some seed priming treatments on germination quality of Artichoke (*Cynara scolymus*) seeds. Iranian Journal of seed science and technology. 5(2): 85-94.
- Omidi, H., Sorushzadeh, A., Salehi, A. and Ghezeli, F. 2005.** Evaluation of Priming pretreatments on germination rapeseed. Agricultural Science and Technology. 19(2): 1-10. (In Persian)

Effect of chilling and chemical treatment on seed dormancy of *withania somnifera*

Aysan Ghahremani¹, Ebrahim Ganji Moghadam^{2*}, Maryam Tatari³, Susan Khosroyar⁴

¹ Ph.D student, Department of Horticultural Sciences, Shirvan branch, Islamic Azad University, Shirvan, Iran

² Faculty member, crop and horticultural science research department, Kharasan agricultural and natural resources research and education center, AREEO MASHHAD, IRAN

³ PhD in Crop Physiology, Department of Horticultural Sciences, Shirvan Branch, Islamic Azad University, Shirvan, Iran

⁴ Assistant Professor, Department of Chemical and Petroleum Engineering, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran.

Withania somnifera belonging to *Solanaceae* family. This research was conducted to optimize the methods of breaking the dormancy of *Withania somnifera* in two independent experiments. The first experiment was carried out in a factorial arrangement in a completely randomized design experiment with four replications. The first factor was cold treatment at 5 levels (0, 10, 20, 30, 40 days at 4 ° C) and second factor was chemical treatment at 7 levels consist of gibberellic acid (500, 750 and 1000 ppm), potassium nitrate (1000, 2000 and 3000 ppm) and control was distilled water. In the first experiment, the seeds were grown in Murashige and Skoog plant growth medium in test tubes. The second experiment was carried out in the same design as the first experiment but the seeds were cultured after applying cold and chemical treatments inside a petri dish covered with filter paper. Finally, germination percentage, germination rate and average germination rate were calculated. In the first experiment, the highest (100%) and the lowest (15%) germination percentage were seen the treatment of chilling for 10 days + 750 ppm gibberellic acid and control treatment respectively. The application of cold and chemical treatments caused a significant difference in the average germination rate in the tube environment ($P < 0.01$). The minimum germination rate showed in 10 days cold + different amounts of chemical treatment. In the second experiment, application of different treatments caused a significant difference in germination percentage. The highest germination percentage (85%) was observed in 20 days cold + 3000 ppm potassium nitrate treatment. The effects of cold and chemical treatments and their interactions caused a significant difference in germination rate ($P < 0.01$). The minimum germination rate was in 10 days cold + 2000 ppm potassium nitrate treatment. Our results showed that cold period is an essential factor for eliminating of dormancy in *Withania somnifera*.

Key words: *Withania somnifera*, seed priming, potassium nitrate, gibberellic acid, seed pre-treatment, Vigor index.