



## تعیین نوع کمون در بذر ماریتیغال: اثرات تیمارهای پس رسی و جیبرلیک اسید در دماهای مختلف

میترا طلوع حافظیان اول<sup>۱</sup>، فرشید قادری فر<sup>۱\*</sup>، حمیدرضا صادقی پور<sup>۲</sup>، آسیه سیاهمرگویی<sup>۱</sup>، فاطمه فدایی<sup>۳</sup>، بنیامین ترابی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>گروه زراعت دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

<sup>۲</sup>گروه زیست شناسی دانشگاه گلستان، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۲/۲۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۳/۸

### چکیده

**سابقه و هدف:** گیاهان دارویی از جمله گیاهان مهم اقتصادی هستند که به صورت خام یا فرآوری شده در طب سنتی یا مدرن صنعتی مورد بهره‌برداری قرار می‌گیرند. در حال حاضر این تقاضای روزافزون سبب برداشت بی‌رویه و نامناسب این گیاهان گردیده است که ماحصل آن تخریب زیستگاه‌های طبیعی این گیاهان و قرار گرفتن تعدادی از آن‌ها در معرض خطر انقراض و نابودی می‌باشد. از این رو برای جلوگیری از بهره‌برداری بی‌رویه از این گیاهان در عرصه‌های طبیعی، باید اقدام به کشت و اهلی کردن این گیاهان نمود. یکی از مشکلات اولیه در اهلی سازی گیاهان دارویی، مشکلات مربوط به جوانه‌زنی و وجود کمون در بذره‌های این گیاهان می‌باشد. ماریتیغال (*Silybum marianum* L.Gaertn) گیاهی دارویی از خانواده کاسنی است که بذره‌های آن حاوی ترکیبات دارویی ارزشمندی می‌باشد. از مشکلات اولیه در اهلی سازی این گیاه، وجود کمون در بذره‌های آن است که منجر به غیریکنواختی در جوانه‌زنی و سبز شدن آن در مزرعه می‌گردد. از این رو اولین گام در اهلی سازی این گیاه، شناخت نوع کمون با هدف انتخاب مؤثرترین روش در رفع آن می‌باشد؛ بنابراین مطالعه حاضر با هدف: (۱) تعیین نوع کمون (۲) بررسی واکنش جوانه‌زنی بذره‌های ماریتیغال به سطوح مختلف جیبرلیک اسید و پس‌رسی در شرایط دمایی مختلف انجام گردید.

**مواد و روش‌ها:** این تحقیق در دو آزمایش جداگانه به صورت تجزیه مرکب بر پایه طرح کاملاً تصادفی بر روی بذره‌های تازه و پس رس شده ماریتیغال، با هدف بررسی اثرات غلظت‌های مختلف جیبرلیک اسید بر رفع کمون و جوانه‌زنی این گیاه در دماهای مختلف در سال ۱۳۹۷ انجام شد. پس رسی بذرها طی پنج ماه انبارداری در دمای  $7 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. در هر آزمایش، آزمون جوانه‌زنی در دماهای ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد روی بذره‌های ماریتیغال تازه و پس‌رس شده با پنج غلظت جیبرلیک اسید ۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام صورت گرفت. در هر آزمایش صفات درصد، سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی، به همراه زمان تا شروع جوانه‌زنی در تیمارهای مختلف تعیین و پاسخ این صفات به تیمارهای پس‌رسی، دما و جیبرلیک اسید بررسی گردید.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که بذره‌های تازه و پس‌رس شده ماریتیغال قادر به جوانه‌زنی در هیچ‌یک از دماها نمی‌باشد و کاربرد جیبرلیک اسید بذرها را قادر به جوانه‌زنی در دماهای مختلف می‌نماید؛ اما واکنش بذره‌های تازه و پس‌رس شده به جیبرلیک اسید متفاوت بود. در بذره‌های تازه، درصد، سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی کمتر از بذره‌های پس‌رس شده بود. همچنین زمان تا شروع

\*نویسنده مسئول: [farshidghaderifar@yahoo.com](mailto:farshidghaderifar@yahoo.com)

جوانه‌زنی در بذره‌های پسر رس شده کمتر از بذره‌های تازه بود؛ به عبارت دیگر می‌توان گفت با این‌که پسررسی باعث رفع کمون بذره‌های ماریتیغال نگردید، اما حساسیت به جیبرلیک اسید را افزایش داد، به طوری که در بذره‌های پسر رس شده، حداکثر درصد و سرعت جوانه‌زنی با غلظت‌های پایین جیبرلیک اسید (۵۰۰ پی‌پی‌ام)، مشاهده شد. همچنین پسررسی باعث افزایش دمای مطلوب و سقف جوانه‌زنی بذره‌های این گیاه در مقایسه با بذره‌های تازه گردید. به طوری که دمای مطلوب برای بذره‌های تازه و پسر رس شده به ترتیب ۱۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دمای سقف به ترتیب ۳۰ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد بود، اما از لحاظ دمای پایه اختلاف چندانی بین بذره‌های تازه و پسر رس شده مشاهده نشد؛ به عبارت دیگر پسررسی باعث افزایش دامنه دمایی جوانه‌زنی بذره‌های ماریتیغال تیمار شده با جیبرلیک اسید گردید.

**نتیجه‌گیری:** به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که بذره‌های ماریتیغال دارای کمون فیزیولوژیک غیر عمیق می‌باشد که برای رفع آن می‌توان از جیبرلیک اسید استفاده کرد. پسررسی باعث رفع کمون بذره‌های این گیاه نگردید؛ اما حساسیت بذرها به جیبرلیک اسید را افزایش داد. همچنین تیمار پسررسی باعث افزایش دامنه دمایی جوانه‌زنی بذره‌های ماریتیغال تیمار شده با جیبرلیک اسید گردید.

**واژه‌های کلیدی:** دماهای کاردینال؛ حساسیت به جیبرلیک اسید؛ کمون فیزیولوژیک؛ گیاهان دارویی.

#### مقدمه

موانع زیادی روبه‌رو بوده که یکی از آن‌ها عدم یکنواختی جوانه‌زنی و استقرار بوته‌ها به واسطه وجود کمون در بذره‌های آن‌ها می‌باشد (۴۰ و ۲۲).

کمون بذر به عدم توانایی بذر سالم زنده در تکمیل جوانه‌زنی تحت شرایط مطلوب اطلاق می‌شود (۱۲). از این رو جوانه‌زنی که یکی از مراحل مهم در چرخه زندگی گیاهان می‌باشد، دچار دستخوش می‌گردد. شدت کمون بر اساس نوع گونه و شرایط محیطی طی نمو بذر بسیار متفاوت است (۱۵؛ ۲۴ و ۲۷). از این‌رو اولین گام در اهلی‌سازی گیاهان وحشی، شناخت نوع کمون آن‌ها با هدف انتخاب مؤثرترین روش در رفع آن می‌باشد. کمون بذر را می‌توان به کمون مرفولوژیک، کمون فیزیولوژیک، کمون ناشی از پوسته، کمون مرفوفیزیولوژیک و کمون دوگانه (کمون فیزیولوژیک و کمون ناشی از پوسته) تقسیم‌بندی کرد (۴). برای رفع این نوع کمون‌ها می‌توان از روش‌های خراش‌دهی، سرمادهی، دمای متناوب، پسررسی، هورمون جیبرلیک اسید، آبشویی و... استفاده نمود (۱۵).

اهمیت گیاهان دارویی و شناساندن نقش حیاتی آن‌ها در تحقق سلامت افراد جامعه، خودکفایی دارویی، ایجاد اشتغال و توسعه اقتصادی بر کسی پوشیده نیست (۲۸). گیاهان دارویی گروهی از گونه‌های گیاهی هستند که یک یا برخی از اندام‌های آن‌ها حاوی ماده مؤثره بوده و علاوه بر مصارف دارویی، کاربردهای وافر در صنعت تولید مواد آرایشی و بهداشتی دارند (۱). علاوه بر این به دلیل انعطاف اکولوژیکی زیاد آن‌ها در اقلیم‌های متنوع، به‌عنوان یکی از ذخایر ژنتیکی غنی گیاهی نیز محسوب می‌شوند (۴۰).

در حال حاضر تقاضای روزافزون سبب برداشت بی‌رویه و نامناسب گیاهان دارویی گردیده است که ماحصل آن تخریب زیستگاه‌های طبیعی این گیاهان و قرار گرفتن تعدادی از آن‌ها در معرض خطر انقراض و نابودی می‌باشد. یکی از راهکارهای مؤثر در دستیابی به این هدف، اهلی کردن این گیاهان و امکان کشت آن در اراضی زراعی در سطح وسیع می‌باشد (۳۶؛ ۳۹ و ۴۰)؛ اما اهلی کردن گیاهان دارویی با

مختلف جیبرلیک اسید و پسرسی در شرایط دمایی مختلف انجام گردید.

### مواد و روش‌ها

کاپیتول‌های رسیده ماریتیغال از محوطه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در اردیبهشت سال ۱۳۹۷ جمع‌آوری شدند و بلافاصله به آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر گروه زراعت دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل و بذره‌های به ظاهر سالم، از بذره‌های چروکیده، بسیار کوچک و نارس تفکیک شدند. سپس بذره‌های سالم با هم مخلوط شده و برای تعیین نوع کمون و آزمون‌های جوانه‌زنی، در مراحل بعد مورد استفاده قرار گرفتند. این تحقیق در دو آزمایش جداگانه بر روی بذره‌های تازه برداشت شده (آزمایش اول) و بذره‌های پسرس شده ماریتیغال (آزمایش دوم) صورت گرفت.

**آزمایش اول.** این آزمایش روی بذره‌های تازه برداشت شده ماریتیغال و در دو بخش انجام شد. در بخش اول که با هدف تعیین وجود کمون فیزیکی با استفاده از آزمون آبنوشی انجام گرفت، سه تکرار با ۲۰ بذر تازه (با وزن تک بذر ۲۱ میلی‌گرم) در هر تکرار این گیاه توزین و درون پتری‌دیش‌هایی با قطر ۶ سانتی‌متری بر روی یک لایه کاغذ صافی قرار گرفتند و بعد از اضافه شدن ۳ میلی‌لیتر آب مقطر به آن‌ها در انکوباتوری با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند (۶). سپس در شش ساعت اول مرحله آبنوشی، هر ساعت و در مراحل بعدی به فاصله زمانی مختلف، وزن بذرها با ترازویی با دقت ۰/۰۰۱ تعیین گردید. سپس با استفاده از رابطه زیر، افزایش در وزن بذر محاسبه گردید (۵).

رابطه (۱)

$$\text{Increase in mass of seed (\%)} = [(W2 - W1) / W1] \times 100$$

ماریتیغال یا خارمریم (*Silybum marianum* L. Gaertn) گیاهی یک ساله دارویی از خانواده کاسنی (آستراسه) است که از گذشته دور در درمان بیماری‌های کبدی استفاده شده است. بذره‌های ماریتیغال دارای گروهی از ترکیبات فلاونولیکنان شامل سیلی‌بین، سیلی‌کریستین و سیلی‌دیسائین می‌باشند که تحت عنوان سیلیمارین نامیده می‌شوند (۳۲). خاصیت دارویی سیلیمارین در گیاه ماریتیغال در مطالعات مختلف گزارش شده است (۲۹، ۳۸ و ۴۵). میوه این گیاه علاوه بر ترکیبات فلاونوئیدی، حاوی ماده تلخی است که منشأ آن ترکیبات رزینی و ترکیبات روغنی می‌باشد. مقدار روغن در میوه بین ۲۰ تا ۲۵ درصد است و مهم‌ترین اجزای آن عبارت‌اند از اسید لینولئیک (۵۰ تا ۶۰ درصد) اسید اولئیک (۲۰ تا ۳۵ درصد) که مصرف خوراکی دارند و لذا از فرآورده‌های جانبی کارخانه‌های داروسازی می‌باشند (۱۴).

وجود کمون در بذر ماریتیغال به‌عنوان یکی از مشکلات عمده زراعت آن در سطح وسیع و یا احیای عرصه‌های طبیعی آن معرفی شده است (۳۳ و ۳۴). به نحوی که ۹۴ درصد بذور زنده این گیاه دارای کمون اولیه می‌باشند (۴۱). مطالعاتی مختلفی بر روی رفع کمون بذره‌های ماریتیغال صورت گرفته است. برای تعیین نوع کمون باید به مواردی از قبیل فاصله زمانی جمع‌آوری بذر تا انجام آزمایش، جذب آب توسط بذر، واکنش به جیبرلیک اسید و جوانه‌زنی در دماهای مختلف توجه گردد و بر این اساس نوع کمون تعیین گردد. اما در هیچ‌کدام از مطالعات انجام شده آزمایشات جامعی برای تعیین دقیق نوع کمون بر روی این گیاه صورت نگرفته است (۳۳، ۳۴ و ۳۷). از این‌رو این مطالعه با هدف: (۱) تعیین نوع کمون و (۲) بررسی واکنش جوانه‌زنی بذره‌های این گیاه به سطوح

### تجزیه و تحلیل داده‌ها

به داده‌های درصد جوانه‌زنی تجمعی در مقابل زمان در تیمارهای مختلف مدل لجستیک سه پارامتری زیر برازش داده شد (۱۹):

$$Y = \frac{G_{max}}{1 + \left(\frac{X}{D_{50max}}\right)^b} \quad \text{رابطه (۲)}$$

که در این رابطه  $Y$  درصد جوانه‌زنی،  $G_{max}$  حداکثر درصد جوانه‌زنی (درصد)،  $D_{50max}$  مدت زمان رسیدن به ۵۰ درصد حداکثر جوانه‌زنی (ساعت)،  $X$  زمان (روز) و  $b$  شیب منحنی در  $D_{50max}$  می‌باشد. نظر به اینکه حداکثر درصد جوانه‌زنی در تیمارهای مختلف دمایی، جیبرلیک اسید و پس‌رسی متفاوت بود، از معکوس زمان تا ۵۰ درصد جمعیت بذری ( $1/D_{50T}$ ) برای محاسبه سرعت جوانه‌زنی استفاده شد (۴۲). برای این کار پس از برازش مدل لجستیک به داده‌های درصد جوانه‌زنی تجمعی، از طریق درون‌یابی مدت زمان رسیدن تا جوانه‌زنی ۵۰ درصد جمعیت بذری در هر تیمار برآورد شد. همچنین زمان تا شروع جوانه‌زنی و یکنواختی جوانه‌زنی نیز از طریق درون‌یابی محاسبه گردید. برای محاسبه یکنواختی جوانه‌زنی از تفاصل زمان تا ۴۰ درصد جمعیت بذری و زمان تا شروع جوانه‌زنی استفاده شد (۲۶).

پس از محاسبه سرعت جوانه‌زنی بر اساس جمعیت بذری، به داده‌های سرعت جوانه‌زنی در مقابل دما در هر تیمار مدل دو تکه‌ای برازش داده شد و دماهای کاردینال جوانه‌زنی برآورد گردید (۱۸):

$$y = \frac{\left(\frac{T - T_b}{T_o - T_b}\right)}{f_o} \rightarrow \text{if } T_b < T < T_o \quad \text{رابطه}$$

$$y = \frac{\left(\frac{1 - (T - T_o)}{T_c - T_o}\right)}{f_o} \rightarrow \text{if } T_o < T < T_c \quad (۳)$$

$$y = 0 \rightarrow \text{if } T \leq T_b \dots \text{or } T \geq T_c$$

که  $f(T)$  تابع دمایی،  $T$  دمای مورد آزمایش،  $T_b$  دمای پایه،  $T_o$  دمای مطلوب،  $T_c$  دمای سقف جوانه‌زنی و  $f_o$  حداکثر سرعت جوانه‌زنی در دمای مطلوب می‌باشد.

که  $W1$  وزن اولیه بذر و  $W2$  وزن بذر پس از دوره‌های مختلف جذب آب می‌باشد.

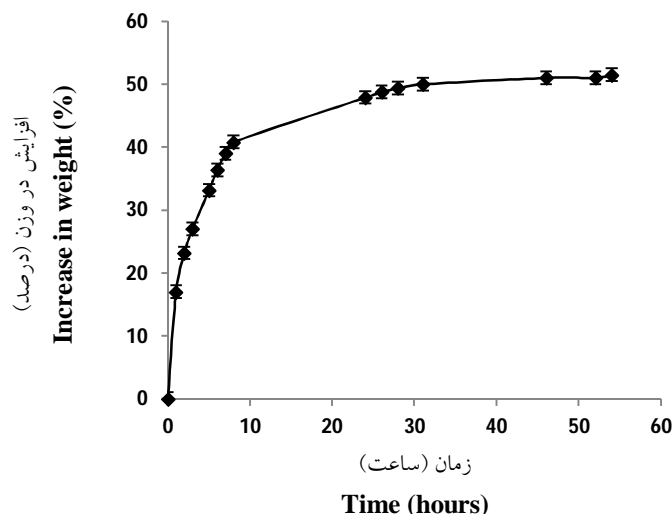
در بخش دوم این آزمایش، اثرات غلظت‌های مختلف جیبرلیک اسید بر جوانه‌زنی بذرهای این گیاه در دماهای مختلف بررسی شد. عوامل شامل دما در هفت سطح (۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵ درجه سانتی‌گراد) و غلظت‌های مختلف جیبرلیک اسید در پنج سطح (صفر، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰، ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام) بودند. آزمون جوانه‌زنی در سه تکرار ۲۰ بذری، درون پتری‌دیش‌هایی با قطر ۶ سانتی‌متر و بر روی یک لایه کاغذ صافی انجام شد. سپس بسته به غلظت جیبرلیک اسید، ۳ میلی‌لیتر جیبرلیک اسید به پتری‌دیش‌ها اضافه شد. در تیمار شاهد نیز از آب مقطر استفاده گردید. لازم به ذکر است به منظور هم‌دمایی آب با دمای محیط جوانه‌زنی، محلول‌های تهیه شده به همراه آب مقطر، ۲۴ ساعت قبل از شروع آزمایش در انکوباتورها و در دماهایی مورد نظر قرار گرفتند. شمارش بذرهای جوانه‌زده، روزانه و در هر روز یک بار در ساعت معین صورت گرفت. بذرهایی به عنوان بذرهای جوانه‌زده در نظر گرفته شدند که طول ریشه‌چه آن‌ها به اندازه دو میلی‌متر یا بیشتر بود (۴۴). پس از هر بار شمارش، بذرهای جوانه زده از محیط پتری‌دیش برداشته شدند. آزمایش تا زمانی ادامه یافت که تا هفت روز متوالی جوانه‌زنی در تیمارهای مختلف مشاهده نشود.

**آزمایش دوم.** این آزمایش بر روی بذرهای ماریتیغال پس‌رس شده صورت گرفت. پس‌رسی بذرها در دمای  $7 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد به مدت پنج ماه صورت گرفت. پس از گذشت پنج ماه پس‌رسی، آزمون جوانه‌زنی انجام شد. این آزمایش نیز همانند آزمایش اول، دارای دو عامل دما و غلظت‌های مختلف جیبرلیک اسید بود و کاملاً مشابه با آزمایش اول انجام گردید.

### نتایج و بحث

الف) تعیین نوع کمون بذره‌های ماریتیغال: بررسی‌های اولیه نشان داد که بذر تازه برداشت شده ماریتیغال نسبت به آب نفوذپذیر بوده و قادر به جذب آب در مرحله آبنوشی هستند (شکل ۱).

تجزیه و تحلیل داده‌ها بر اساس روش تجزیه مرکب بر پایه طرح کاملاً تصادفی و برازش مدل‌های لجستیک و دو تکه‌ای با نرم‌افزار آماری SAS 9 صورت گرفت و رسم نمودارها به کمک نرم‌افزار Excel انجام شد.



شکل ۱- درصد افزایش وزن در بذره‌های ماریتیغال در طی فرآیند آبنوشی.

Figure 1. An increase in the percentage of milk thistle seed weight during imbibition process.

دماها صفر بود (شکل‌های ۲ و ۳). این الگو در بذره‌های پسر رس شده نیز مشاهده شد. بر این اساس می‌توان گفت بذره‌های این گیاه دارای کمون شرطی<sup>۲</sup> نیز نمی‌باشند؛ زیرا بذره‌هایی که کمون شرطی دارند، در شرایط عدم رفع کمون، توانایی جوانه‌زنی در دماهای خاصی را دارند و با رفع کمون، دامنه دمایی جوانه‌زنی آن‌ها افزایش می‌یابد (۴۳).

در ماریتیغال ذخیره بذری از نوع بدون آندوسپرمی بوده و تمام محتویات زیر پوسته بذر، توسط جنین احاطه می‌گردد. بر این اساس می‌توان گفت در زمان رسیدگی بذر، جنین بذره‌های این گیاه در حداکثر مقدار خود هستند. با توجه به اینکه جنین بذره‌های دارای کمون مرفولوژیک، علی‌رغم کامل و تمایز یافته بودن، بسیار کوچک هستند. از این رو رشد

یک راه ساده برای تأیید وجود کمون فیزیکی در بذرها، عدم جذب آب توسط آن‌ها در طی مرحله آبنوشی و در نتیجه عدم افزایش وزن و اندازه بذرهاست. نظر به اینکه بذره‌های ماریتیغال در طی مرحله آبنوشی، آب جذب نموده و وزن آن‌ها افزایش یافته است، می‌توان گفت که بذره‌های این گیاه دارای کمون فیزیکی و ترکیبی<sup>۱</sup> (کمون فیزیکی و فیزیولوژیک) نمی‌باشند (۶). این نتایج با یافته‌های ارائه شده توسط نعمتی و همکاران (۲۰۱۶) و نبئی و همکاران (۲۰۱۴) مغایرت دارد. نامبردگان بیان داشتند که بذره‌های ماریتیغال دارای کمون دوگانه فیزیکی و فیزیولوژیک هستند (۳۳ و ۳۴).

درصد جوانه‌زنی بذره‌های تازه برداشت شده این گیاه، در تیمار شاهد (بدون جیبرلیک اسید) در کلیه

به جوانه‌زنی نیستند، اما با رفع کمون، قادر به جوانه زنی در طیفی از دماها می‌باشند (۴۳). با توجه به این تقسیم‌بندی، احتمال دارد بذره‌های ماریتیغال دارای کمون فیزیولوژیک غیرعمیق از تیپ ششم باشند که برای تعیین دقیق آن نیاز به مطالعات بیشتری می‌باشد. (ب) بررسی پاسخ جوانه‌زنی بذره‌های تازه و پسررس شده ماریتیغال به دما و جیبرلیک اسید: در شکل (۲)، برازش مدل لجستیک به داده‌های درصد جوانه‌زنی مجموعی بذره‌های ماریتیغال تازه برداشت شده و پسررس شده در پاسخ به سطوح مختلف جیبرلیک اسید در دماهای مختلف ارائه شده است. در کلیه تیمارها ضریب تبیین ( $R^2$ ) مدل بالاتر از ۰/۹۵ درصد بود؛ که بیانگر برازش قابل قبول این مدل به داده‌ها می‌باشد.

در شکل ۳ درصد جوانه‌زنی بذره‌های ماریتیغال در پاسخ به تیمارهای دمایی، جیبرلیک اسید و پسررسی نشان داده شده است. همان‌گونه که ملاحظه می‌شود، در بذره‌های تازه برداشت شده با افزایش غلظت جیبرلیک اسید، درصد جوانه‌زنی در کلیه دماها افزایش یافت. نکته قابل توجه این بود که اختلاف بین درصد جوانه‌زنی در جیبرلیک اسید ۵۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام با افزایش دما از ۵ به ۱۰ درجه سانتی‌گراد کاهش و با افزایش دما از ۱۰ به ۳۰ درجه سانتی‌گراد، افزایش یافت؛ به عبارت دیگر بذره‌های تازه برداشت شده ماریتیغال در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد، با حداقل جیبرلیک اسید به حداکثر جوانه‌زنی رسیدند؛ اما با کاهش یا افزایش دما از ۱۰ درجه سانتی‌گراد، جهت رفع کامل کمون و رسیدن به حداکثر جوانه‌زنی، غلظت بیشتری از جیبرلیک اسید مورد نیاز است. همان‌گونه که ذکر گردید حداکثر درصد جوانه‌زنی بذر تازه برداشت شده ماریتیغال در دماهای پایین‌تر و بالاتر از ۱۰ درجه سانتی‌گراد (به جز ۳۰ درجه سانتی‌گراد) در غلظت‌های بالای جیبرلیک اسید (۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام) مشاهده شد (شکل ۳).

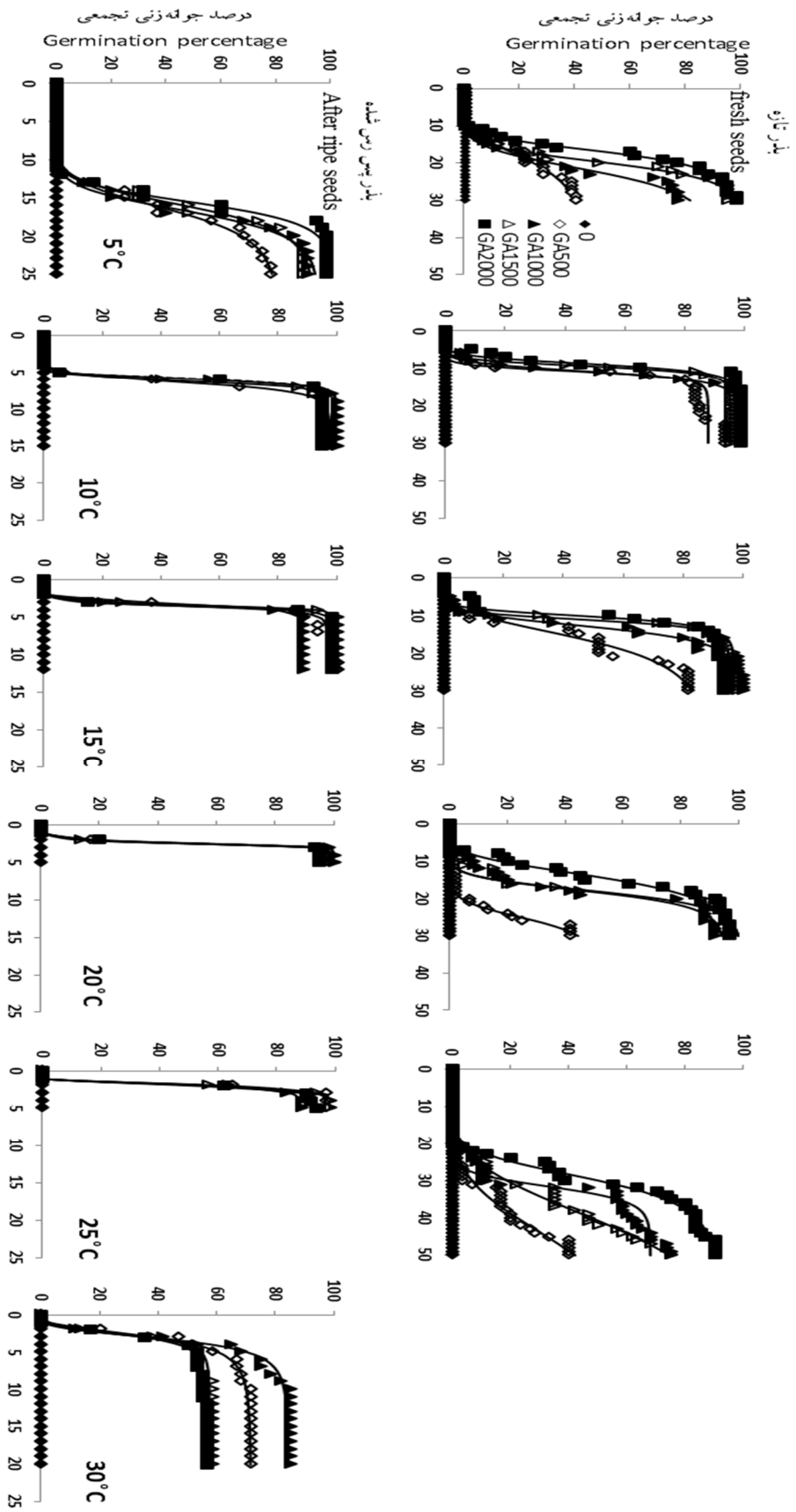
جنین در درون بذر جهت آمادگی برای جوانه‌زنی الزامی است. بر این اساس می‌توان به این نتیجه رسید که بذره‌های این گیاه فاقد کمون مرفولوژیک و مرفوفیزیولوژیک هستند (۴).

استفاده از جیبرلیک اسید تأثیر به‌سزایی در رفع کمون و افزایش درصد جوانه‌زنی این گیاه داشت. این موضوع بیانگر این مطلب است که بذره‌های این گیاه دارای کمون فیزیولوژیک هستند. نظر به اینکه بذرها به جیبرلیک اسید واکنش نشان می‌دهند، می‌توان بر اساس تقسیم‌بندی باسکین-نیکولا (۶)، بیان داشت که بذره‌های این گیاه دارای کمون فیزیولوژیک غیرعمیق<sup>۳</sup> و متوسط<sup>۴</sup> می‌باشند. از آن‌جا که بذره‌های این گیاه به استراتیغیکاسیون پاسخ مثبتی نشان نداد و همچنین نور و همکاران (۲۰۱۴) بیان داشتند که برخی از بذره‌های گونه‌های خانواده کاسنی دارای کمون فیزیولوژیک غیرعمیق هستند، می‌توان بیان داشت که کمون بذره‌های ماریتیغال از نوع کمون فیزیولوژیک غیرعمیق می‌باشد (۳۵).

کمون فیزیولوژیک غیرعمیق دارای شش تیپ می‌باشد. در تیپ اول، بذرها تنها در دمای پایین قادر به جوانه‌زنی هستند و با رفع کمون، دامنه دمایی جوانه زنی افزایش می‌یابد و به عبارت دیگر دمای سقف برای جوانه‌زنی افزایش می‌یابد. در تیپ دوم، بذرها تنها در دمای بالا جوانه می‌زنند و با رفع کمون جوانه زنی بذرها تا دماهای پایین افزایش می‌یابد. در تیپ سوم با رفع کمون جوانه‌زنی بذرها در دمای پایین و بالا افزایش می‌یابد؛ به عبارت دیگر با رفع کمون، دمای پایه و سقف گسترش پیدا می‌کند. در تیپ چهارم و پنجم بذرها در هیچ یک از دماها قادر به جوانه‌زنی نیستند اما با رفع کمون تیپ چهارم تنها در دمای بالا و تیپ پنجم تنها در دمای پایین جوانه می‌زنند. در تیپ ششم، بذرها در هیچ یک از دماها قادر

3. Non-deep physiological dormancy

4. Intermediate physiological dormancy



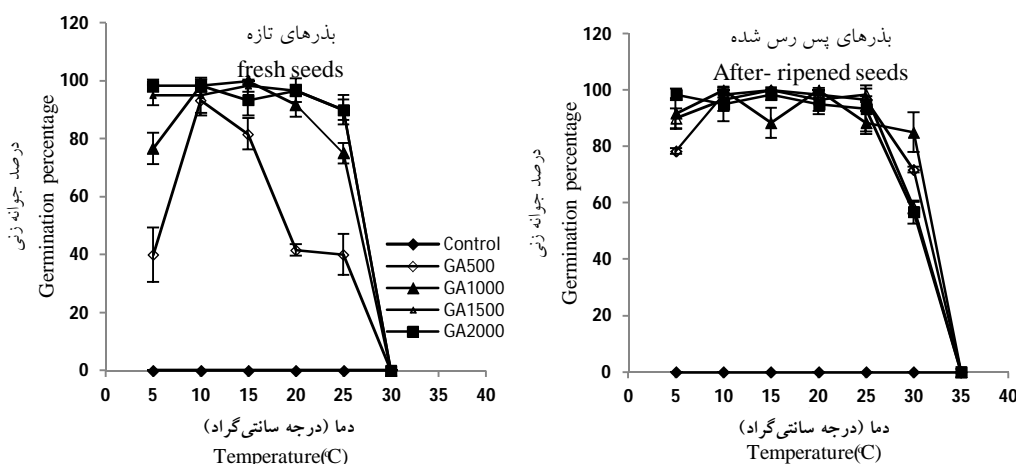
شکل ۲. درصد جوانه زنی تجمعی بذرهایی ماریتینغال تازه و پوس رس شده در دماهای مختلف در پاسخ به سطوح مختلف جیببرلیک اسید.

Figure 2. Cumulative germination percentage of fresh and after-ripened seeds of milk thistle in response to temperature at different levels of gibberellic acid.

که تیمار پسرسی، حساسیت بذرهای ماریتیغال به جیبرلیک اسید را افزایش داد، به نحوی که بذرها توانستند با غلظت‌های پایین جیبرلیک اسید (۵۰۰ پی‌پی‌ام) به حداکثر درصد جوانه‌زنی دست یابند (اختلاف چندانی بین تیمارها وجود نداشت). برخلاف بذرهای تازه برداشت شده، در بذرهای پسر رس شده، کاربرد جیبرلیک اسید بیرونی منجر به جوانه‌زنی بذر ماریتیغال در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد گردید. اگرچه در این دما درصد جوانه‌زنی در غلظت‌های ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام کمتر از ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام بود، این امر بیانگر حساسیت بالای بذرها به جیبرلیک اسید می‌باشد.

به نظر می‌رسد در دماهای پایین‌تر و بالاتر از ۱۰ درجه سانتی‌گراد، حساسیت بذرهای ماریتیغال به جیبرلیک اسید کاهش یافته و بذرها برای رفع کامل کمون خود، به غلظت‌های جیبرلیک اسید بیرونی بیشتری نیاز دارند (۷)، اما این روند در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد مشاهده نشد. در این دما هیچ‌کدام از تیمارهای جیبرلیک اسید، قادر به رفع کمون و ارتقاء جوانه‌زنی نگردید.

پسرسی نیز منجر به رفع کمون و تحریک جوانه‌زنی بذرهای ماریتیغال در هیچ‌کدام از دماها نگردید (شکل ۳)؛ اما مشابه بذرهای تازه برداشت شده، جیبرلیک اسید توانست کمون بذرهای پسر رس شده را به‌طور کامل رفع کند. نکته قابل توجه این بود



شکل ۳- درصد جوانه‌زنی بذرهای تازه و پسر رس شده ماریتیغال در دماهای مختلف در پاسخ به سطوح مختلف جیبرلیک اسید.  
Figure 3. Germination percentage of fresh and after-ripened seeds of milk thistle in response to temperature at different levels of gibberellic acid.

مختلف بیانگر این مطلب است که پسرسی قادر به رفع کمون می‌باشد (۳۷، ۳۱، ۲۱، ۱۱ و ۴۷). اما سازوکار عمل آن هنوز به درستی تعیین نشده است؛ زیرا در طی پسرسی، رطوبت بذر پایین بوده و در نتیجه فعالیت‌های حیاتی بذر نیز پایین می‌باشد. ژیا و همکاران (۲۰۱۸) بیان داشتند که بذرهای تازه برداشت شده آفتابگردان دارای کمون می‌باشند و پسرسی برای دو ماه در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد،

بر این اساس می‌توان گفت پسرسی، باعث افزایش دامنه دمایی جوانه‌زنی این گیاه از طریق پاسخ مثبت به جیبرلیک اسید در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد شده است. به‌طورکلی پسرسی، یکی از روش‌های رفع کمون در بذرهای خشک و با رطوبت پایین (۵-۱۵ درصد) می‌باشد. کارایی پسرسی در رفع کمون بذرها به دما، رطوبت بذر و اکسیژن ارتباط دارد (۲۰). نتایج کارهای انجام شده بر روی بذرهای گیاهان



اول، علی‌رغم آبنوشی بذرهای در دمای بالا، جوانه‌زنی رخ نمی‌دهد؛ اما زمانی که این بذرهای به دمای مطلوب منتقل شوند، جوانه‌زنی انجام می‌شود. در مقایسه باحالت اول، کمون ناشی از دمای بالا حالتی از کمون ثانویه می‌باشد که اگر بذرهای در زمان آبنوشی در معرض دمای بالا قرار گیرند و سپس به دمای مطلوب منتقل شوند، قادر به جوانه‌زنی نمی‌باشند و برای جوانه‌زنی نیاز به تیمارهای رفع کمون از قبیل کاربرد اسید جیبرلیک و یا استراتیفیکاسیون سرد دارند (۳ و ۲۵). این نتایج نشان‌دهنده این مطلب است که عدم جوانه‌زنی بذرهای در این دماها به دلیل القاء کمون ناشی از قرارگیری بذرهای در معرض دماهای بالا نیست. از این رو می‌توان گفت که جیبرلیک اسید قادر به رفع کمون اولیه بذرهای ماریتیغال گردید، اما دمای بالا باعث عدم جوانه‌زنی بذرهای به دلیل بازدارندگی دمایی شد.

زمان تا شروع جوانه‌زنی نیز همانند درصد جوانه‌زنی تحت تأثیر تیمارهای جیبرلیک اسید و پس-رسی قرار گرفت (شکل ۴). در بذرهای تازه برداشت شده، شروع جوانه‌زنی در بذرهای تیمار شده با جیبرلیک اسید در مقایسه با بذرهای پسر رس شده در کلیه دماها (به استثنای دمای ۵ درجه سانتی‌گراد) با تأخیر صورت گرفت. این تأخیر در شروع جوانه‌زنی در دماهای ۲۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد بسیار مشهود بود. در این دو دما، شروع جوانه‌زنی در تیمار جیبرلیک اسید ۵۰۰ پی‌پی‌ام در مقایسه با سایر تیمارها با تأخیر بیشتری صورت گرفت؛ اما در بذرهای پس-رس شده، بین غلظت‌های مختلف جیبرلیک اسید، در کلیه دماها اختلافی وجود نداشت. از این رو می‌توان گفت پس‌رسی اولاً باعث کاهش زمان تا شروع جوانه‌زنی در کلیه دماها گردیده است. ثانیاً نقش جیبرلیک اسید را در کاهش زمان تا شروع جوانه‌زنی، کم‌رنگ نموده است. در واقع تأخیر در جوانه‌زنی نیز،

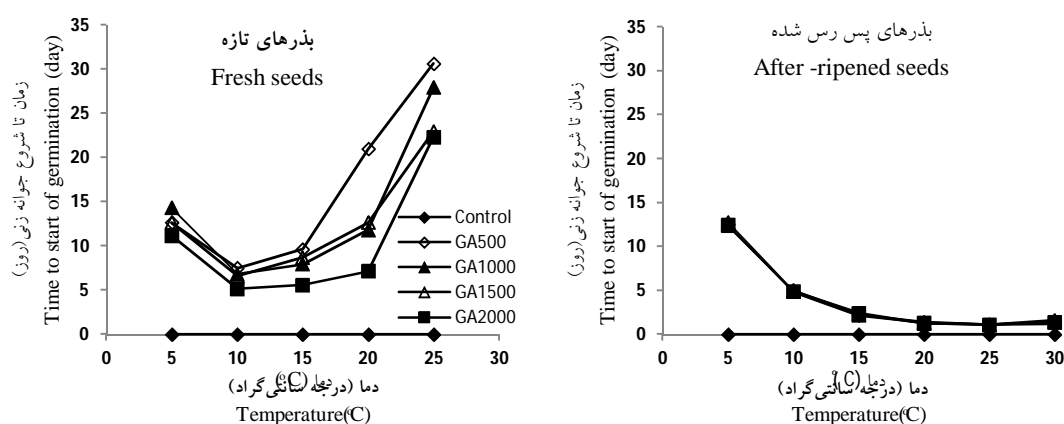
باعث افزایش درصد جوانه‌زنی این بذرهای تا ۱۰۰ درصد می‌گردد (۴۶). در مطالعه‌ای که ایجلسیا-فرناندز و ماتیلدا (۲۰۰۹) بر روی بذرهای خاکشیر طبی (*Sisymbrium officinale*) انجام دادند، بیان داشتند که پس‌رسی علاوه بر اینکه باعث افزایش جوانه‌زنی بذرهای این گیاه می‌گردد؛ سبب افزایش حساسیت بذرهای به جیبرلیک اسید نیز می‌گردد (۳۰). کوربینو و کوم (۱۹۹۰) بیان داشتند که پس‌رسی علاوه بر افزایش درصد جوانه‌زنی آفتابگردان، باعث افزایش دامنه دمایی جوانه‌زنی آن نیز می‌گردد (۹). این نتایج با یافته‌های تحقیق حاضر هم‌خوانی داشت. در این تحقیق پس‌رسی نه تنها باعث افزایش درصد جوانه‌زنی بذرهای ماریتیغال تیمار شده با جیبرلیک اسید گردید، بلکه باعث افزایش دامنه دمایی جوانه‌زنی بذرهای آن نیز شد. در ادامه کار جهت بررسی علت عدم جوانه‌زنی بذرهای تحت شرایط دمای ۳۰ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد (بذرهای تازه برداشت شده و پسر رس شده)، بذرهای جوانه نزنه در این دماها، به دمای مطلوب منتقل و درصد جوانه‌زنی آن‌ها ثبت شد. نتایج نشان داد که تمامی بذرهای تیمار شده با جیبرلیک اسید پس از انتقال از دمای بالا به دمای مطلوب، قادر به جوانه‌زنی بودند (نتایج ارائه نشد). گزارش‌ها حاکی از آن است که زمانی که بذرهای برخی از گیاهان از قبیل کاهو، آفتابگردان، گوجه‌فرنگی، نخود، آرابیدوپسیس و یولاف وحشی در زمان آبنوشی در معرض دمای بالا قرار می‌گیرند، کمون به آن‌ها القا می‌گردد و از این رو، این بذرهای قادر به جوانه‌زنی نمی‌باشند (۱۰، ۱۳، ۱۶، ۱۷ و ۴۵).

برای این تیپ رفتار جوانه‌زنی در دمای بالا، واژه‌های بازدارندگی جوانه‌زنی ناشی از دمای بالا<sup>۵</sup> و کمون ناشی از دمای بالا<sup>۶</sup> استفاده می‌شود. در حالت

5. Thermo-inhibition  
6. Thermo- dormancy

با افزایش دوره پرسی زمان تا شروع جوانه‌زنی کاهش می‌یابد و این کاهش زمان تا شروع جوانه‌زنی با افزایش حساسیت به جیبرلیک همراه بود (۲۳).

با سطح کمون بذر ارتباط دارد و اگر تیمارهای شکستن کمون، باعث کاهش زمان تا شروع جوانه‌زنی گردند، می‌توان استنباط نمود که درجه کمون بذر کاهش یافته است (۷). در مطالعه‌ای که گراپین و همکاران (۲۰۰۰) بر روی بذرهای *Nicotiana*

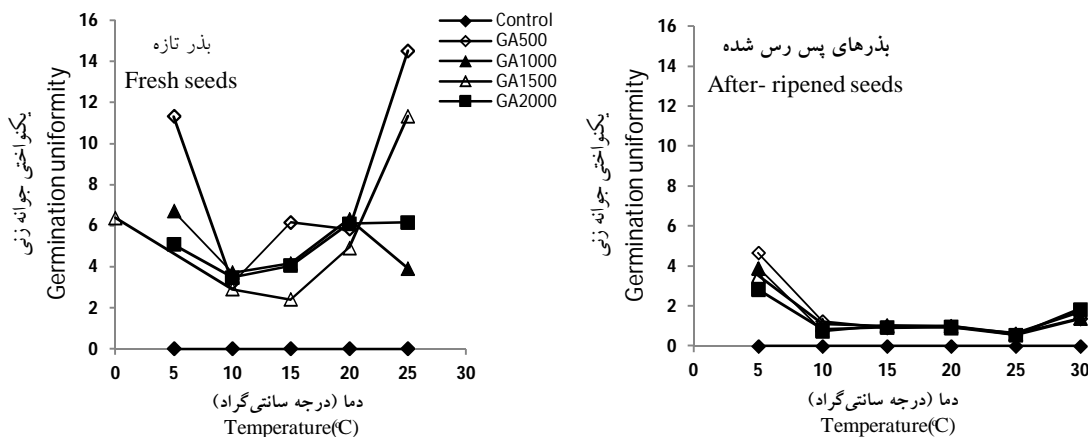


شکل ۴- مدت زمان تا شروع جوانه‌زنی بذرهای تازه و پس‌رس شده ماریتیغال در دماهای مختلف در پاسخ به سطوح مختلف جیبرلیک اسید.

Figure 4. Time to start of germination of fresh and after-ripened seeds of milk thistle in response to temperature at different levels of gibberellic acid.

بود. در بذرهای پس‌رس شده الگوی یکنواختی جوانه‌زنی متفاوت از بذرهای تازه برداشت شده بود (شکل ۵). همان‌طور که مشاهده می‌شود در بذرهای پس‌رس شده، یکنواختی جوانه‌زنی تحت تأثیر دما و سطوح جیبرلیک اسید قرار نگرفت. در این دسته از بذرها، یکنواختی جوانه‌زنی در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد بین سطح مختلف جیبرلیک اسید بین ۳ الی ۴/۵ روز متغیر بود و در سایر دماها یکنواختی جوانه‌زنی در حدود یک روز بود؛ به عبارت دیگر پرسی نه‌تنها باعث یکنواختی جوانه‌زنی در سطوح مختلف جیبرلیک اسید می‌گردد؛ بلکه باعث افزایش یکنواختی جوانه‌زنی در دماهای مختلف و در سطوح مختلف جیبرلیک اسید خواهد شد. در تأیید نتایج این تحقیق، کروز و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که پرسی باعث افزایش یکنواختی جوانه‌زنی بذرهای *Physaria fendleri* گردید (۱۱).

یکنواختی جوانه‌زنی نیز تحت تأثیر دما، جیبرلیک اسید و تیمار پرسی قرار گرفت (شکل ۵). در بذرهای تازه برداشت شده، بین سطوح مختلف جیبرلیک اسید از لحاظ یکنواختی جوانه‌زنی در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد اختلافی وجود نداشت؛ اما با افزایش یا کاهش دما از ۱۰ درجه سانتی‌گراد، اختلاف یکنواختی جوانه‌زنی بین سطوح مختلف جیبرلیک اسید معنی‌دار بود. در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد، یکنواختی جوانه‌زنی در کلیه سطوح جیبرلیک اسید نزدیک به سه روز بود؛ در حالی که در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد در جیبرلیک اسید ۵۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام به ترتیب ۱۲ و ۵ روز و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۲۵ و ۶ روز افزایش یافت. در دماهای بالا و پایین، یکنواختی جوانه‌زنی در غلظت پایین جیبرلیک اسید پایین بود و برای افزایش یکنواختی جوانه‌زنی در این دماها، به غلظت‌های بالاتری از جیبرلیک اسید نیاز

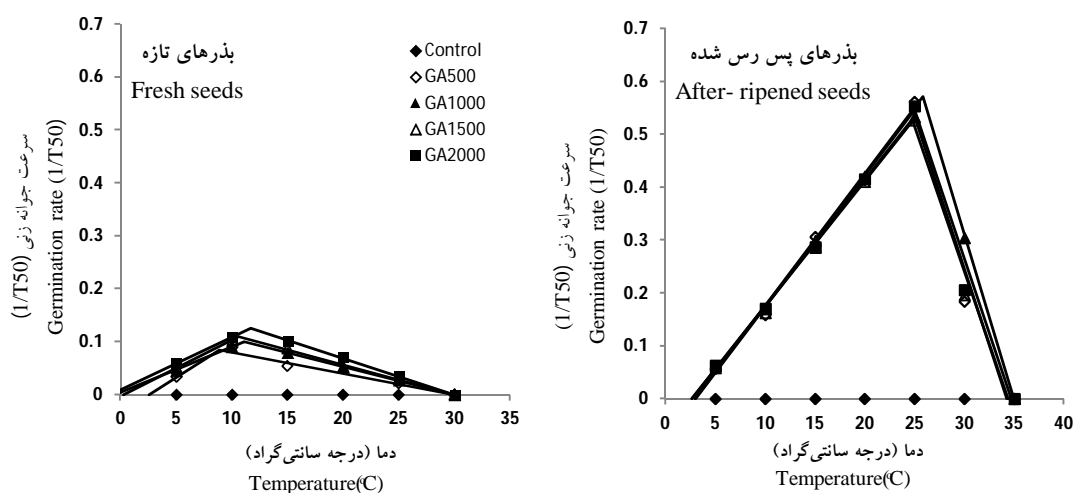


شکل ۵- یکنواختی جوانه‌زنی بذرهای تازه و پسر رس شده ماریتیغال در دماهای مختلف در پاسخ به سطوح مختلف جیبرلیک اسید.

Figure 5. Germination uniformity of fresh and after-ripened seeds of milk thistle in response to temperature at different levels of gibberellic acid.

پسر رس شده در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد اتفاق افتاد. از این رو می‌توان بیان داشت که پسررسی از طریق کاهش درجه کمون، باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی در بذرهای ماریتیغال تیمار شده با جیبرلیک اسید گردیده است. در مطالعه‌ای بر روی بذرهای *Bromus tectorum* L. مشاهده شد که پسررسی باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی بذرهای این گیاه در مقایسه با بذرهای تازه برداشت شده گردید (۲).

در شکل (۶) واکنش سرعت جوانه‌زنی بذرهای تازه برداشت شده و پسر رس شده ماریتیغال در پاسخ به دما در غلظت‌های مختلف جیبرلیک اسید ارائه شده است. اولین نکته قابل توجه در این شکل این است که سرعت جوانه‌زنی در بذرهای پسر رس شده در حدود ۵ برابر نسبت به بذرهای تازه برداشت شده می‌باشد. نکته دوم اینکه، در بذرهای تازه برداشت شده حداکثر سرعت جوانه‌زنی در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد رخ داد، در حالی که حداکثر سرعت جوانه‌زنی در بذرهای



شکل ۶- کمی سازی واکنش سرعت جوانه‌زنی بذرهای تازه و پسر رس شده ماریتیغال به دما سطوح مختلف جیبرلیک اسید.

Figure 6. Quantifying of germination rate of fresh and after-ripened seeds of milk thistle in response to temperature at different levels of gibberellic acid

سانتی‌گراد برآورد گردید. نکته قابل توجه این است که پس‌رسی باعث تغییر دمای مطلوب و دمای سقف نسبت به بذره‌های تازه برداشت شده گردید. همان‌طور که بیان شد دمای مطلوب در بذره‌های تازه برداشت شده بین ۸/۸۸ الی ۱۱/۷۴ درجه سانتی‌گراد بود، اما در بذره‌های پس‌رس شده بین ۲۵ الی ۲۵/۸۷ درجه سانتی‌گراد بود. همچنین دمای سقف در بذره‌های تازه برداشت شده ۳۰ درجه سانتی‌گراد بود، در حالی که برای بذره‌های پس‌رس شده نزدیک ۳۵ درجه سانتی‌گراد بود. این بیان‌گر این مطلب است که پس‌رسی باعث افزایش دامنه دمایی جوانه‌زنی بذره‌های ماریتیغال تیمار شده با جیبرلیک اسید از طریق هم افزایش درصد و هم افزایش سرعت جوانه‌زنی می‌گردد. در مطالعه‌ای که چانتره و همکاران (۲۰۰۹) بر روی بذره‌های *Lithospermum arvense* انجام دادند بیان داشتند که پس‌رسی علاوه بر اینکه باعث افزایش درصد جوانه‌زنی در دماهای مختلف می‌گردد، همچنین باعث افزایش دمای مطلوب و دمای سقف جوانه‌زنی نسبت به بذره‌های تازه برداشت شده این گیاه می‌گردد (۸).

در جدول (۱) دماهای کاردینال جوانه‌زنی بذره‌های تازه برداشت شده و پس‌رس شده ماریتیغال در سطوح مختلف جیبرلیک اسید ارائه شده است. در بذره‌های تازه برداشت شده و پس‌رس شده، با افزایش غلظت جیبرلیک اسید، دمای پایه جوانه‌زنی کاهش یافت؛ اما این کاهش در بذره‌های تازه برداشت شده بیشتر بود. به طوری که دمای پایه در بذره‌های تازه برداشت شده و پس‌رس شده در جیبرلیک اسید ۵۰۰ پی‌پی‌ام به ترتیب ۲/۵۷ و ۳/۰۳ درجه سانتی‌گراد بود که با افزایش غلظت جیبرلیک اسید به ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام، به ترتیب به ۰/۹۳- و ۲/۶۳ درجه سانتی‌گراد کاهش یافت. دمای مطلوب جوانه‌زنی برای بذره‌های تازه برداشت شده در سطوح مختلف جیبرلیک اسید بین ۸/۸۸ الی ۱۱/۷۴ درجه سانتی‌گراد بود، در حالی که دمای مطلوب جوانه‌زنی بذره‌های پس‌رس شده در سطوح مختلف جوانه‌زنی بین ۲۵ الی ۲۵/۸۷ درجه سانتی‌گراد متغیر بود؛ اما از لحاظ دمای سقف جوانه‌زنی بین سطوح مختلف جیبرلیک اسید در بذره‌های تازه برداشت شده و پس‌رس شده اختلافی وجود نداشت و دمای سقف برای بذره‌های تازه برداشت شده و پس‌رس شده به ترتیب ۳۰ و ۳۵ درجه

جدول ۱- دمای کاردینال بذره‌های تازه و پس‌رس شده ماریتیغال در سطوح مختلف جیبرلیک اسید.

Table 1. Cardinal temperature of fresh and after ripe seeds of milk thistle at different levels of gibberellic acid.

جیبرلیک اسید (پی‌پی‌ام) Gibberellic acid(ppm)	دمای پایه (درجه سانتی‌گراد) Base temperature(°C)		دمای مطلوب (درجه سانتی‌گراد) Optimum temperature (°C)		دمای سقف (درجه سانتی‌گراد) Ceiling temperature(°C)	
	بذر تازه Fresh seed	بذر پس رس After- ripened seed	بذر تازه Fresh seed	بذر پس رس After- ripened seed	بذر تازه Fresh seed	بذر پس رس After- ripened seed
0	-	-	-	-	-	-
500	2.57±1.38	3.028±1.25	8.88±—	25.0±1.2	30	34.76±1.04
1000	-0.52±0.77	2.94±0.82	11.12±0.27	25.87±0.65	30	35.0±0.64
1500	0.26±0.68	2.64±0.95	10.62±0.31	24.86±0.44	30	34.44±0.52
2000	-0.93±1.05	2.63±0.71	11.74±0.42	25.0±0.64	30	34.30±0.49

### نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی نتایج این تحقیق را می‌توان به صورت زیر بیان داشت:

- (۱) بذره‌های تازه برداشت شده و پسر رس شده ماریتیغال به دلیل وجود کمون قادر به جوانه‌زنی نبودند و جوانه‌زنی تنها با کاربرد جیبرلیک اسید افزایش یافت.
- (۲) پسرسی قادر به رفع کمون بذره‌های این گیاه نگردد اما حساسیت بذره‌های این گیاه را به جیبرلیک اسید افزایش داد.
- (۳) پسرسی باعث افزایش درصد، سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی و همچنین زمان تا شروع جوانه‌زنی بذرها در مقایسه با بذره‌های تازه گردید.

(۴) دماهای پایه بذره‌های تازه و پسر رس شده این گیاه تفاوت چندانی نداشتند، اما از لحاظ دمای مطلوب و دمای سقف جوانه‌زنی، بین بذره‌های تازه و پسر رس شده اختلاف معنی‌داری وجود داشت و بذره‌های پسر رس شده در مقایسه با بذره‌های تازه برداشت شده، دارای دمای مطلوب و سقف جوانه‌زنی بالاتری داشتند.

(۵) بذره‌های گیاه دارویی ماریتیغال دارای کمون فیزیولوژیک غیر عمیق می‌باشند.

(۶) به محققان توصیه می‌شود که قبل از کار با بذره‌های این گیاه از وجود کمون در بذرها اطلاع داشته باشند و در صورت وجود کمون، از تیمار جیبرلیک اسید برای شکستن کمون بذرها با توجه به درجه پسرسی استفاده شود.

### منابع

1. Akbarzadeh, M. 2003. Medicinal plants of Labiatae family in the summer rangelands of Vaz region in Mazandaran province. Iran J. Med. Arom, Plant., 19(1): 38-45. (In Persian)
2. Allen, P.S., Meyer, S.E., and Beckstead, J. 1995. Patterns of seed after-ripening in *Bromus tectorum* L. J. Exp. Bot., 46(11): 1737-1744.
3. Argyris, J., Dahal, P., Hayashi, E., Still, D.W., and Bradford, K. J. 2008. Genetic variation for lettuce seed thermoinhibition is associated with temperature-sensitive expression of abscisic acid, gibberellin, and ethylene biosynthesis. Metabolism, and response genes. Plant Physiol., 148(2): 926-947.
4. Baskin, J.M., and Baskin, C.C. 2004. A classification system for seed dormancy. Seed Sci. Res., 14(1):1-16.
5. Baskin, J.M., Baskin, C.C., and Dixon, K.W. 2006. Physical dormancy in the endemic Australian genus *Stylobasium*, a first report for the family *Surianaceae* (Fabales). Seed Sci. Res., 16(3): 229-232.
6. Baskin, C.C., and Baskin, J.M. 2014. Seeds ecology. Biogeography, and evolution of dormancy and germination. Second edition. San Diego. CA: Academic Press.
7. Bewley, J.D., Bradford, K.J., Hilhorst, H.W.M., and Nonogaki, H. 2013. Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy. Third Edition. Springer., NewYork Heidelberg Dordrecht London. 392 pp.
8. Chantre, G.R., Batlla, D., Sabbatini, M.R., and Orioli, G. 2009. Germination parameterization and development of an after-ripening thermal-time model for primary dormancy release of *Lithospermum arvense* seeds. Ann. Bot., 103(8): 1291-1301.
9. Corbineau, F., Bagniol, S., and Côme, D. 1990. Sunflower (*Helianthus annuus* L.) seed dormancy and its regulation by ethylene. Is. J. Bot., 39(4-6): 313-325.
10. Corbineau, F., Rudnicki, R.M., and Côme, D. 1988. Induction of secondary dormancy in sunflower seeds by high temperature. Possible involvement of ethylene biosynthesis. Physiol. Plant., 73(3): 368-373.
11. Cruz, V.M.V., Walters, C., and Dierig, D.A. 2013. Dormancy and after-ripening response of seeds from natural populations and conserved *Physaria* germplasm and their association with environmental and

- plant parameters. *Indust Crop. Prod.*, 45: 191-99.
12. De Castro, R.D., and Hilhorst, H.W. 2000. Dormancy, germination and the cell cycle in developing and imbibing tomato seeds. *Bra. J. Plant Physiol.*, 12: 105.e136.
  13. Dutta, S., and Bradford, K.J. 1994. Water relations of lettuce seed thermoinhibition. II. Ethylene and endosperm effects on base water potential. *Seed Sci. Res.*, 4(1): 11-18.
  14. Ebdali Mashhadi, A., and Fathi, GH. 2003. Effect of different density Levels on yield and seed oil level of *Silybum Marianum* medicinal plant in Ahwaz weather conditions. *Agron. J. (Pajouhesh & Sazandegi)*, 54: 28-33. (In Persian)
  15. Finch-Savage, W.E., and Leubner-Metzger, G. 2006. Seed dormancy and the control of germination. *New Phytol.*, 171(3): 501-523.
  16. Gallardo, M., De Rueda, P.M., Matilla, A., and Sánchez-Calle, I.M. 1994. The relationships between ethylene production and germination of *Cicer arietinum* seeds. *Biol Plant.*, 36(2): 201.
  17. Geshnizjani, N., Ghaderi-Far, F., Willems, L.A., Hilhorst, H.W., and Ligterink, W. 2018. Characterization of and genetic variation for tomato seed thermo-inhibition and thermo-dormancy. *BMC Plant Biol.*, 18(1): 229.
  18. Ghaderifar, F.A., Soltani, A., and Sadeghipour, H.R. 2008. Cardinal temperatures of germination in medicinal Pumpkin (*Cucurbita pepo* convar. *Pepo* var. *styriaca*). *Borago (Borago officinalis L.)* and Black cumin (*Nigella sativa L.*). *Asian J. Plant Sci.*, 7: 574-578.
  19. Ghaderi-Far, F., Alimaghani, S.M., Kameli, A.M., and Jamali, M. 2012. Isabgol (*Plantago ovata* Forsk) seed germination and emergence as affected by environmental factors and planting depth. *Inter J. Plant Prod.*, 6: 185-194.
  20. Ghaderi-Far, F., and Soltani, A. 2018. *Seed Testing and Control*. Fourth edition. Jahad Daneshgahi Mashhad Press. (In Persian)
  21. Gubler, F., Hughes, T., Waterhouse, P., and Jacobsen, J. 2008. Regulation of dormancy in barley by blue light and after-ripening: effects on abscisic acid and gibberellin metabolism. *Plant Physiol.*, 147(2): 886-896.
  22. Gupta, V. 2003. Seed germination and dormancy breaking techniques for indigenous medicinal and aromatic plants. *J. Med. Arom. Plant Sci.*, 25: 402-407.
  23. Grappin, P., Bouinot, D., Sotta, B., Miginiac, E., and Jullien, M. 2000. Control of seed dormancy in *Nicotiana plumbaginifolia*: post-imbibition abscisic acid synthesis imposes dormancy maintenance. *Planta*, 210(2): 279-285.
  24. Hilhorst, H.W., Finch-Savage, W.E., Buitink, J., Bolingue, W., and Leubner-Metzger, G. 2010. Dormancy in plant seeds. In *Dormancy and Resistance in Harsh Environments* (pp.43-67). Springer. Berlin. Heidelberg.
  25. Hills, P.N., Van Staden, J., and Thomas, T.H. 2003. Thermoinhibition of seed germination. *South Afr. J. Bot.*, 69(4): 455-461.
  26. Joosen, R.V., Kodde, J., Willems, L.A., Ligterink, W., Van der Plas, L.H., and Hilhorst, H.W. 2010. Germinator: A software package for high-throughput scoring and curve fitting of Arabidopsis seed germination. *The Plant J.*, 62(1): 148-159.
  27. Kendall, S.L., Hellwege, A., Marriot, P., Whalley, C., Graham, I.A., and Penfield, S. 2011. Induction of dormancy in *Arabidopsis* summer annuals requires parallel regulation of DOG1 and hormone metabolism by low temperature and CBF transcription factors. *The Plant Cell.*, 23(7): 2568-2580.
  28. Khosarvi pour, B., Syahpoush, A.R., and Mehmadi Karbalaii, Z. 2015. Importance of cultivation of medicinal plants and their production in agriculture. The first national conference on medicinal herbs and herbal medicines. Tehran. Center for Sustainable Development Science and Technology of Farzin. (In Persian)
  29. Křen, V., Ulrichová, J., Kosina, P., Stevenson, D., Sedmera, P., Prikrylová, V., and Halada, P. 2000. Chemoenzymatic preparation of *silybin*  $\beta$ -glucuronides and their biological evaluation. *Drug Metab Dispos.*, 28(12): 1513-1517.
  30. Iglesias-Fernández, R., and Matilla, A. 2009. After-ripening alters the gene expression pattern of oxidases involved in

- the ethylene and gibberellin pathways during early imbibition of *Sisymbrium officinale* L. seeds. J. Exp. Bot., 60(6): 1645-1661.
31. Li, Y.J., Cheng, H.Y., and Song, S.Q. 2009. Effects of temperature, after-ripening, stratification, and scarification plus hormone treatments on dormancy release and germination of *Acer truncatum* seeds. Seed Sci. Technol., 37(3): 554-562.
  32. Morazzoni, P., and Bombardelli, E. 1995. *Silybum marianum* (*Carduus marianus*). Fitoterapia. 66(1): 3-42.
  33. Nabaee, M., Roshandel, P., and Mohamad Khani, A. 2014. Effects of various chemical and non-chemical treatments to break seed dormancy in *Silybum marianum* L. Gaertner. Agron. J. (Pajouhesh & Sazandegi), 27(103): 48-54. (In Persian)
  34. Nemati, A., Sharifi, H., Gerdakaneh, M., and Sharifi, Z. 2016. The Effect of Pre-Chilling and Gibberellic Acid on Breaking Seed Dormancy of Two Medicinal Plants Species *Silybum Mrianum* and *Citrulus Colocynthis*. Iran J. Seed Res., 3(1): 169-177. (In Persian)
  35. Nur, M., Baskin, C.C., Lu, J.J., Tan, D.Y., and Baskin, J.M. 2014. A new type of non-deep physiological dormancy: evidence from three annual Asteraceae species in the cold deserts of Central Asia. Seed Sci. Res., 24(4): 301-314.
  36. Omid Beigi. 2012. Production and Processing of Medicinal Plants. First Edition. Astan Quds Razavi Publishing. 347 pages. (In Persian).
  37. Parmon, Gh., Ebadi, A., and Tavakkoli, H. 2014. Effect of after-ripening and some characteristics of mother plant on germination and seed vigor of Milk thistle (*Silybum marianum*). Seed Sci., 4(2): 51-60. (In Persian).
  38. Rodriguez, M.V., Barrero, J.M., Corbineau, F., and Gubler, F. 2015. Dormancy in cereals (not too much, not so little): about the mechanisms behind this trait. Seed Sci. Res., 25: 99-119.
  39. Serry, F.S., Ghamari-Zare, A., Shahrzaad, Sh., NaderiShahab, M.A., and Kalate-jary, S. 2012. Effect of physic-chemical treatments on seed germination of *Salvia leriifolia* Benth. Med. Arom. Plant., 34(6): 881-887. (In Persian).
  40. Schönfeld, J.V., Weisbrod, B., and Müller, M.K. 1997. Silibinin, a plant extract with antioxidant and membrane stabilizing properties, protects exocrine pancreas from cyclosporin A toxicity. Cell. Mol. Life Sci. CMLS., 53(11-12): 917-920.
  41. Sharifi, H. 2013. Study of dormancy and germination characteristics in seed of thirty medicinal plants of Lorestan province. Master's Thesis. Mashhad Ferdowsi University. (In Persian).
  42. Sindel, B.M. 1991. A review of the ecology and control of thistles in Australia. Weed Res., 31(4): 189-201.
  43. Soltani, E., Ghaderi-Far, F., Baskin, C.C., and Baskin, J.M. 2015. Problems with using mean germination time to calculate rate of seed germination. Aust. J. Bot., 63: 631-635.
  44. Soltani, E., Baskin, C.C., and Baskin, J.M. 2017. A graphical method for identifying the six types of non-deep physiological dormancy in seeds. Plant Biol., 19(5): 673-682.
  45. Soltani, A., Zeinali, E., Galeshi, S., and Latifi, N. 2001. Genetic variation for and interrelationships among seed vigor traits in wheat from the Caspian Sea Coast of Iran. Seed Sci. Technol., 29: 653-662.
  46. Toh, S., Imamura, A., Watanabe, A., Nakabayashi, K., Okamoto, M., Jikumaru, Y., and Tamura, N., 2008. High temperature-induced abscisic acid biosynthesis and its role in the inhibition of gibberellin action in Arabidopsis seeds. Plant Physiol., 146(3): 1368-1385.
  47. Venkataramanan, R., Ramachandran, V., Komoroski, B.J., Zhang, S., Schiff, P.L., and Strom, S.C. 2000. Milk thistle, a herbal supplement, decreases the activity of CYP3A4 and uridine diphosphoglucuronosyl transferees in human hepatocyte cultures. Drug. Metab. Dispos., 28(11): 1270-1273.
  48. Xia, Q., Saux, M., Ponnaiah, M., Gilard, F., Perreau, F., Hugué, S., Balzergue, S., Langlade, N., Bailly, C., Meimoun, P., Corbineau, F., and El-Maarouf-Bouteau, H. 2018. One way to achieve germination: common molecular mechanism induced by ethylene and after-ripening in sunflower seeds. Inter. J. Mol. Sci., 19(8): 24-64.

