Germination study and micromorphological of three populations of *Allium hirtifolium*, using scanning electron microscopy (SEM)

Introduction

Medicinal plants with a high level of antioxidant activity are of great importance due to their effect on a wide range of diseases such as diabetes, inflammatory diseases, Parkinson's, Alzheimer's, cardiovascular diseases, blood pressure and other diseases caused by oxidative stress. Therefore, studying medicinal plants and extracting and identifying chemical properties and effective compounds in medicinal plants emphasizes the necessity of learning and using medicinal plants. Persianshallot plant with the scientific name *Allium hirtifolium* is a species of the onion family (Alliaceae) and is one of the largest genera of the monocot group. Shallot plant is an important horticultural product that has been known and used as a vegetable, spice and medicinal plant since ancient times due to its useful properties. In this genus, there are economically important species such as: onions, garlic, shallots, chives and leeks. Germination and sprouting are one of the most important phenological stages (life cycle) of the plant. Having enough information about the phenological cycle of the plant leads to better management of the different stages of this cycle, which determines the degree of success of agricultural systems. Seedling germination and growth in the early stages are strongly influenced and controlled by environmental factors, especially temperature, soil moisture and seed quality (germination and seedling strength) and internal factors (growth regulators) such as Gibberellin and Abscisic acid hormones.

In order to speed up the germination of seeds and eliminate seed dormancy so that germination can happen faster, there are different methods. One of these methods is mechanical or chemical scratching. This research aims to present a precise and scientific description of the failure of Persianshallot seed dormancy (*A. hirtifolium*) and improvement in the acceleration of germination, considering the different characteristics in three varieties of Persianshallot seeds. Also, to increase the quality and accuracy in this research, a scanning electron microscope was used to accurately determine the surface changes of the seeds before the acid-washing treatment with sulfuric acid and after the acid-washing treatment with sulfuric acid. In the previous research that has been carried out on Iranian shallot seeds, the simultaneous examination of different temperatures and times of acid washing by sulfuric acid in a precise manner and with several populations that have different genotypes, as well as the use of Scanning Electron Microscopy (SEM) has not been done.

Materials and Methods

The study was done to investigate the effect of different degrees of temperature, and different times of sulfuric acid for acid washing on the improvement of germination of three populations of Persianshallot seeds (*Allium hirtifolium*). The effect of four different temperatures (5, 10, 15 and 20C˚) inside the germinator device and four different times of acid washing with sulfuric acid (0, 5, 10, 15 minutes) on germination and micromorphological characteristics of three populations of shallot (Feridon Shahr, Tiran and Khansar) was investigated. On the other hand, a Scanning Electron Microscope (SEM) with different degrees of magnification was used for the effect of sulfuric acid treatment on the surface of seed coat. The experiment was conducted as a factorial, in the form of a completely randomized design with four replications. At the end of the experiment, traits such as germination percentage, average germination time, germination speed, root length and shoot length were evaluated. Also, traits such as diameter, length, volume and weight of seeds in three varieties of shallot were also analyzed statistically.

Conclusion and Discussion

The results of electron microscopy showed that in all three populations of Persianshallot seeds, the seed coat, after using the acid washing treatment with sulfuric acid for 15 minutes, underwent noticeable and significant changes compared to the control seeds. The surface of the seed is destroyed by sulfuric acid and the surface of the seed does not have its natural ornamentation and protrusions compared to the control. Also, the effect of temperature, duration of acid washing and seed population on germination percentage, germination speed, average germination duration, seedling root length and seedling length was significant at the 1% probability level ($p \leq 0.01$). The population of Fereydoun Shahr has the highest germination percentage (69.16%), germination speed 3.7 (number of seeds per day) and average duration of germination 9.64 (number of seeds per day) at a temperature of 5 ˚C and acid washing time of 15 minutes. The maximum shoot length and root length were 19.7 and 8.81 (mm) in the Tiran population with a temperature of 20 C˚ and a 15-minute acid washing time, and in the Khansar population with a temperature of 20 C˚ and time of 5 minutes acid washing, respectively. The results showed that, according to the dormancy of the seeds and their need for cold, the best temperature for shallot seed germination is 5 degrees Celsius with 15 minutes of acid washing by sulfuric acid. Diversity in shallot plant populations has a significant effect on the performance of this plant in improving seed germination.

Keywords: shallot diversity (seed morphology), cold layering, seed scarification, germination, scanning electron microscope (SEM)

بررسی خصوصیات جوانه‌زنی و میکرومورفولوژی با استفاده از میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) سه جمعیت گیاه دارویی موسیر ایرانی (*Allium hirtifolium*)

۱- هدی ساجدی مهر (کارشناسی ارشد. دانشگاه فردوسی مشهد)

۲- محیا ساجدی مهر (کارشناسی ارشد. دانشگاه صنعتی اصفهان)

۳- دکتر مجید عزیزی (نویسنده مسئول) (دکترای تخصصی. دانشگاه فردوسی مشهد)

نسخه پیش انتشار

چکیده

گیاهان دارویی با سطح بالایی از فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، به دلیل تأثیر بر طیف وسیعی از بیماری‌ها از قبیل دیابت، بیماری‌های التهابی، پارکینسون، آلزایمر، بیماری‌های قلبی و عروقی، فشار خون و دیگر بیماری‌های ناشی از استرس اکسیداتیو، از اهمیت بالایی برخوردار هستند. در پژوهش حاضر، تأثیر چهار دمای مختلف (۵، ۱۰، ۱۵و ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد) و چهار زمان متفاوت اسیدشویی با اسید سولفوریک (۹۶ درصد) (۰، ۵، ۱۰، ۱۵ دقیقه) بر جوانه‌زنی و خصوصیات میکرومورفولوژی بذور سه جمعیت (فریدون شهر، تیران و خوانسار) گیاه موسیر مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل، در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. در پایان آزمایش، صفات درصد جوانه‌زنی، میانگین مدت زمان جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه اندازه‌گیری شد. همچنین صفاتی نظیر قطر، طول، حجم و وزن بذور نیز مورد بررسی آماری قرار گرفتند. میکروسکوپ الکترونی اسکن (نگاره)، با درجات مختلفی از بزرگ‌نمایی، برای تأثیر تیمار اسید سولفوریک، بر روی سطح بذور استفاده گردید. نتایج میکروسکوپ الکترونی نشان داد، در هر سه جمعیت بذور گیاه موسیر ایرانی، پوسته‌ی بذر، پس از استفاده از تیمار اسیدشویی به وسیله‌ی اسید سولفوریک با زمان ۱۵ دقیقه، دچار تغییرات محسوس و معنی‌داری نسبت به بذور شاهد شده و برجستگی‌های سطح بذر، توسط اسید سولفوریک از بین رفته و سطح بذر حالت فرورفتگی و برآمدگی‌های طبیعی خود را نسبت به شاهد ندارد. همچنین تأثیر دما، مدت زمان اسیدشویی و جمعیت بذور، بر صفات درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، میانگین مدت زمان جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه، در سطح احتمال یک درصد، معنی‌دار بود. نتایج نهایی نشان داد: جمعیت فریدون شهر، بیشترین درصد جوانه‌زنی (۶۹/۱۶ درصد)، سرعت جوانه‌زنی ۳/۷ (تعداد بذر در روز) و میانگین مدت زمان جوانه‌زنی ۹/۶۴ (تعداد بذر در روز) را در دمای ۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و زمان ۱۵ دقیقه اسیدشویی داشت. بیشترین طول ساقه‌چه و طول ریشه‌چه (۱۹/۷ و ۸/۸۱ (میلی‌متر) به ترتیب در جمعیت تیران با دمای۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و زمان ۱۵ دقیقه اسیدشویی و جمعیت خوانسار با دمای۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و زمان ۵ دقیقه اسیدشویی داشت. بنابراین با توجه به خواب بذور و نیاز سرمایی در آن‌ها، بهترین دما، برای جوانه‌زنی بذور گیاه موسیر، دمای ۵ درجه‌ی سانتی‌گراد با زمان ۱۵ دقیقه اسیدشویی توسط اسید سولفوریک است. تنوع در جمعیت‌های گیاه موسیر، تأثیر به

سزایی در نحوه‌ی عملکرد در بهبود جوانه‌زنی بذور، در این گیاه دارد. چنانچه استفاده از تیمار اسید سولفوریک به مدت ۱۵ دقیقه در هر ۳ جمعبت از بذور موسیر، توانست پوسته و سطح بذر را دچار تغییر نماید، اما به خاطر وجود تنوع در جمعیت‌های گیاه موسیر، جمعیت فریدون شهر، بیشترین صفات مرتبط در جوانه‌زنی را نشان داد.

واژه‌های کلیدی: موسیر، مورفولوژی بذر، چینه سرمایی، جوانه‌زنی، میکروسکوپ الکترونی روبشی

۱-مقدمه

در سال‌های اخیر، بررسی ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد التهابی مشتق‌شده از گونه‌های گیاهی، به دلیل تأثیرات مواد شیمیایی بر سلامت انسان، در صنعت مواد غذایی، به خصوص در بخش داروسازی، در سراسر دنیا با استقبال زیادی رو به رو شده است (Shari-Rad *et al*. 2016 ، Ghahremani-majd *et al*. 2012). گیاهان دارویی، میراث بومی و ارزشمند برای هر کشوری محسوب می‌شوند. بنابراین شناخت و پرورش این گیاهان و کسب اطلاع از زیستگاه‌های آن‌ها و ویژگی‌های اکولوژیکی، یکی از مهم‌ترین شاخصه‌های توسعه‌ی اقتصادی و صنعتی، در هر کشوری به شمار می‌آید (Aleebrahim-Dehkordy *et al*. 2016). از مهمترین عوامل محیطی در رویش گیاهان دارویی که تأثیر بسیار عمده‌ای بر کمیت و کیفیت مواد مؤثره‌ی آن‌ها می‌گذارد، عبارت‌است از: نور، درجه‌ی حرارت، آبیاری و ارتفاع محل (Omid Beigi, 2015). خانواده Alliaceae خانواده‌ی بزرگی از گیاهان گلدار بوده و از نظر باغبانی و زینتی بسیار حائز اهمیت است. خانواده Alliaceae شامل ۲۵۰ جنس و ۳۵۰۰ گونه است. گونه‌های مختلف از این خانواده در جهان پراکنده هستند. گیاهان در این خانواده، چندساله و به ندرت یک‌ساله هستند. بیشتر گیاهان در این خانواده، دارای ساقه به شکل کورم و پیاز هستند (Sharifi-Rad *et al*. 2016، Aryakia *et al*. 2016). جنس Alliums شامل بیش از ۶۰۰ گونه است. گیاه موسیر ایرانی با نام علمی *Allium hirtifolium* گونه‌ای از خانواده پیازیان (Alliaceae) است. گیاه وحشی و خودرو بوده و چندساله، علفی و معطر است (Lafond *et al*. 1986، Aryakia *et al*. 2016). گیاه موسیر، یک محصول مهم باغبانی بوده که از زمان‌های قدیم به خاطر داشتن خواص مفید در آن، به عنوان سبزیجات، ادویه و گیاه دارویی شناخته و مورد استفاده قرار گرفته است. بیشتر اثرهای درمانی خانواده‌ی Aliium و گیاه موسیر، غنی از ترکیبات ارگانوسولفور و فلاونوئیدها بوده و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن عمدتاً به آلیسین نسبت داده می‌شود. همچنین حاوی مقادیر قابل توجهی از اسیدهای‌آمینه، ویتامین‌ها و عناصر غذایی است. مهم‌ترین اسیدهای چرب مانند اسید لینولئیک، اسید پالمیتیک، اسید استئاریک و اسید اولئیک را دارا است (Aryakia *et al*. 2016). در بیماری‌های خاص مانند دیابت، ورم مفاصل، سرماخوردگی، سرطان اثر درمانی دارد و واجد اثرات ضد میکروبی، قارچی، انگلی و ویروسی است (Płażek *et al*. 2018).

در این جنس گونه‌های مهم اقتصادی همانند: پیاز، سیر، موسیر، پیازچه و تره فرنگی وجود دارد (Celep *et al*. 2012، CLARKE *et al*. 1980، RAHMAN *et al*. 2006). گیاه دارویی موسیر به عنوان یکی از ارزشمندترین گیاهان دارویی

در صنعت محسوب می شود که دارای تنوع ژنتیکی بالایی است (Aryakia *et al*. 2016، Ghahremani-majd. 2012). مهمترین مراکز تکامل این گونه، امتداد گستره ناحیه‌ی جغرافیایی ایران و توران است. موسیر، بومی ایران بوده و عمدتاً در ارتفاعات بالای ۲۰۰۰ متر در رشته کوه زاگرس از شمال غرب تا جنوب غرب به صورت خودرو و وحشی رشد می‌نماید. در واقع مرکز اصلی تنوع جنس موسیر در جنوب غربی آسیا است (Dashti *et al*. 2012، Ebrahimi *et al*. 2014، Etemadi *et al*. 2011). با سرد شدن هوا در ماه پاییز، کرم‌های موسیر شروع به رشد کرده و ریشه‌های اولیه در آن، شروع به رشدکردن می‌کنند. سپس با گرم شدن هوا، قسمت‌های هوایی گیاه موسیر شامل گل‌آذین و برگ‌ها شروع به رشد می‌نمایند (Aryakia *et al*. 2016).

جوانه‌زنی و سبز شدن یکی از مهمترین مراحل فنولوژیک (چرخه‌ی زیستی) گیاه است. داشتن اطلاعات کافی در مورد سیکل فنولوژیک گیاه به مدیریت بهتر مراحل مختلف این سیکل منتج می‌شود که تعیین‌کننده‌ی درجه‌ی موفقیت سیستم‌های زراعی است (Mahmoudi Maimand *et al*. 2013). خواب یا خفتگی بذر در حیات وحش یک استراتژی انطباقی است که به بذر این اجازه را می‌دهد که بتواند در مقابل شرایط نامساعد محیطی مقاومت نموده و زنده بماند. این امر تضمین می‌کند که جوانه‌زنی در شرایط مناسبی رخ دهد و دانهال به وجود آمده خود را با محیط طبیعی پیرامون خود به راحتی تطبیق دهد و مقاوم نماید (Ebrahimi *et al*. 2014). جوانه‌زنی و رشد گیاهچه در مراحل اولیه به شدت تحت تأثیر و کنترل عوامل محیطی به ویژه دما، رطوبت خاک و کیفیت بذرها (جوانه‌زنی و قدرت گیاهچه) و عوامل داخلی (تنظیم‌کننده‌های رشد) نظیر هورمون‌های جیبرلین و آبسایزیک اسید، قرار می‌گیرد (Putnik *et al*. 2019). به منظور تسریع در جوانه‌زنی بذور و بر طرف کردن خواب یا خفتگی بذر که بتواند سریع‌تر جوانه‌زنی در آن اتفاق افتد روش‌های مختلف وجود دارد که یکی از این روش‌ها، خراش‌دهی مکانیکی یا شیمیایی است. روش شیمیایی یا اسیدی با استفاده از اسید سولفوریک غلیظ است که بسته به غلظت اسید، نوع بذر و دما ممکن است از۱۰ دقیقه تا شش ساعت یا بیشتر به طول بینجامد. در روش اسیدشویی باید بذور پس از پایان مدت قرار دادن در داخل اسید، با دقت با آب مقطر استریل شسته شوند تا بقایای اسید از بذر خارج شود و به رویان آسیبی وارد نگردد (Khoshkhovi *et al*. 2015، Etemadi *et al*. 2011). گونه‌های مختلف از موسیر دارای خفتگی متفاوتی هستند که در این زمینه تحقیقات کمی صورت گرفته است (Etemadi *et al*. 2011). سرعت جوانه‌زنی یکی از مهم‌ترین شاخص‌های جوانه‌زنی است که در اکثر تحقیقات برای تشخیص تیمار تأثیرگذار بر جوانه‌زنی بذور گیاه مورد نظر، استفاده می‌شود. به طورکلی، بذرهایی که دارای سرعت جوانه‌زنی بالاتری هستند در مزرعه سریع‌تر استقرار پیدا می‌کنند و بوته‌های حاصل از آن‌ها نیز رشد اولیه‌ی سریع‌تری خواهند داشت. این رشد اولیه و استقرار سریع‌تر باعث دریافت تشعشع خورشیدی بیشتر و در نهایت افزایش عملکرد می‌شود (Pourali *et al*. 2017). مشخص شده است که بذور موسیر دارای خواب و دوره‌ی رکود بوده و بدون تیمار مکانیکی و شیمیایی مانند خراش‌دهی، قدرت جوانه‌زنی پایینی دارند (Jafari-Mofidabadi *et al*. 2013). همچنین جوانه‌زنی بذرهای موسیر ایرانی با مشکلاتی از قبیل پایین بودن درصد و سرعت جوانه‌زنی و رشد آهسته‌ی گیاهچه‌ها مواجه می‌باشند (Farhadi *et al*. 2017). خواب بذر یکی از عوامل محدودکننده در تکثیرجنسی این گونه است و آن را دشوار می‌سازد، اما نتایج و پژوهش‌های انجام گرفته نشان می‌دهد که می‌توان به وسیله‌ی سرمادهی، خراش‌دهی شیمیایی یا مکانیکی برای برطرف نمودن سختی پوسته‌ی بذر و بهبود جوانه زنی، سرعت سبز شدن و

یکنواختی انجام بگیرد (Lafond *et al*. 1986). در پژوهشی که بر روی بذور موسیر ایرانی در سال ۲۰۱۷ انجام گرفت، نتایج حاکی از این موضوع بود که به دلیل خواب و دوره‌ی رکود و نیاز سرمایی بذور موسیر، استفاده از دمای پایین برای تسریع در جوانه‌زنی بذور موسیر تأثیر دارد زیرا دمای پایین موجب می‌شود تا هورمون آبسایزیک اسید در داخل بذر کاهش یافته در مقابل میزان اسید جیبرلیک افزایش می‌یابد و اجازه‌ی جوانه‌زنی جنین را فراهم می‌کند. مطابق این آزمایش دمایی که موجب برطرف کردن خواب بذور موسیر شد، دمای ۵ و ۱۰ درجه‌ی سانتی‌گراد بود (Farhadi *et al*. 2017). در پژوهشی که در سال ۲۰۱۱ میلادی بر روی بذور موسیر انجام گرفت، نتایج حاکی از این بود که برای بهبود و افزایش جوانه‌زنی بذور موسیر، استفاده‌ی همزمان از اسید سولفوریک ۱۵ دقیقه و دمای پایین موجب بهبود و افزایش سرعت و درصد جوانه‌زنی بذور موسیر می‌شود (Etemadi *et al*. 2011). در پژوهشی که در سال ۲۰۱۴ بر روی بذور موسیر ایرانی انجام گرفته شد، به بررسی اثرات شکستن خواب در موسیر با تیمارهای مختلف سرمادهی و اسید جیبرلیک پرداخته شد. نتایج نشان داد، تیمارهای مختلف دمایی در شکستن خواب بذر معنی‌دار است ولی بین سرما و هورمون اسید جیبرلیک برهمکنش معنی‌داری وجود ندارد (Sharifi *et al*. 2014). در پژوهشی که در سال ۲۰۱۸ با تیمارهای مختلف مانند اسید جیبرلیک، اسید سولفوریک و کاغذ سمباده بر روی بذور موسیر برای شکستن خواب آن صورت گرفت نتایج نشان داد، جوانه‌زنی بذور موسیر تحت تأثیر دمای پایین و تیمارهای خراش‌دهی قرار گرفته است. در حقیقت بذر گیاه موسیر برای جوانه‌زنی به یک دوره سرما و همچنین تیمار خراش‌دهی احتیاج دارد. در حقیقت بذور موسیر، دارای خواب فیزیولوژیکی هستند (Rizvan Beidokhti *et al*. 2018).

هدف از این پژوهش، ارائه‌ی یک توصیف دقیق و علمی برای شکست خفتگی بذور گیاه دارویی موسیر ایرانی (*A. hirtifolium*) و بهبود جوانه‌زنی، با توجه به ویژگی‌های مختلف در هر جمعیت از بذور موسیر ایرانی است. همچنین برای بالا بردن کیفیت و دقت بیشتر در این پژوهش، از میکروسکوپ الکترونی روبشی نیز استفاده شد تا تغییرات سطح بذور قبل از تیمار اسیدشویی با اسید سولفوریک و بعد از تیمار اسیدشویی با اسید سولفوریک به دقت مشخص گردد. در پژوهش‌هایی که تا این زمان بر روی بذور موسیر ایرانی انجام گرفته است، بررسی همزمان دماهای متفاوت و همچنین زمان‌های متفاوت از اسیدشویی توسط اسید سولفوریک به صورت دقیق و با چند جمعیت که دارای ژنوتیپ متفاوت هستند، همچنین استفاده از میکروسکوپ الکترونی اسکن (نگاره)[1] صورت نگرفته است.

۲-مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۴۰۰ در گلخانه‌ی تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. به منظور بررسی تأثیر درجات متفاوت از دما و زمان‌های متفاوت از اسید سولفوریک جهت اسیدشویی پوسته‌ی بذور که بر میزان بهبود جوانه‌زنی سه جمعیت از بذور گیاه دارویی موسیر ایرانی (*A. hirtifolium*) تأثیر گذار است، مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا برای تهیه‌ی بذور، از سه منطقه‌ی فریدون شهر، خوانسار و تیران که از شهرستان‌های استان اصفهان هستند، از قسمت مراتع کوهستانی که زیستگاه اصلی این گیاه است و به صورت خودرو و طبیعی و نه زراعی رشد می‌کند، بذور جمع‌آوری و مورد مطالعه قرار گرفتند. ابتدا بذور سه جمعیت ذکر شده از نظر خصوصیات فیزیکی مانند طول بذر، قطر بذر، وزن بذر و حجم بذر مورد بررسی قرارگرفت. مشخصات بذور هر سه جمعیت در جدول (۱-۳) آورده شده است. در ادامه‌ی این پژوهش، از چهار دمای متفاوت (۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد) در داخل دستگاه ژرمیناتور و چهار زمان متفاوت برای اسیدشویی توسط اسید سولفوریک

[1] SEM

۹۶ درصد (۰، ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه) استفاده شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. بذور موسیر توسط اسید سولفوریک غلیظ (۹۶ درصد) در زمان‌های ذکر شده، اسیدشویی شدند، سپس توسط آب مقطر استریل به خوبی شسته تا بقایای اسید از بذر خارج شود. همچنین برای ضدعفونی نمودن گروه شاهد، از هیپوکلریت ۵ درصد استفاده شد. ابتدا برای این منظور، پتری‌دیش‌های یک‌بار مصرف با قطر ۸ سانتی‌متر، زیر هود لامینار قرار داده شدند، سپس با الکل ۷۰ درصد، استریل شده و در داخل آن‌ها کاغذ صافی واتمن استریل قرار داده شد. داخل هر پتری‌دیش،۳۰ عدد بذر موسیر قرار داده شد. به هر کدام از پتری‌دیش‌ها حدود۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل اضافه گردید. سپس ظروف حاوی بذور در داخل دستگاه ژرمیناتور با چهار دمای متفاوت (۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد) و تناوب نوری (۸ ساعت روشنایی و ۱۶ ساعت تاریکی)، قرار داده شدند. شمارش بذور جوانه‌زده با خارج شدن ریشه‌چه به اندازه‌ی ۲ میلی‌متر آغاز و روزانه، بذور بازبینی و آب تبخیر شده از سطح ظروف توسط آب مقطر استریل جایگزین می‌گردید (Askarian *et al*. 2019). در پایان آزمایش، صفات مورد نظر اندازه‌گیری شدند. برای عکس‌برداری از بذور به روش میکروسکوپ الکترونی اسکن (نگاره) (SEM)، بعد از به دست آمدن بهترین نتیجه برای زمان اسیدشویی، بذور هر سه جمعیت از موسیر ایرانی تیمار شده با اسید سولفوریک، به مدت ۱۵ دقیقه اسیدشویی شدند. سپس به مدت یک ساعت تحت فرکانس۴۰ کیلوهرتز (KHz) و توان ۱۲۰ وات (W) در آب دیونیزه، اولتراسونیک شدند. سپس تحت نیتروژن مایع به صورت خیلی سریع توسط دستگاه خشک‌کن انجمادی (freeze dryer)، در مدت زمان ۲۴ ساعت منجمد شدند. همچنین تحت خلاء ۰/۷ میلی بار (mBar) و دمای منفی۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفتند. به منظور تصویربرداری از بذور، ابتدا بذور با چسب دو طرفه‌ی مس، به مدت ۱۸۰ ثانیه، تحت جریان ۵ میلی‌آمپر (Ma) توسط دستگاه پوشش‌دهنده (sputter coater) (مدل SC7620) به وسیله‌ی عنصر طلا پالادیوم در اصطلاح coat (پوشش) داده شدند.

جدول ۳-۱-موقعیت جغرافیایی سه جمعیت موسیر ایرانی مورد مطالعه در این پژوهش

Table 3-1-Grographical locuation of three populations of Iranian shallot studied in this research

	ارتفاع از سطح دریا(متر) Hight above see level(m)	بارش سالیانه(میلی متر) Rainfal(mm)	روزهای یخبندان(روز) (day)
فریدون شهر Fereydoonshahr	۲۵۳۰	۶۰۰	۱۲۰
خوانسار Khansar	۲۲۱۵	۴۵۳	۲۵۰
تیران Tiran	۱۸۴۱	۲۵۰	۸۰

۱-۲-صفات مورد اندازه گیری

الف- درصد جوانه‌زنی

پس از شمارش تعداد کل بذور جوانه‌زده، درصد جوانه‌زنی(GC) با استفاده از رابطه‌ی ۱-۱ محاسبه شد (Askarian *et al*. 2019).

رابطه۱-۱

$$GC= SNG / SNo \times 100$$

که در آن SNG، تعداد بذور جوانه‌زده و SNo کل تعداد بذر است.

ب- سرعت جوانه‌زنی

به منظور اندازه‌گیری سرعت جوانه‌زنی از روش ماگویر (Maguire, 1962) با استفاده از رابطه‌ی ۱-۲ استفاده گردید (Neshati *et al*. 2009).

رابطه۱-۲

$$Rs =\Sigma Si / Di$$

که Rs سرعت جوانه‌زنی (تعداد بذر در روز)، که برابر با مجموع نسبت Si / Di است که در آن، Si تعداد بذر جوانه‌زده در هر روز و Di تعداد روز تا شمارش n ام است.

پ- میانگین مدت زمان جوانه‌زنی

با استفاده از رابطه‌ی ۱-۳ میانگین مدت زمان جوانه‌زنی(MGT) محاسبه شد (Askarian *et al*. 2019).

رابطه۱-۳

$$MGT= \Sigma D.n / \Sigma n$$

که در آن $\Sigma D.n$ مجموع تعداد بذر جوانه‌زده در هر روز در روز مشخص و Σn تعداد کل بذور جوانه‌زده است.

ت-طول ریشه‌چه

طول ریشه‌چه با استفاده از نرم افزار ایمج جی (Image J) – 1.52 v اندازه‌گیری شد. نرم‌افزار ایمج جی (Image J)، یک نرم‌افزار تحلیل تصویر و پردازش تصویر به شمار می‌رود به این صورت که تصویر مورد نظر در داخل نرم‌افزار قرار گرفته می‌شود و سپس با استفاده از ابزار اندازه‌گیری، طول محاسبه می‌شود.

ث- طول ساقه‌چه

طول ساقه‌چه با استفاده از نرم‌افزار (Image J)-1.52 v اندازه‌گیری شد.

ج- اندازه‌گیری حجم بذور موسیر

نسخه پیش انتشار

با استفاده از روش ارشمیدس، حجم بذور موسیر تعیین شد. بدین منظور تعداد ۱۰ عدد بذر موسیر از هر جمعیت، در سه تکرار، درون استوانه‌ی مدرج با حجم ۱۰ میلی‌لیتر و مقدار ۵ میلی‌لیتر آب مقطر، ریخته شد و به اندازه‌ای که آب موجود در استوانه‌ی مدرج تغییر نمود، اعداد یاداشت شدند.

چ_ اندازه‌گیری صفات مورفولوژیکی بذور موسیر

با استفاده از کولیس دیجیتال، صفات قطر و طول بذور اندازه‌گیری شد. همچنین با استفاده از ترازوی دیجیتال وزن بذور تعیین گردید.

تجریه و تحلیل داده‌ها:

تجزیه و تحلیل‌آماری نتایج، با استفاده از نرم افزار Statestix 8 و رسم نمودارها با نرم افزار Excel و مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون حداقل تفاوت معنی‌داری (LSD) در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

۳-نتایج و بحث:

مشخصات بذور سه جمعیت از فریدون شهر، تیران و خوانسار شامل طول بذر، قطر بذر، وزن بذر و حجم بذر در جدول (۱-۳)آورده شده است.

جدول ۳-۱- ویژگی‌های بذور سه جمعیت از موسیر ایرانی مورد مطالعه در این پژوهش

Table 3-1- Seed characteristics of three populations of Iranian shallot studied in this research

	طول بذر seed length (mm)	قطربذر seed diameter (mm)	وزن بذر seed weight (mg)	حجم بذر Seed volume (mm^3)
فریدون شهر Fereydoonshahr	0.088±0.013	0.082±0.011	7.30±1.70	100.00±4.67
خوانسار Khansar	0.280±0.356	0.145±0.010	8.45±0.92	100.00±4.67
تیران Tiran	0.369±0.417	0.142±0.010	8.40±0.28	74.90±23.05

میانگین ±انحراف معیار

Mean ± standard deviation

نتایج مربوط به جدول (۱-۳)، بذور موسیر ایرانی نشان می‌دهد، صفات ظاهری، مانند طول، قطر و وزن بذر در جمعیت فریدون شهر نسبت به بذور دو جمعیت دیگر،کمتر است.

جدول (۲-۳) تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر دما و اسید سولفوریک بر بهبود جوانه‌زنی بذور سه جمعیت گیاه دارویی موسیر ایرانی(*Allium hirtifolium*)

Table (2-3) analysis of variance (mean square) of the effect of temperature and sulfuric acid on the improvement of seed germination of three populations of Iranian shallot (*Allium hirtifolium*)

منبع تغییرات variation source	درجه آزادی degree of freedom	میانگین مربعات mean square				
		درصد جوانه زنی germination percentage	سرعت جوانه زنی germination rate	میانگین مدت زمان جوانه زنی average germination time	طول ریشه چه root length	طول ساقه چه Stem length
جمعیت population	۲	۱۲۹۵۰/۶۰**	۶۷/۱۵**	۵۶/۶۶**	۱۵/۲۳**	۴۳/۸۸**
اسید acid	۳	۷۵۶۵/۲۰**	۱۴/۶۱**	۱۱۵/۳۱**	۷۷/۹۷**	۲۴۷/۳۱**
دما temperature	۳	۸۸۹/۸۰**	۲/۶۱**	۴۶/۸۸**	۴۶/۸۶**	۵۲۰/۶۲**
جمعیت * اسید population * acid	۶	۳۱۳/۹۰**	۰/۸۱**	۶/۲۰**	۲۲/۷۴**	۱۲۹/۵۳**
جمعیت * دما Population * Temperature	۶	۳۳۷/۸۰**	۰/۸۰**	۱۲/۱۲**	۳۹/۳۹**	۱۱۵/۳۳**
اسید * دما acid * temperature	۹	۵۹۷/۱۰**	۱/۱۳**	۱۷/۲۱**	۱۶/۸۵**	۵۹/۷۹**
جمعیت * اسید * دما population * acid * temperature	۱۸	۲۵۸/۸۰**	۰/۴۲**	۶/۴۰**	۶/۵۰**	۴۵/۷۶**
خطا errors	۱۴۴	۵۲/۴۰	۰/۱۸	۰/۵۸	۰/۷۶	۱/۳۵
ضریب تغییرات (٪) coefficient of variation (%)		۲۹/۹۳	۳۲/۱۶	۳۵/۶۴	۳۲/۹۰	۳۵/۴۰

** بیانگر معنی دار بودن در سطح یک درصد است.

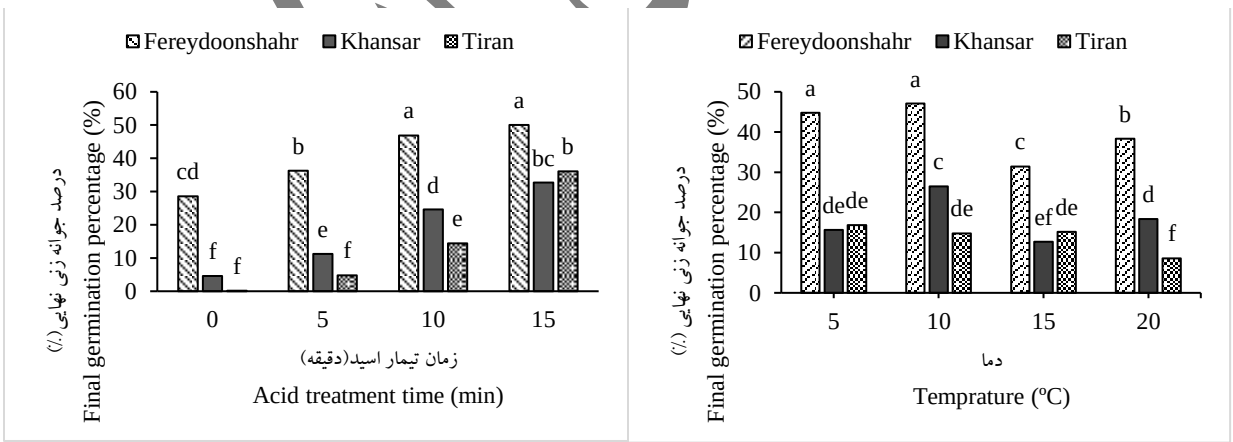
**** indicates significance at the one percent level.**

۱-۳-اثر دما، اسید سولفوریک و جمعیت، بر بهبود جوانه‌زنی بذور سه جمعیت گیاه دارویی موسیر ایرانی(*Allium hirtifolium*)

۱-۱-۳-اثر دما، اسید سولفوریک و جمعیت، بر درصد جوانه‌زنی سه جمعیت گیاه دارویی موسیر ایرانی(*Allium hirtifolium*)

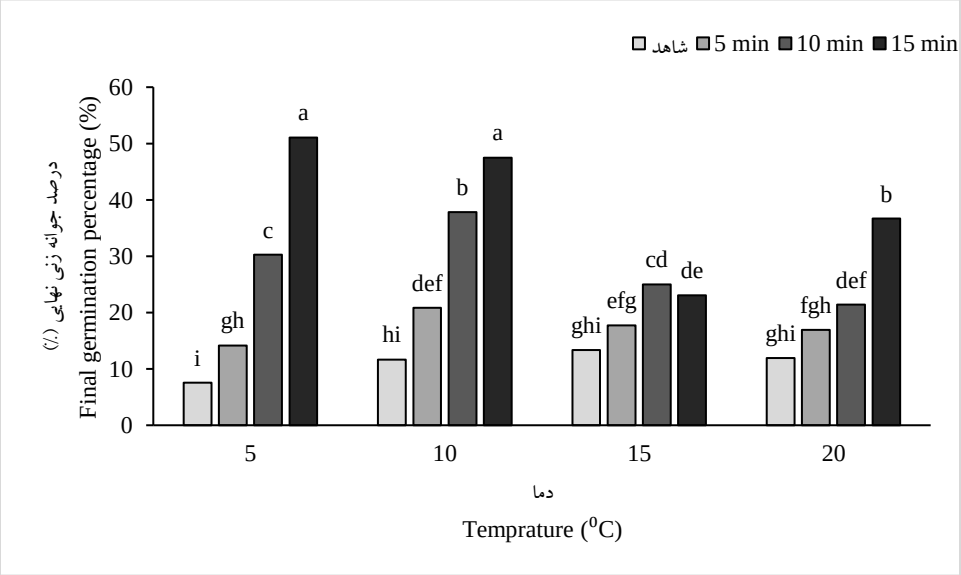
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول۳-۲) نشان داد، اثر اصلی دما، تیمار اسید سولفوریک و جمعیت، بر درصد جوانه‌زنی، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود.

مقایسه‌ی میانگین‌ها نشان داد (شکل۱) ، اثرات دوگانه زمان اسیدشویی و جمعیت بر شاخص درصد جوانه‌زنی بر بذور موسیر در مورد زمان اسیدشویی و جمعیت در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. نتایج نشان داد، بیشترین درصد جوانه‌زنی در زمان ۱۵ و ۱۰ دقیقه اسیدشویی در جمعیت فریدون شهر مشاهده شد اما تفاوت معنی‌داری بین این دو زمان وجود نداشت. همچنین اثر متقابل دوگانه در مورد دما و جمعیت بر شاخص درصد جوانه‌زنی نشان داد، بیشترین درصد جوانه‌زنی در دمای ۵ و ۱۰ درجه‌ی سانتی‌گراد در جمعیت فریدون شهر مشاهده شد و تفاوت معنی‌داری بین این دو دما وجود نداشت. همچنین اثرات دوگانه‌ی زمان اسیدشویی بر دما بر شاخص درصد جوانه‌زنی نشان داد (شکل۲)، در دمای ۱۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و زمان اسید شویی ۱۵ دقیقه بیشترین درصد جوانه‌زنی وجود داشت. مقایسه‌ی میانگین اثرات سه‌گانه‌ی زمان اسیدشویی، دما و جمعیت در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است. نتایج نشان داد (شکل۳)، جمعیت فریدون شهر در دمای ۵ درجه‌ی سانتی‌گراد در زمان ۱۵ دقیقه‌ی اسیدشویی بیشترین درصد جوانه‌زنی را به داشته است. در پژوهشی که در سال ۲۰۱۹ بر روی بذور موسیر انجام شد استفاده از اسید سولفوریک منجر به افزایش درصد جوانه‌زنی نسبت به شاهد شد که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد (Jafari-Mofidabadi *et al*. 2013). در پژوهشی دیگر که در سال ۲۰۱۴ میلادی بر روی بذور موسیر انجام گرفت، نتایج حاکی از این بود که برای بهبود و افزایش جوانه‌زنی بذور موسیر استفاده‌ی همزمان از اسید سولفوریک ۱۵ دقیقه و دمای پایین موجب بهبود و افزایش سرعت و درصد جوانه‌زنی بذور موسیر شد که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد (Etemadi *et al*. 2011).



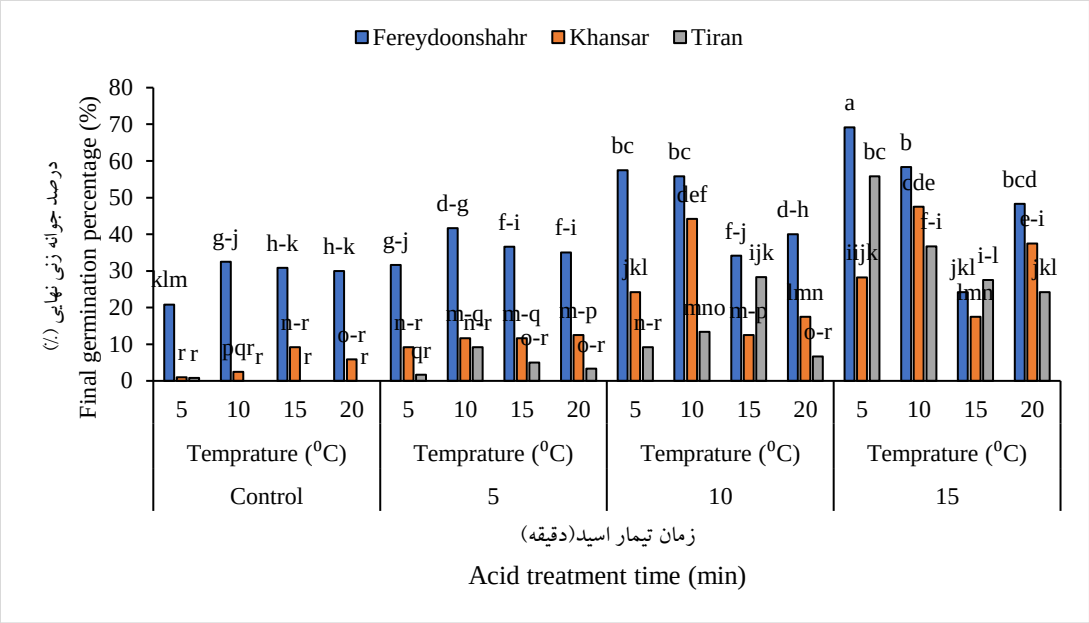
شکل۱، مقایسه‌ی برهمکنش اثرات دوگانه‌ی جمعیت و زمان اسیدشویی (سمت راست) و همچنین دما و جمعیت (سمت چپ) بر درصد جوانه-زنی. ستون‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Figure 1, comparing the interaction of the dual effects of population and acid washing time (right side) as well as temperature and population (left side) on germination percentage. Columns with common letters do not have a significant difference at the 5% probability level based on the LSD test.



شکل۲، مقایسه‌ی برهمکنش اثرات دوگانه‌ی زمان اسیدشویی و دما بر درصد جوانه‌زنی. ستون‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Figure 2, comparing the interaction of the double effects of acid washing time and temperature on germination percentage. Columns with common letters do not have a significant difference at the 5% probability level based on the LSD test.



شکل ۳، مقایسه‌ی برهمکنش اثرات سه‌گانه‌ی دما، زمان اسیدشویی و جمعیت بر درصد جوانه‌زنی. ستون‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

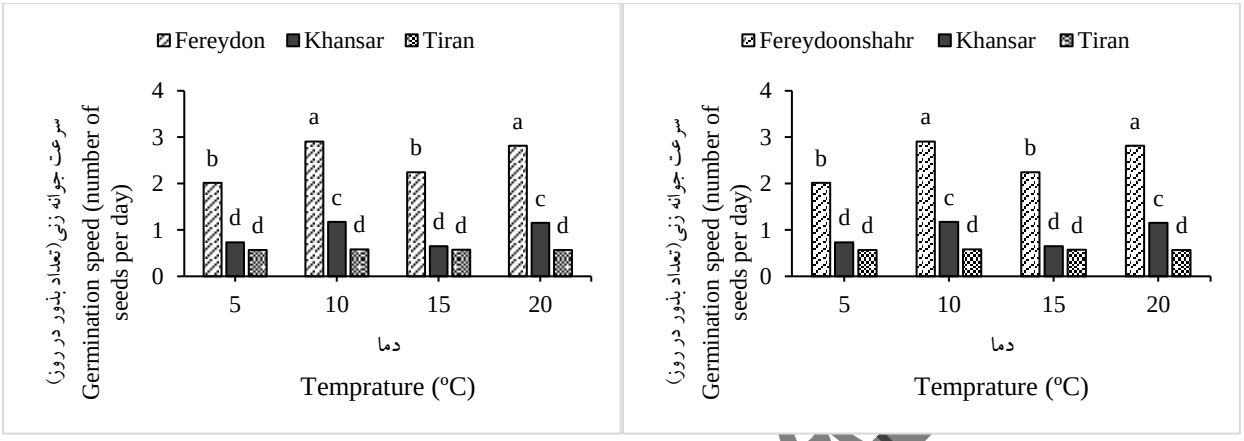
Figure 3, comparing the interaction of the triple effects of temperature, acid washing time and population on germination percentage. Columns with common letters do not have a significant difference at the 5% probability level based on the LSD test.

۲-۱-۳-اثر دما، اسید سولفوریک و جمعیت بر سرعت جوانه‌زنی سه جمعیت گیاه دارویی موسیر ایرانی(*Allium hirtifolium*)

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول۳-۲) نشان داد، اثر اصلی دما، تیمار اسید سولفوریک و جمعیت، بر سرعت جوانه‌زنی، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود.

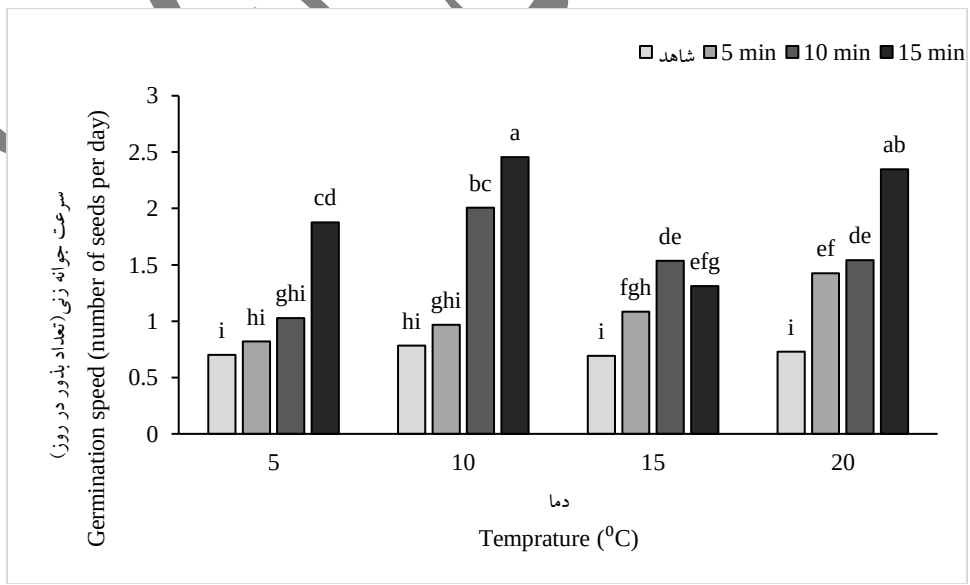
مقایسه‌ی میانگین‌ها نشان داد (شکل۴)، اثرات دوگانه‌ی، زمان اسیدشویی و جمعیت بر سرعت جوانه‌زنی بر بذور موسیر در مورد زمان اسیدشویی و جمعیت در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. نتایج نشان داد، بیشترین سرعت جوانه‌زنی در زمان ۱۵ و ۱۰ دقیقه اسیدشویی در جمعیت فریدون شهر مشاهده شد و تفاوت معنی‌داری بین این دو زمان وجود نداشت. همچنین اثرات دوگانه در مورد دما و جمعیت بر سرعت جوانه‌زنی نشان داد که، بیشترین سرعت جوانه‌زنی در دمای ۱۰ و ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد در جمعیت فریدون شهر مشاهده شد و تفاوت معنی‌داری بین این دو دما وجود نداشت. همچنین اثرات دوگانه‌ی زمان اسیدشویی بر دما بر سرعت جوانه‌زنی نشان داد (شکل۵)، در دمای۱۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و زمان اسید شویی ۱۵ دقیقه بیشترین سرعت جوانه‌زنی وجود داشته است. مقایسه‌ی میانگین‌ها نشان داد، اثرات سه‌گانه‌ی زمان اسیدشویی، دما و جمعیت در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. نتایج نشان داد (شکل۶)، جمعیت فریدون شهر در دمای ۱۰ درجه‌ی سانتی‌گراد در زمان ۱۵ دقیقه‌ی اسیدشویی بیشترین سرعت جوانه‌زنی را داشته است. در پژوهشی که بر روی بذور موسیر ایرانی در سال ۲۰۱۱ انجام گرفت نتایج حاکی از این موضوع بود که به دلیل خواب و دوره ی رکود و نیاز سرمایی بذور موسیر، استفاده از دمای پایین برای تسریع در جوانه‌زنی بذور موسیر تأثیر دارد زیرا دمای پایین موجب می‌شود تا هورمون آبسایزیک اسید در داخل بذر کاهش یافته در مقابل میزان اسید جیبرلیک افزایش یابد و اجازه‌ی جوانه‌زنی جنین را فراهم کند. مطابق این آزمایش

دمایی که موجب برطرف کردن خواب بذور موسیر شد، دمای ۵ و۱۰ درجه‌ی سانتی‌گراد بود که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد (Farhadi *et al*. 2017)



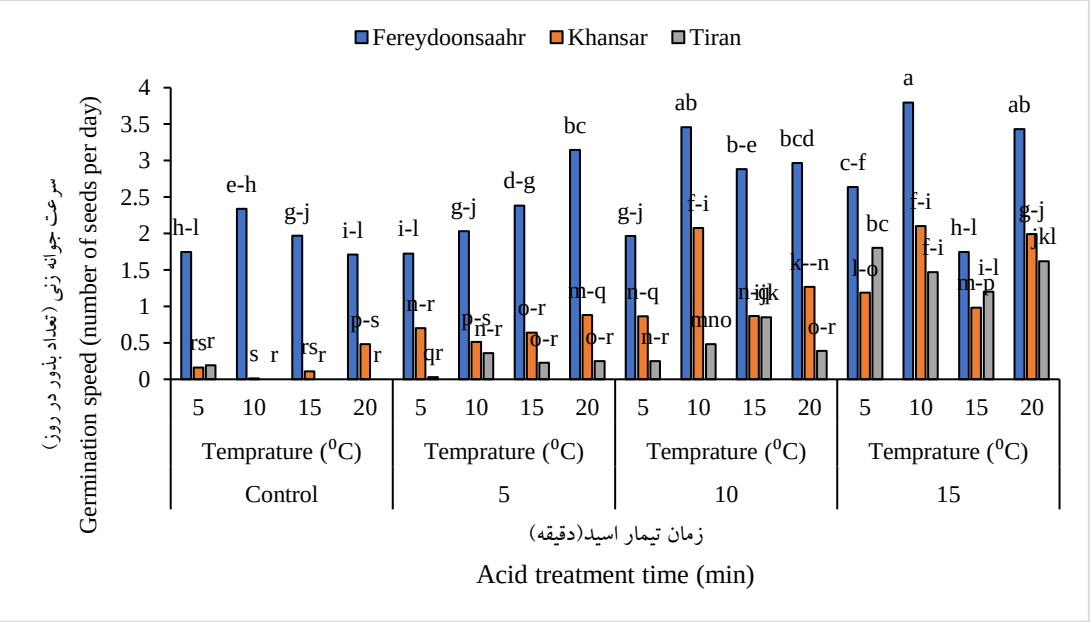
شکل٤: مقایسه‌ی برهمکنش اثرات دوگانه‌ی جمعیت و زمان اسیدشویی (سمت راست) و همچنین دما و جمعیت (سمت چپ) بر سرعت جوانه‌زنی. ستون‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Figure 4: Comparing the interaction of the dual effects of population and acid washing time (right side) as well as temperature and population (left side) on germination speed. Columns with common letters do not have a significant difference at the 5% probability level based on the LSD test.



شکل۵، مقایسه‌ی برهمکنش اثرات دوگانه‌ی زمان اسیدشویی و دما بر سرعت جوانه‌زنی. ستون‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Figure 5, comparing the interaction of the double effects of acid washing time and temperature on germination speed. Columns with common letters do not have a significant difference at the 5% probability level based on the LSD test.



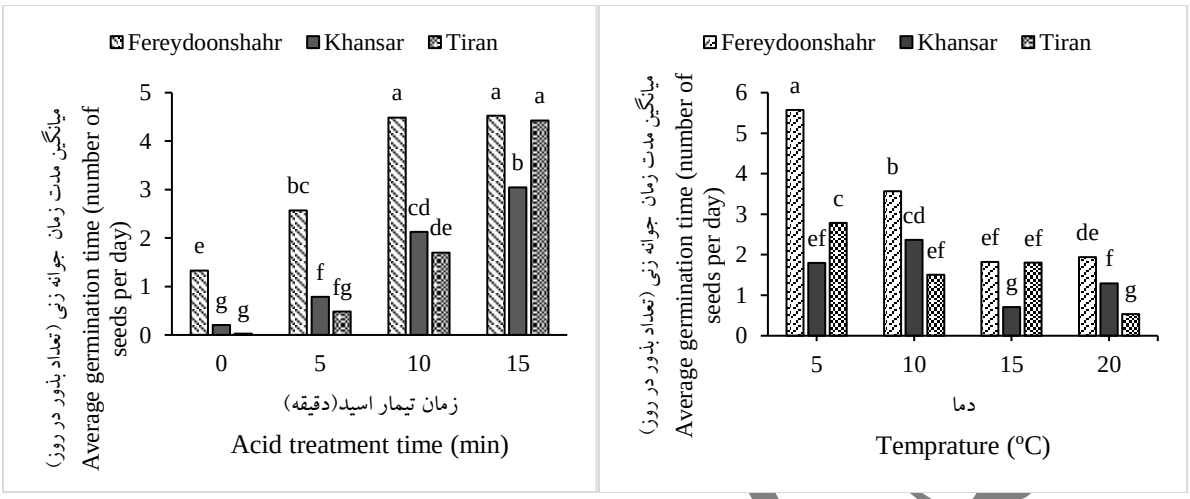
شکل ٦، مقایسه‌ی برهمکنش اثرات سه‌گانه‌ی دما، زمان اسیدشویی و جمعیت بر سرعت جوانه‌زنی. ستون‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Figure 6, comparing the interaction of the triple effects of temperature, acid washing time and population on the germination rate. Columns with common letters do not have a significant difference at the 5% probability level based on the LSD test.

۳-۱-۳- اثر دما، اسید سولفوریک و جمعیت بر میانگین مدت زمان جوانه‌زنی سه جمعیت گیاه دارویی موسیر ایرانی(*Allium hirtifolium*)

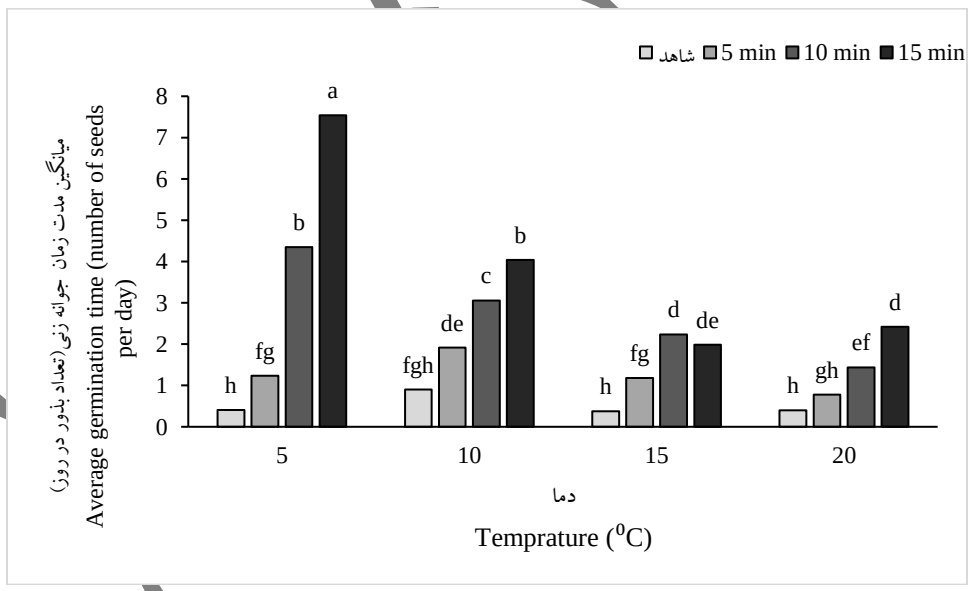
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول۳-۲) نشان داد، اثر اصلی دما، تیمار اسید سولفوریک و جمعیت، بر میانگین مدت زمان جوانه‌زنی، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود.

مقایسه‌ی میانگین‌ها نشان داد (شکل۷)، اثرات دوگانه‌ی، زمان اسیدشویی و جمعیت بر میانگین مدت زمان جوانه‌زنی بر بذور موسیر در مورد زمان اسیدشویی و جمعیت در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. نتایج نشان داد، بیشترین میانگین مدت زمان جوانه‌زنی در زمان ۱۵ و ۱۰ دقیقه اسیدشویی در جمعیت فریدون شهر و تیران مشاهده شد و تفاوت معنی‌داری بین زمان ۱۵ دقیقه اسیدشویی وجود نداشت. همچنین اثرات دوگانه در مورد دما و جمعیت بر شاخص میانگین مدت زمان جوانه‌زنی نشان داد، بیشترین میانگین مدت زمان جوانه‌زنی در دمای ۵ درجه‌ی سانتی‌گراد در جمعیت فریدون شهر مشاهده شد. همچنین اثرات دوگانه‌ی زمان اسیدشویی بر دما بر شاخص میانگین مدت زمان جوانه‌زنی نشان داد (شکل ۸)، در دمای ۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و زمان اسیدشویی ۱۵ دقیقه بیشترین میانگین مدت زمان جوانه‌زنی وجود داشته است. مقایسه‌ی میانگین‌ها نشان داد (شکل ۹)، اثرات سه‌گانه‌ی زمان اسیدشویی، دما و جمعیت در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. نتایج نشان داد، جمعیت فریدون شهر و تیران، در دمای ۵ درجه‌ی سانتی‌گراد در زمان ۱۵ دقیقه‌ی اسیدشویی بیشترین میانگین مدت زمان جوانه‌زنی را داشته است.



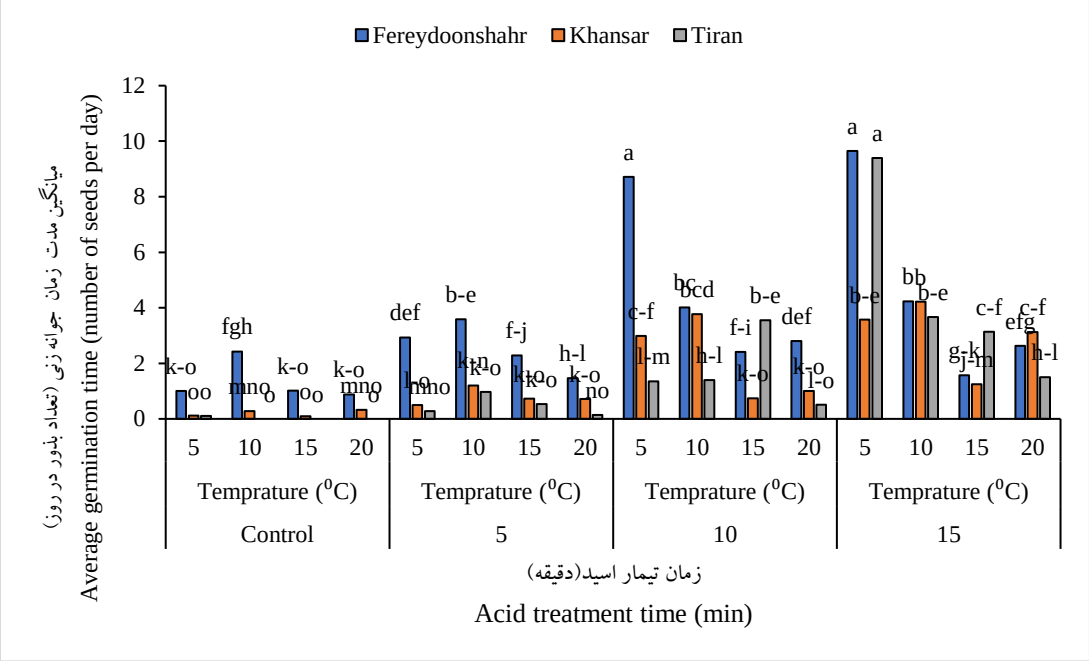
شکل۷: مقایسه‌ی برهمکنش اثرات دوگانه‌ی جمعیت و زمان اسیدشویی (سمت راست) و همچنین دما و جمعیت (سمت چپ) بر میانگین مدت زمان جوانه‌زنی. ستون‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Figure 7: Comparing the interaction of the dual effects of population and acid washing time (right side) as well as temperature and population (left side) on the average duration of germination. Columns with common letters do not have a significant difference at the 5% probability level based on the LSD test.



شکل۸، مقایسه‌ی برهمکنش اثرات دوگانه‌ی دما و زمان اسیدشویی بر میانگین مدت زمان جوانه‌زنی. ستون‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Figure 8, comparing the interaction of the dual effects of temperature and acid washing time on the average duration of germination. Columns with common letters do not have a significant difference at the 5% probability level based on the LSD test.



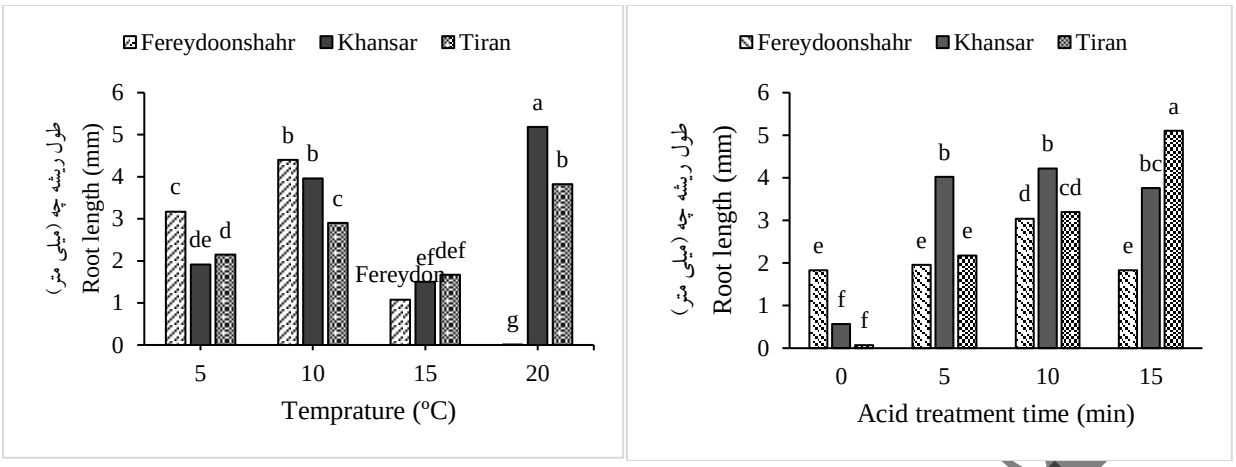
شکل ۹، مقایسه‌ی برهمکنش اثرات سه‌گانه‌ی دما، زمان اسیدشویی و جمعیت بر میانگین مدت زمان جوانه‌زنی. ستون‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Figure 9, comparing the interaction of the three effects of temperature, acid washing time and population on the average duration of germination. Columns with common letters do not have a significant difference at the 5% probability level based on the LSD test.

۲-۳- اثر دما، اسید سولفوریک و جمعیت بر طول ریشه‌چه سه جمعیت گیاه دارویی موسیر ایرانی(*Allium hirtifolium*)

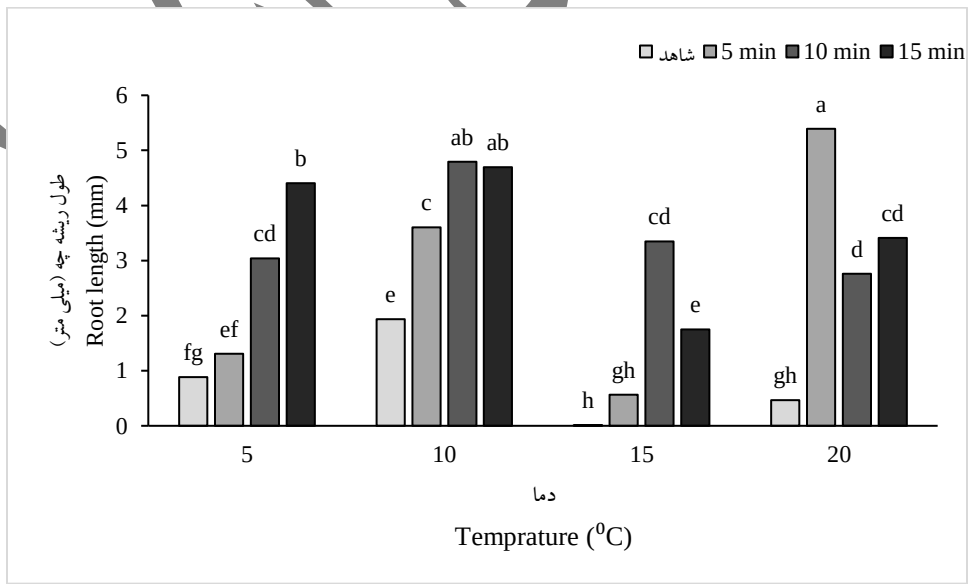
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول۳-۲) نشان داد، اثر اصلی دما، تیمار اسید سولفوریک و جمعیت، بر طول ریشه‌چه، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود.

مقایسه‌ی میانگین‌ها نشان داد (شکل۱۰)، اثرات دوگانه‌ی، زمان اسیدشویی و جمعیت بر شاخص طول ریشه‌چه بر بذور موسیر در مورد زمان اسیدشویی و جمعیت سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. نتایج نشان داد که، بیشترین طول ریشه‌چه در زمان ۱۵ دقیقه اسیدشویی در جمعیت تیران مشاهده شد. همچنین اثر متقابل دوگانه در مورد دما و جمعیت بر شاخص طول ریشه‌چه نشان داد، بیشترین طول ریشه‌چه در دمای۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد در جمعیت خوانسار مشاهده شد. همچنین اثرات دوگانه‌ی زمان اسیدشویی بر دما بر شاخص طول ریشه‌چه نشان داد (شکل ۱۱)، در دمای ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و زمان اسیدشویی۱۰ دقیقه بیشترین طول ریشه‌چه وجود داشت. مقایسه‌ی میانگین‌ها نشان داد، اثرات سه‌گانه‌ی زمان اسیدشویی، دما و جمعیت در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است. نتایج نشان داد (شکل ۱۲)، جمعیت خوانسار در دمای۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد در زمان ۵ دقیقه‌ی اسیدشویی، بیشترین طول ریشه‌چه را به دست آورده است.



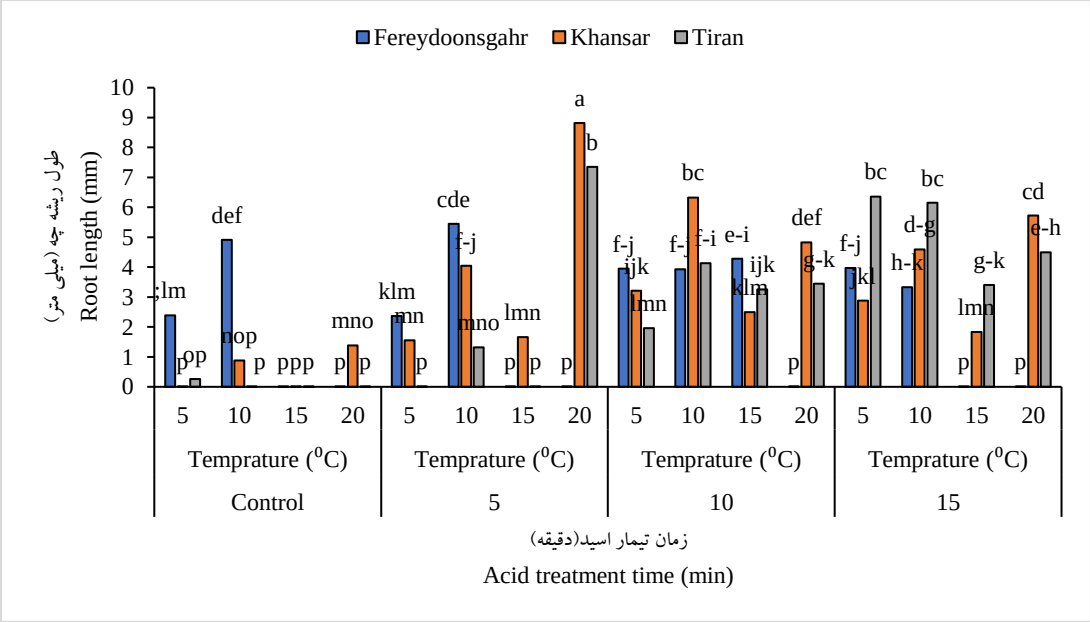
شکل۱۰: مقایسه‌ی برهمکنش اثرات دوگانه‌ی جمعیت و زمان اسیدشویی (سمت راست) و همچنین دما و جمعیت (سمت چپ) بر طول ریشه-چه. ستون‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Figure 10: Comparing the interaction of the dual effects of population and acid washing time (right side) as well as temperature and population (left side) on root length. Columns with common letters do not have a significant difference at the 5% probability level based on the LSD test.



شکل۱۱، مقایسه‌ی برهمکنش اثرات دوگانه‌ی دما و زمان اسید شویی بر طول ریشه‌چه. ستون‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Figure 11, comparing the interaction of the dual effects of temperature and acid washing time on root length. Columns with common letters do not have a significant difference at the 5% probability level based on the LSD test.



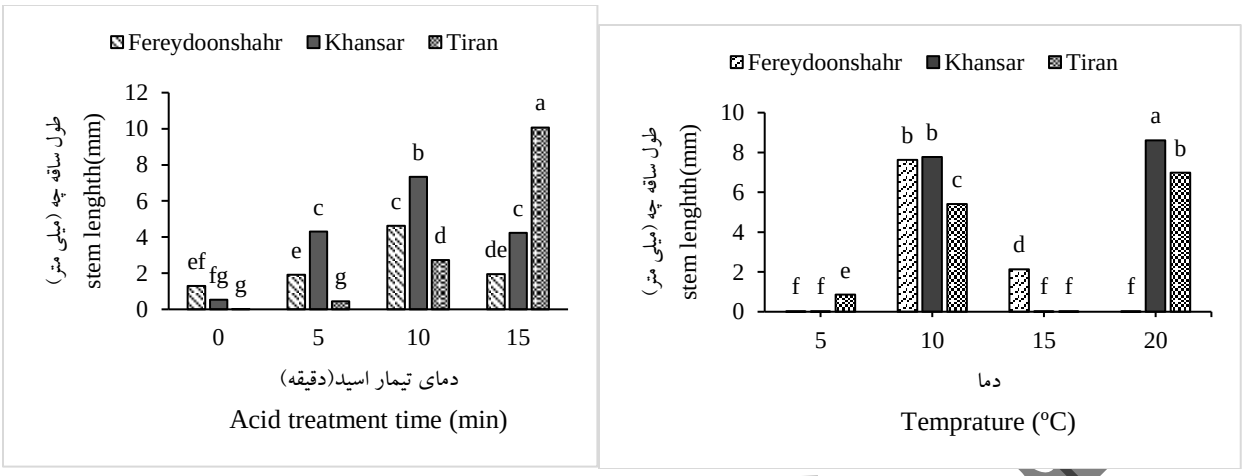
شکل ۱۲، مقایسه‌ی برهمکنش اثرات سه‌گانه‌ی دما، زمان اسیدشویی و جمعیت بر طول ریشه‌چه. ستون‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Figure 12, comparison of the interaction of the three effects of temperature, acid washing time and population on root length. Columns with common letters do not have a significant difference at the 5% probability level based on the LSD test.

۳-۳-اثر دما، اسید سولفوریک و جمعیت بر طول ساقه‌چه سه جمعیت گیاه دارویی موسیر ایرانی(*Allium hirtifolium*)

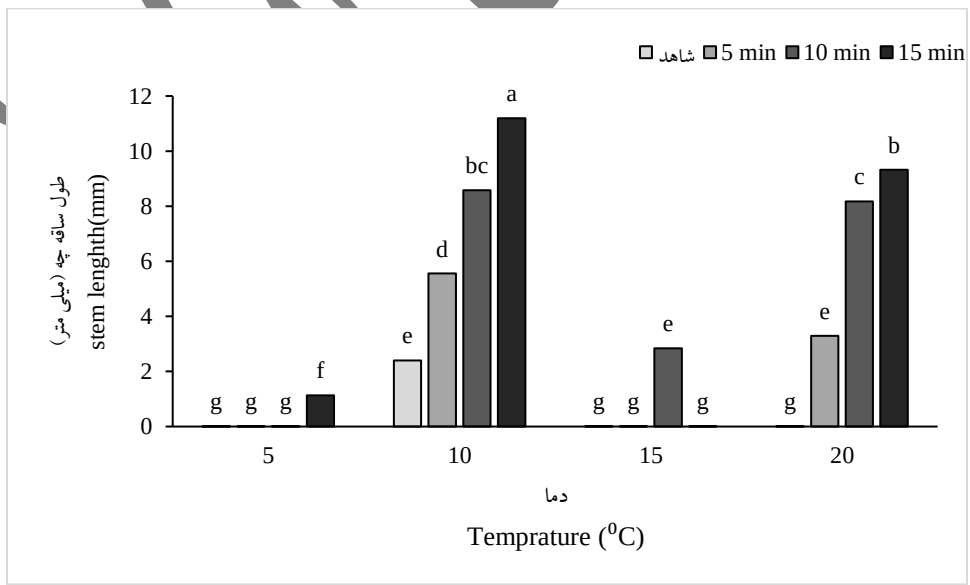
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول۳-۲) نشان داد، اثر اصلی دما، تیمار اسید سولفوریک و جمعیت، بر طول ساقه‌چه، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود.

مقایسه‌ی میانگین‌ها نشان داد (شکل۱۳)، اثرات دوگانه‌ی، زمان اسیدشویی و جمعیت بر طول ساقه‌چه و همچنین زمان اسیدشویی و جمعیت بر طول ساقه‌چه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. نتایج نشان داد، بیشترین طول ساقه‌چه در زمان ۱۵ دقیقه اسیدشویی در جمعیت تیران مشاهده شد. همچنین اثر متقابل دوگانه در مورد دما و جمعیت بر طول ساقه‌چه نشان داد، بیشترین طول ساقه‌چه در دمای ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد در جمعیت خوانسار مشاهده شد. همچنین اثرات دوگانه‌ی زمان اسیدشویی بر دما بر طول ساقه‌چه نشان داد (شکل ۱۴)، در دمای ۱۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و زمان اسیدشویی ۱۵ دقیقه بیشترین طول ساقه‌چه وجود داشت. مقایسه‌ی میانگین‌ها نشان داد، اثرات سه‌گانه‌ی زمان اسیدشویی، دما و جمعیت در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. نتایج نشان داد (شکل ۱۵)، بیشترین طول ساقه‌چه در جمعیت تیران در دمای۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد در زمان ۱۵ دقیقه، مشاهده شد.



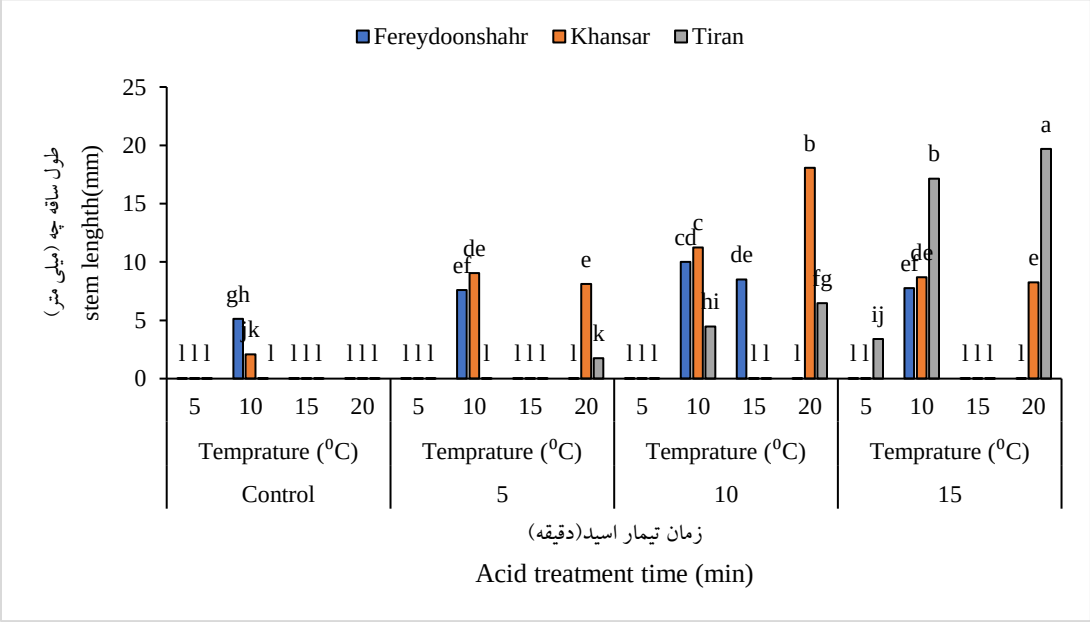
شکل۱۳: مقایسه‌ی برهمکنش اثرات دوگانه‌ی جمعیت و زمان اسیدشویی (سمت راست) و همچنین دما و جمعیت (سمت چپ) بر طول ساقه-چه. ستون‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Figure 13: Comparing the interaction of the dual effects of population and acid washing time (right side) as well as temperature and population (left side) on shoot length. Columns with common letters do not have a significant difference at the 5% probability level based on the LSD test.



شکل۱٤، مقایسه‌ی برهمکنش اثرات دوگانه‌ی دما و زمان اسیدشویی بر طول ساقه‌چه. ستون‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Figure 14, comparing the interaction of the dual effects of temperature and acid washing time on the length of the stem. Columns with common letters do not have a significant difference at the 5% probability level based on the LSD test.

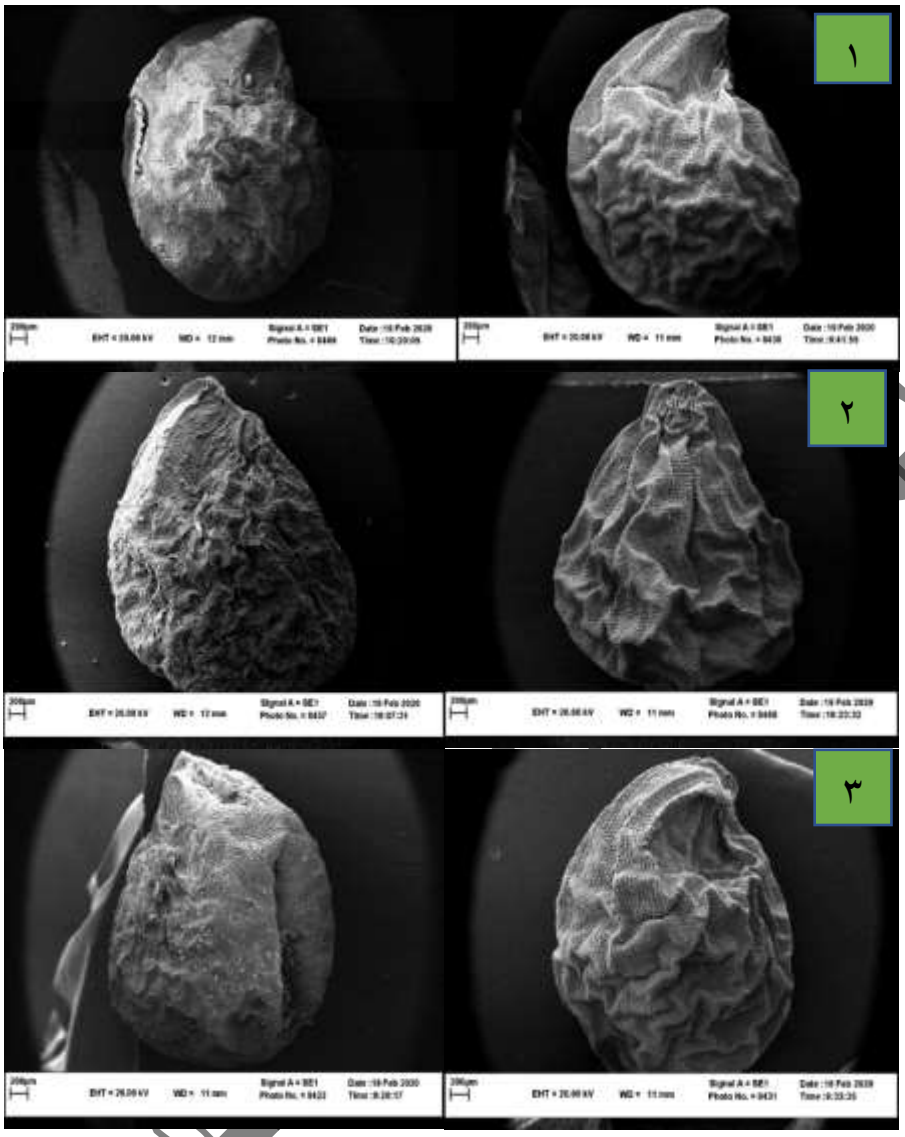


شکل ۱۵، مقایسه‌ی برهمکنش اثرات سه‌گانه‌ی دما، زمان اسیدشویی و جمعیت بر طول ساقه‌چه. ستون‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Figure 15, comparison of the interaction of the three effects of temperature, acid washing time and population on the stem length. Columns with common letters do not have a significant difference at the 5% probability level based on the LSD test.

۳-٤- تصاویر میکروسکوپی

در هر جمعیت، ویژگی‌های ظاهری و پوشش بذور شامل اندازه و شکل دیواره‌ی سلولی به صورت جداگانه با استفاده از میکروسکوپ الکترونی اسکن (نگاره) (SEM) با مقیاس۷۰ میکرومتر، برای ارزیابی تفاوت‌ها، در هر گونه از بذور تیمار شده با اسید سولفوریک و بذور شاهد و تیمار نشده با اسید سولفوریک، در زمان ۱۵ دقیقه اسیدشویی مورد بررسی قرار داده شدند (شکل۱۶) (۱۲ و ۲۴). همچنین عکس‌برداری دقیق‌تر توسط میکروسکوب الکترونی اسکن با بزرگ نمایی‌هایی ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۵۰۰، ۵۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ در هر سه جمعیت، فریدون شهر، تیران و خوانسار مورد بررسی قرار داده شدند (شکل۱۹،۱۸،۱۷).

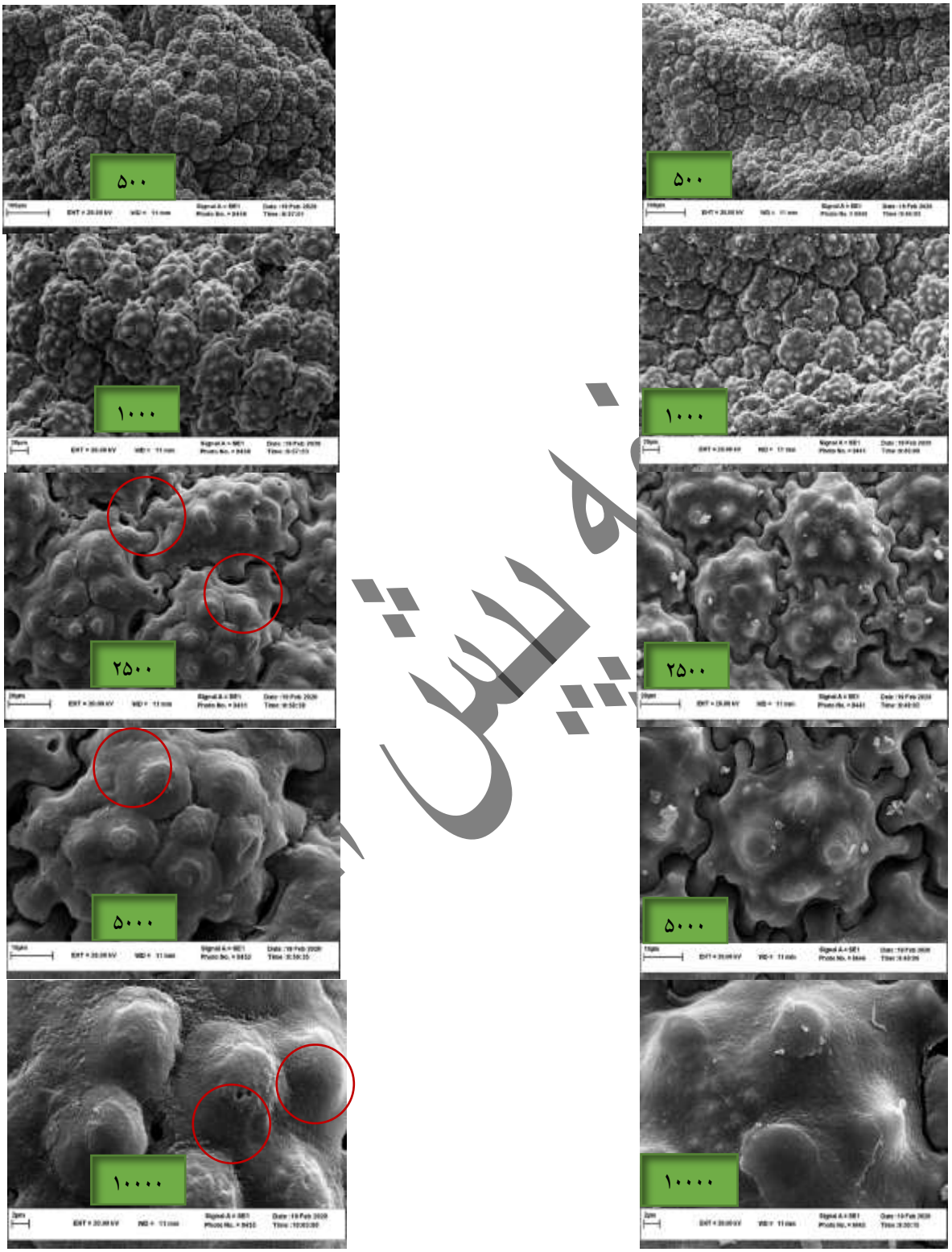


شکل(۱۶): بررسی اثرات تیمارهای اسید شویی بر خصوصیات سطح بذور سه جمعیت موسیر با استفاده از میکروسکوپ الکترونی

Figure (16): Examining the effects of acid washing treatments on the characteristics of the surface of the seeds of three shallot populations using an electron microscope

سمت چپ تیمارهای اسیدشویی به مدت ۱۵ دقیقه و سمت راست، نمونه‌های قبل از اعمال اسیدشویی به ترتیب در جمعیت‌های فریدون شهر(۱)، تیران (۲) و خوانسار(۳)

On the left side, acid washing treatments for 15 minutes and on the right side, the samples before acid washing, respectively, in the populations of Fereydoonshahr (1), Tiran (2) and Khansar (3).

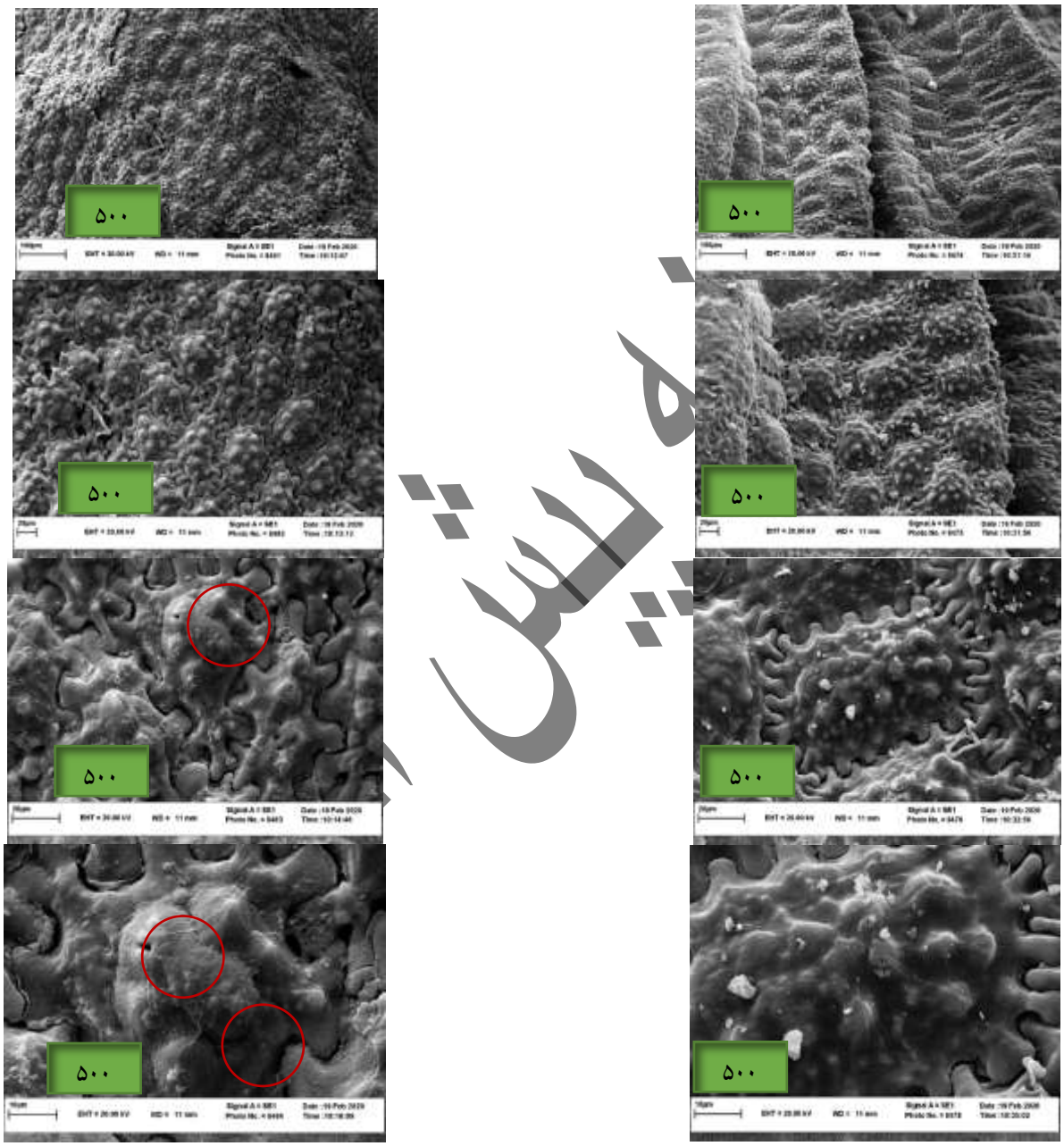


شکل (۱۷): عکس‌برداری توسط میکروسکوب الکترونی با بزرگ نمایی ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۵۰۰، ۵۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ در جمعیت فریدون‌شهر

Figure (17): Photo taken by electron microscope with 500, 1000, 2500, 5000 and 10000 magnification in the population of Fereydoonshahr.

تصاویرسمت چپ، تیمارهای اسیدشویی شده توسط اسید سولفوریک و تصاویر سمت راست تیمار شاهد بدون اسیدشویی

The pictures on the left are the treatments acid washed by sulfuric acid and the pictures on the right are the control treatment without acid washing



شکل (۱۸): عکس‌برداری توسط میکروسکوب الکترونی با بزرگ‌نمایی ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۵۰۰، ۵۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ در جمعیت تیران

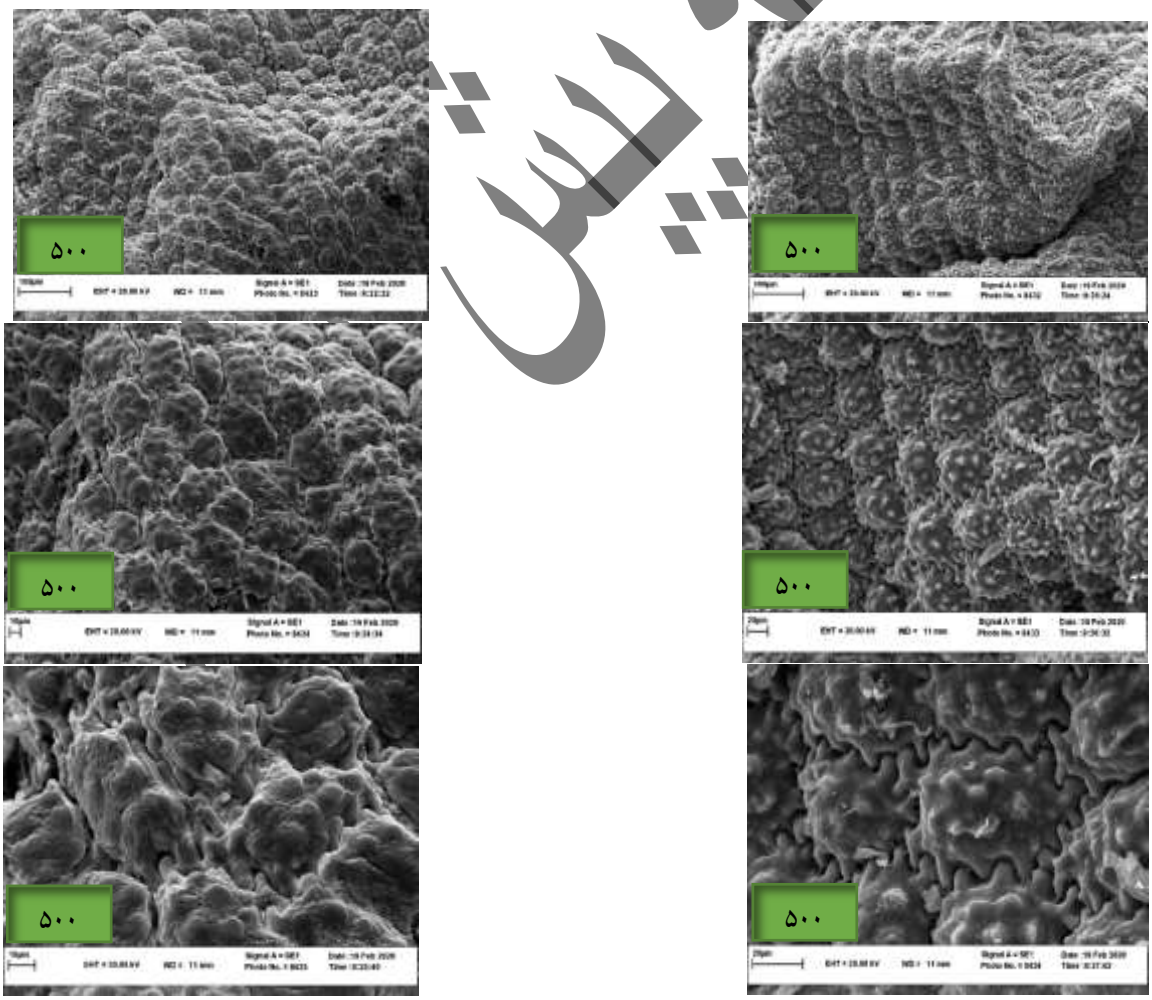
Figure (18): Photography by electron microscope with 500, 1000, 2500, 5000 and 10000 magnification in the population of Tiran

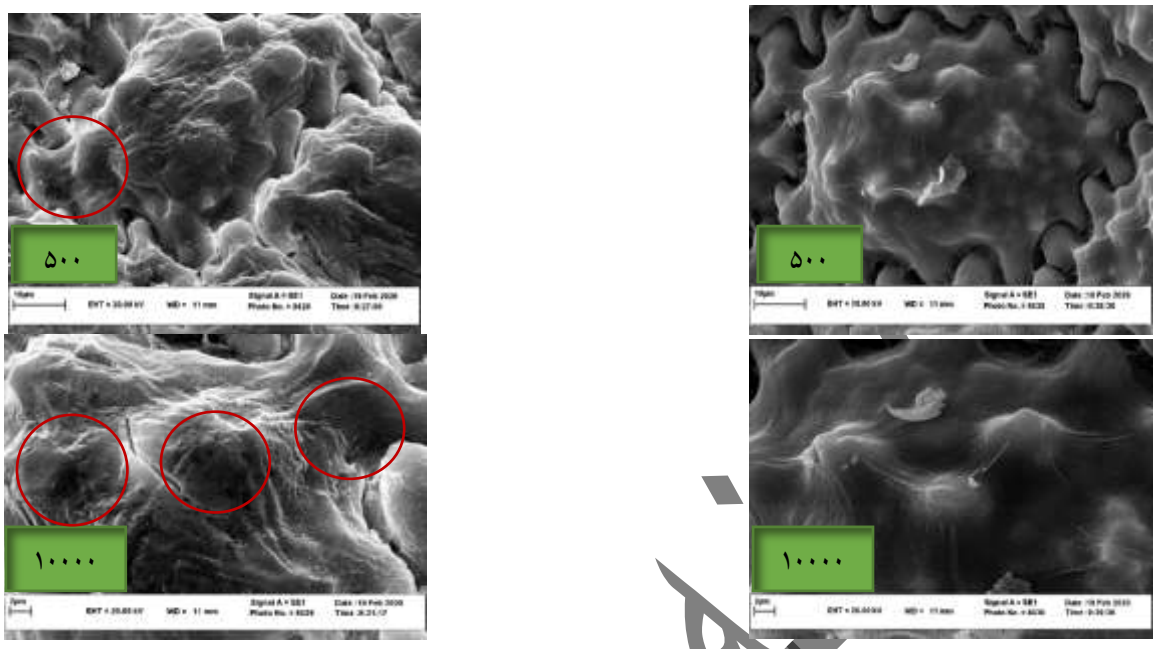
تصاویرسمت چپ، تیمارهای اسیدشویی شده توسط اسید سولفوریک و تصاویر سمت راست، تیمار شاهد بدون اسیدشویی

The images on the left are acid washing treatments by sulfuric acid and the images on the right are the control treatment without acid washing

شکل (۱۹): عکس‌برداری توسط میکروسکوب الکترونی با بزرگ‌نمایی ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۵۰۰، ۵۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ در جمعیت خوانسار

Figure (19): Photography by electron microscope with 500, 1000, 2500, 5000 and 10000 magnification in Khansar population.





تصاویرسمت چپ، تیمارهای اسیدشویی شده توسط اسید سولفوریک و تصاویر سمت راست، تیمار شاهد بدون اسیدشویی

The images on the left are acid washing treatments by sulfuric acid and the images on the right are the control treatment without acid w

با توجه به نتایج به دست آمده در این پژوهش می‌توان اظهار داشت، بذور موسیر ایرانی در توده‌های مورد ارزیابی، دارای دوره‌ی رکود و خواب فیزیکی هستند. جوانه‌زنی در بذور موسیر ایرانی بدون استفاده از تیمار خراش‌دهی (شیمیایی یا مکانیکی) و دمای پایین، به سختی امکان‌پذیر است. همچنین سرعت جوانه‌زنی در بذور موسیر، بسته به تنوع ژنتیکی متفاوت است. بنابراین در این پژوهش، برای بهبود جوانه‌زنی بذور موسیر، استفاده از دمای پایین به وسیله‌ی تیمار سرمادهی و همچنین استفاده از تیمار خراش‌دهی با استفاده از اسید سولفوریک غلیظ ۹۶ درصد، در زمان ۱۵ دقیقه، موجب شد جوانه‌زنی بذور موسیر ایرانی و شاخص‌هایی همچون، درصد جوانه‌زنی، میانگین مدت زمان جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی بهبود پیدا نماید. نتایج نشان داد تأثیر دما، مدت زمان اسیدشویی و جمعیت بذور، برصفاتی نظیر، درصد جوانه‌زنی، سرعت‌جوانه‌زنی، میانگین مدت زمان جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه درسطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. جمعیت فریدون شهر بیشترین درصدجوانه-زنی، سرعت جوانه‌زنی و میانگین مدت زمان جوانه‌زنی را در دمای ۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و زمان ۱۵ دقیقه اسیدشویی داشت. بیشترین طول ساقه‌چه و طول ریشه‌چه به ترتیب در جمعیت تیران با دمای۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و زمان ۱۵ دقیقه اسیدشویی و جمعیت خوانسار با دمای۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و زمان ۵ دقیقه اسیدشویی حاصل شد. نتایج نشان داد تنوع در جمعیت‌های گیاه موسیر ایرانی، تأثیر بسزایی در نحوه‌ی بهبود جوانه‌زنی بذور آنها دارد. نتایج مربوط به میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) نشان داد در هر سه جمعیت بذور موسیر ایرانی، پوسته‌ی بذر، پس از استفاده از تیمار اسیدشویی به وسیله‌ی اسید سولفوریک با زمان ۱۵ دقیقه، تغییرات محسوس نسبت به بذور شاهد نشان دادند. در بزرگ‌نمایی۷۰ میکرومتر، برجستگی‌های سطح تیمار شده توسط اسید سولفوریک ازبین رفته و سطح بذر حالت فرورفتگی و برآمدگی‌های طبیعی خود را نسبت به شاهد ندارد. همچنین نتایج واضح‌تر و دقیق‌تری در شکل‌های(۱۷،۱۸،۱۹) نشان می‌دهد، استفاده از اسید سولفوریک به مدت ۱۵ دقیقه بر روی بذور موسیر ایرانی در هر سه جمعیت، توانسته است، خراش‌دهی را به طور دقیق و کامل انجام دهد. بر اساس تصاویر ریخت‌شناسی جمعیت‌های مختلف موسیر ایرانی توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)، تفاوت معنی‌داری

بین سطوح بذور مشاهده می‌شود. همان طور که در تصاویر مشخص است، در اثر تیمار اسید شویی توسط اسید سولفوریک، در سطح بذور حفره و ساییدگی ایجاد شده و پوسته‌ی بذر حالت خوردگی پیدا کرده است و برجستگی‌های سطح بذر، توسط اسید سولفوریک از بین رفته و شکل طبیعی در آن نسبت را نسب به تیمار شاهد تغییر پیدا کرده است که در مقیاس ۱۰۰۰۰ میکرومتر به خوبی مشخص است. همچنین صفاتی نظیر قطر، طول، حجم و وزن بذور مورد بررسی آماری قرار گرفتند. بذور در هر سه جمعیت به رنگ سیاه مشاهده شد. شکل بذور به صورت تخم مرغی است. نتایج نشان می‌دهد، بذور دو جمعیت تیران و خوانسار، از نظر مشخصات اندازه‌گیری شده، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند ولی بذور جمعیت فریدون شهر کوچکتر از دو جمعیت دیگر است. جوانه‌زنی و خروج ریشه‌چه، تأثیر یکسری از واکنش‌های بیوشیمیایی بوده که توسط بعضی از آنزیم‌های درون بذر، تحت تأثیر دماهای مختلف صورت می‌گیرد (Ahmadi *et al*. 2013). همچنین تفاوت از نظر سرعت جذب آب توسط بذور و همچنین نوع رقم بذور را می‌توان دلیلی بر این موضوع دانست (Dashti *et al*. 2012، Maguire.1962). در پژوهشی که بر روی بذور موسیر ایرانی در سال ۲۰۱۱ انجام گرفت نتایج حاکی از این موضوع بود که به دلیل خواب و دوره‌ی رکود و نیاز سرمایی بذور موسیر، استفاده از دمای پایین برای تسریع در جوانه‌زنی بذور موسیر تأثیر دارد، زیرا دمای پایین موجب می‌شود تا هورمون آبسایزیک اسید در داخل بذر کاهش یافته در مقابل میزان اسید جیبرلیک افزایش یابد و اجازه‌ی جوانه‌زنی جنین را فراهم کند. مطابق این آزمایش دمایی که موجب برطرف کردن خواب بذور موسیر شد، دمای ۵ و۱۰ درجه‌ی سانتی‌گراد بود که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد (Farhadi *et al*. 2017). در پژوهش انجام گرفته در سال ۲۰۰۶ میلادی که بر روی بذور سیر انجام گرفت نتایج نشان داد، خانواده‌ی Allium برای جوانه‌زنی بذور دارای خواب و رکود بوده و بایستی این دوره‌ی رکود توسط روش‌هایی برطرف گردد. در این پژوهش با استفاده از هورمون اسید جیبرلیک اقدام به برطرف نمودن خواب و افزایش جوانه‌زنی در بذور سیر نمودند که نتایج نشان داد: هورمون اسید جیبرلیک سبب افزایش جوانه‌زنی در بذور سیر شده است (Shahgholi *et al*. 2014). در پژوهش دیگری که در سال ۲۰۱۴ میلادی بر روی بذور موسیر انجام گرفت، نتایج حاکی از این بود که برای بهبود و افزایش جوانه‌زنی بذور موسیر استفاده‌ی همزمان از اسید سولفوریک ۱۵ دقیقه و دمای پایین موجب بهبود و افزایش سرعت و درصد جوانه‌زنی بذور موسیر شد که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد (Sharifi *et al*. 2014). در پژوهشی که در سال ۲۰۱۲ میلادی بر روی بذور گونه‌های مختلف از پیاز از خانواده‌ی Allium با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) برای بررسی دقیق صفات ریخت شناسی بذور این گونه صورت گرفت نتایج نشان داد، بذرهای هر گونه، داری تنوع در اندازه‌ی شکل سلول و تزئینات یوسته‌ی بذر، طول و قطر بذر هستند. و تنوع در صفات در پوسته‌ی بذر عاملی برای مشخص کردن و طبقه‌بندی و تشخیص گونه‌ها است (CLARKE *et al*. 1980). در پژوهشی که در سال ۲۰۰۹ میلادی بر روی گروهی از بذور خانواده‌ی Allium با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) انجام گرفت، نتایج حاکی از این بود که عموماً شکل بذور تخم‌مرغی و به رنگ سیاه بوده و الگوی پوسته‌ی بذر در این گونه‌ها متفاوت و در بعضی دیگر مشابهت‌هایی دارد (PIRBALOUTI *et al*. 2015).

فهرست منابع:

1- Ahmadi, A. Yazidi Samadi, B., Zargarnetaj, J. (2013). The effect of low temperature on seed germination and seedling physiological

characteristics of three varieties of winter wheat. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources.. 2. 117-126

2- Omid Beigi, R. (2015). Production and processing of medicinal plants, volume (1). Astan Quds Razavi Publications.

3- Pourali, F., Ghaderi Far, F., Soltani, A., Pahlavani, M. H. (2017). Comparison of different models to determine the time to 50% of maximum germination: a case study on cotton seeds (Gossypium hirstum). Iranian seed research. fifth year. Second Issue.

4- Khoshkhovi, M., Shibani, B., Rouhani, A., Tafzali, A. (2015). Principles of gardening. Shiraz University Publishing Center.

5- Rizvan Beidokhti, sh. Heydari, Z. Heydari, Z. Darbanian, M. Yazidi, A. (2018). Evaluation of different treatments to break dormancy and stimulate the germination of medicinal-industrial shallot seeds. The second national seed science and technology conference.

6- Sharifi, H. Nemati, A. Gardkaneh, M. (2014). Investigating the effects of breaking dormancy on the characteristics of seed germination of two species of medicinal plants: Shallot (Allium altissimum) and Runas (Rubia tinctorum). Journal of Seed Ecophysiology. first volume. Second Issue. 105-116.

7- Shams, M. (2013). Investigating the ingredients in Hamedan shallot essential oil and comparing it with Isfahan shallot. Doctoral thesis in the field of pharmacy. medical University Tehran.

8- Mahmoudi Maimand, M., Ghanbari Adivi, A. (2013). A new approach to the management of pistachio planting, planting and harvesting. Niusheh Publications.

9- Aleebrahim-Dehkordy, E., Abdollah Ghasemi-Pirbalouti, and Mahmoud Mirhoseini. Acomprehensive review on Allium hirtifolium Boiss as a medicinal and edible plant. Der Pharmacia Lettre 8.1 (2016): 188-196.

10- Aryakia, E., Karimi, H.R., Naghavi, M.R. and Shahzadeh Fazeli, S.A., 2016. Morphological characterization of intra-and interspecific diversity in some Iranian wild Allium species. Euphytica, 211(2), pp.185-200.

11- Celep, F., Koyuncu, M., Fritsch, R.M., Kahraman, A. and Doğan, M., 2012. Taxonomic importance of seed morphology in Allium (Amaryllidaceae). Systematic Botany, 37(4), pp.893-912

12- CLARKE, J.M., 1980. Measurement of relative water uptake rates of wheat seeds using agar media. Canadian Journal of Plant Science, 60(3), pp.1035-1038.

13- Dashti, F., Ghahremani-Majd, H. and Esna-Ashari, M., 2012. Overcoming seed dormancy of mooseer (Allium hirtifolium) through cold stratification, gibberellic acid, and acid scarification. Journal of Forestry Research, 23(4), pp.707-710.

14- Ebrahimi, R., Hassandokht, M., Zamani, Z., Kashi, A., Roldan-Ruiz, I. and Van Bockstaele, E., 2014. Seed morphogenesis and effect of pretreatments on seed germination of Persian shallot (Allium hirtifolium Boiss.), an endangered medicinal plant. Horticulture, Environment, and Biotechnology, 55(1), pp.19-26.

15- Etemadi, N., Haghighi, M. and Zamani, N., 2011. Optimizing seed germination threatened endemic species of the Persian shallot (Allium hirtifolium boiss.). African Journal of Agricultural Research, 6(22), pp.5133-5138.

16- Farhadi, N., Panahandeh, J., Azar, A.M. and Salte, S.A., 2017. Effects of explant type, growth regulators and light intensity on callus induction and plant regeneration in four ecotypes of Persian shallot (Allium hirtifolium). Scientia Horticulturae, 218, pp.80-86.

17- Ghahremani-majd, Hojat, et al. 2012. Antioxidant and antimicrobial activities of Iranian mooseer (Allium hirtifolium Boiss) populations. Horticulture Environment and Biotechnology 53.2: 116-122.

18- Gholami, M., Rahemi, M. and Kholdebarin, B. 2010. Effect of drought stress induced by polyethylene glycol on seed germination of four wild almond species. Aust. J. Basic App. Sci. 4: 785-791.

19- Hoseinpur Askarian, E., Abbasi Surki, A. and Danesh Shahraki, A., 2019. Effect of Seed Priming with ZnSO4 and FeSO4 on Dormancy Break Optimization and Germination Traits of Shallot (Allium hirtifolium). Iranian Journal of Seed Research, 6(1), pp.33-49.

20- Jafari-Mofidabadi, A., Jafari, I. and Shomali, T., 2013. Sexual Propagation of Persian Shallot (Allium hirtifolium) Through Manual Pollination and In vitro Ovary Germination. J. Med. Plants By-prod, 1, pp.57-60.

21- Lafond, G.P. and Baker, R.J., 1986. Effects of Temperature, Moisture Stress, and Seed Size on Germination of Nine Spring Wheat Cultivars 1. Crop science, 26(3), pp.563-567.

22- Maguire, J.D., 1962. Speed of germination—Aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor 1. Crop science, 2(2), pp.176-177.

23- Neshati, F. and Fritsch, R.M., 2009. Seed characters and testa sculptures of some Iranian Allium L. species (Alliaceae). Feddes Repertorium, 120(5- 6), pp.322-332.
24- PIRBALOUTI, A.G., AHMADZADEH, Y. and MALEKPOOR, F., 2015. Variation in antioxidant, and antibacterial activities and total phenolic content of the bulbs of mooseer (Allium hirtifolium Boiss.). Acta Agriculturae Slovenica, 105(1), pp.15-22.
25- Płażek, A., Dubert, F., Kopeć, P., Dziurka, M., Kalandyk, A., Pastuszak, J. and Wolko, B. 2018. Seed hydropriming and smoke water significantly improve low-temperature germination of Lupinus angustifolius L. Int. J. Mol. Sci. 19: 992
26- Putnik, P., Gabrić, D., Roohinejad, S., Barba, F.J., Granato, D., Mallikarjunan, K., Lorenzo, J.M. and Kovačević, D.B., 2019. An overview of organosulfur compounds from Allium spp.: From processing and preservation to evaluation of their bioavailability, antimicrobial, and anti-inflammatory properties. Food chemistry, 276, pp.680-691.
27- RAHMAN, M.H., HAQUE, M.S., KARIM, M.A. and Ahmed, M., 2006. Effects of gibberellic acid (GA3) on breaking dormancy in garlic (Allium sativum L.). Small, 2(5.83), pp.4-00.
28- Shahgholi, H., Vazirimehr, M.R.V., Hosein Talaei, G. and Rigi, K., 2014. Effect bulb size and two specie mooseer to yield components bulb percent allicin in weather mashha. J Bio & Env Sci, 5(1), pp.236-242.
29- Sharifi-Rad, J., Mnayer, D., Tabanelli, G., Stojanović-Radić, Z.Z., Sharifi-Rad, M., Yousaf, Z., Vallone, L., Setzer, W.N. and Iriti, M., 2016. Plants of the genus Allium as antibacterial agents: From tradition to pharmacy. Cellular and Molecular Biology, 62(9), pp.57-68.