بسم الله الرحمن الرحیم

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور

آزمون‌های
تجزیه بذر گیاهان مرتعی

نگارش:

حمیده جوادی

عضوهیات علمی موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور

۱۴۰۴

عنوان طرح منتج به دستورالعمل	شماره مصوب
پایش جوانه‌زنی ذخائر ژنتیکی بانک ژن منابع طبیعی ایران	۰۰۰۱۴- ۰۲۵- ۰۹- ۰۹- ۰۱

عنوان دستورالعمل: آزمون‌های تجزیه بذر گیاهان مرتعی

نگارش:

حمیده جوادی- استادیار موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران.

مدیر داخلی: فاطمه عباسپور

ویراستار ادبی: اصغر احمدی

صفحه‌آرا: مریم نوبخت

تهیه شده در: مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور/ اداره ترویج و انتقال یافته‌های تحقیقاتی/ بخش تحقیقات گیاه‌شناسی/ گروه بانک ژن منابع طبیعی ایران.

نشانی: بزرگراه تهران-کرج، خروجی پیکانشهر، شهرک سرو آزاد، خیابان شهید گودرزی، بلوار باغ گیاه‌شناسی ملی ایران، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور.

صندوق پستی: ۱۱۶- ۱۳۱۸۵ **تلفن:** ۵- ۰۲۱-۴۴۷۸۷۲۸۲ **وب‌سایت:** www.rifr-ac.ir

شمارگان: الکترونیکی

نوبت و سال انتشار: اول- ۱۴۰۴

این دستورالعمل به شماره ۶۷۱۷۱ در تاریخ ۱۴۰۴/۰۱/۳۰ در مرکز اطلاعات و مدارک علمی کشاورزی به ثبت رسیده است

ISBN : 978-964-473-593-6

❖ **مخاطبان دستورالعمل:**

- **پژوهشگران و کارشناسان منابع طبیعی در حوزه بذر**

❖ **شما با مطالعه این دستورالعمل با موارد زیر آشنا می‌شوید:**

- **دستورالعمل آزمون‌های مورد استفاده در آزمایشگاه تجزیه بذر، برای ارزیابی کمیت و کیفیت بذرها**

فهرست

چکیده..... ۱
مقدمه..... ۲
آزمون‌های بذر..... ۴
آزمون‌های فیزیکی بذر..... ۴
آزمون‌های زنده بودن بذر..... ۲۰
آزمون‌های سلامت بذر..... ۲۸
آزمون‌های تعیین قدرت بذر..... ۳۲
آزمون‌های استرس یا تنش..... ۵۴
نتیجه‌گیری..... ۵۹
روش‌های شکستن خواب در گیاهان منابع طبیعی..... ۵۹

چکیده

آزمون‌های بذر به ارزیابی ویژگی‌های کمی و کیفی بذر گیاهان زراعی، مرتعی و دارویی که باید برای فروش و یا کاشت، ارائه شوند، گفته می‌شود و خطر عرضه و کاشت بذرهای با کیفیت پایین را به حداقل می‌رساند. هدف اصلی این آزمون‌ها، سنجش بنیه بذر است. بنیه بذر عبارت است از مجموع آن دسته از خواص بذر، که میزان فعالیت و عملکرد بذر یا تعداد بذر را در زمان جوانه‌زنی و سبزشدن گیاهچه تعیین می‌کند. بنیه بذر یک پارامتر کیفی مهم است که باید برای تکمیل آن، آزمون‌های جوانه‌زنی و زنده‌مانی ارزیابی شود تا بینشی در مورد عملکرد بذر در مزرعه یا ذخیره‌سازی به دست آید. آزمون بنیه بذر، اطلاعات ارزشمندی را برای ارزیابی کیفیت بذر فراهم می‌کند. با این حال، بیشتر آزمون‌های قدرت بذر به دلیل ذهنی بودن، هزینه بالا و تنوع در نتایج آزمون از آزمایشگاهی به آزمایشگاه دیگر، کاربرد گسترده‌ای ندارند. آزمون‌های بذر نشان می‌دهند که آیا یک محصول بذر ارزش جمع‌آوری دارد یا خیر، آیا روش‌های جابه‌جایی صحیح است و چه تعداد نهال بالقوه برای بازسازی در دسترس است.

آزمون‌های بذر که در آزمایشگاه بذر اجرا می‌شوند در چند گروه قرار می‌گیرند که شامل: آزمون‌های فیزیکی بذر، آزمون‌های زنده‌بودن بذر، آزمون‌های سلامت بذر، آزمون‌های قدرت بذر و سایر آزمون‌ها، که بیشتر این آزمون‌ها در آزمایشگاه تجزیه بذر که روش کار آنها مطابق با استانداردهای بین‌المللی ایستا (ISTA) است انجام می‌شود.

در این کتابچه، با انواع آزمون‌های قابل اجرا در آزمایشگاه تجزیه بذر آشنا و روش کار هریک توضیح داده می‌شود. امید است که مورد استقبال کارشناسان و علاقه‌مندان در عرصه بذر قرار گیرد.

مقدمه

طبق تعریف انجمن بین‌المللی تکنولوژی بذر ISTA (International Seed Technology Association)، بنیه بذر آن دسته از خصوصیات بذر است که ظرفیت ظهور سریع، یکنواخت و نمو نهال‌های معمولی را در طیف وسیعی از شرایط مزرعه تعیین می‌کند و طبق تعریف انجمن تحلیل‌گران رسمی بذر AOSA (Association of Official Seed Analyst)، بنیه بذر مجموع خواصی است که سطح بالقوه فعالیت و عملکرد بذر یا تعداد بذر را در طول جوانه‌زنی و سبز شدن گیاهچه تعیین می‌کند. بذرها قبل از اینکه به بازار عرضه شوند باید از لحاظ کیفی (درجه خلوص، جوانه‌زنی) و سالم‌بودن ارزیابی شوند. برای این ارزیابی، از روش‌های بین‌المللی ایستا (ISTA)، استفاده می‌شود. نتایج حاصل از این آزمون‌ها، توسط خریداران و فروشندگان بذر پذیرفته می‌شود. آزمون‌های بذر، روش‌های استاندارد شده‌ای هستند که برای تعیین کیفیت بذرها استفاده می‌شوند. برای این منظور، لازم است آزمون‌های کیفی بر روی نمونه کوچکی از بذر که معرف کل توده بذر است، انجام شود. عنوان استاندارد و گواهی به بذری تعلق می‌گیرد که نتایج آزمون‌های بذر انجام شده بر روی نمونه‌های معرف آن بذر، حدود مجاز استانداردهای تعیین شده آن بذر را تأیید نماید. برای انجام آزمون‌های بذر، باید از نمونه ارسالی به آزمایشگاه، نمونه آزمون انتخاب گردد که به این عمل نمونه‌برداری گفته می‌شود. برای داشتن نمونه معرف یک توده بذری، لازم است نمونه‌برداری به روش استاندارد توسط کارشناس نمونه‌بردار انجام شود. نمونه‌برداری از بذر با هدف به دست آوردن نمونه‌ای با اندازه مورد نیاز و متشکل از اجزای مشابه کل بذر، انجام می‌شود. مقدار بذر آزمون‌شده در آزمایشگاه در مقایسه با اندازه بذری که برای نشان‌دادن آن در نظر گرفته شده است، کم است. در نتیجه، تمام تلاش باید انجام شود تا اطمینان حاصل گردد که نمونه ارسال‌شده به آزمایشگاه بذر، به‌طور دقیق نشان‌دهنده مقدار بذر مورد نظر است. نمونه‌برداری از بذر، کلید دستیابی به نتایج دقیق آزمون‌های بذر است. یک

نمونه بذر باید نماینده کل بذر باشد. بنابراین، بسیار مهم است که نمونه‌های مورد استفاده برای آزمون، نمایندگان قابل اعتمادی از بذر باشند، و این نیاز به روش‌های نمونه‌برداری استاندارد دارد. سازمان‌های آزمون بذر مانند انجمن بین‌المللی تکنولوژی بذر (ISTA) و انجمن تحلیل‌گران رسمی بذر (AOSA)، قوانین و روش‌های خاصی را برای نمونه‌برداری از بذر، برای ارزیابی صفات کیفیت بذر مانند جوانه‌زنی، خلوص فیزیکی و آزمایش سلامت بذر ایجاد کرده‌اند. هدف از نمونه‌برداری بذر، به‌دست آوردن نمونه‌ای با اندازه مناسب برای آزمون‌هاست. در نمونه‌برداری دو ملاحظه را باید در نظر گرفت: اولاً به دست آوردن نمونه آزمون، که به‌طور دقیق ترکیب کلی بذر را نشان دهد و ثانیاً به خاطر داشته باشید که صرف‌نظر از اینکه تجزیه‌وتحلیل چقدر دقیق انجام می‌شود، نتایج براساس استانداردهای تعریف‌شده ایستا (ISTA) برای بذر است.

انواع نمونه بذر

نمونه اولیه: نمونه‌های کوچک با اندازه مساوی از تعداد زیادی بذر است که به‌طور تصادفی از مکان‌های مختلف بذر گرفته شده است.

نمونه مرکب یا ترکیبی: از ترکیب و اختلاط تمام نمونه‌های اولیه به‌دست می‌آید، یا نمونه‌ای از قطعه بذر با برداشتن قطعات کوچک به‌طور تصادفی از موقعیت‌های مختلف بذر و ترکیب آنهاست.

نمونه ارسالی: نمونه‌ای که به آزمایشگاه آزمون بذر ارسال و از نمونه مرکب تهیه می‌شود.

نمونه کار: نمونه کار، تمام یا بخشی از نمونه ارسالی است که آزمون روی آن انجام می‌شود.

مقدار بذر: مقدار مشخصی از بذر قابل شناسایی فیزیکی است که می‌توان برای آن گواهی آزمون بذر صادر کرد.

آزمون‌های بذر

آزمون‌هایی که در آزمایشگاه بذر انجام می‌شوند در پنج گروه قرار می‌گیرند:

- ✓ آزمون‌های فیزیکی بذر
- ✓ آزمون‌های زنده‌بودن بذر
- ✓ آزمون‌های سلامت بذر
- ✓ آزمون‌های قدرت بذر
- ✓ آزمون‌های تنش یا استرس‌زا

آزمون‌های فیزیکی بذر

این آزمون‌ها شامل: آزمون تعیین تعداد بذر، آزمون خلوص بذر، آزمون تعیین وزن هزاردانه، آزمون تعیین رطوبت داخلی بذر.

آزمون خلوص بذر (Purity): خالص بودن و یا کیفیت یک محصول را نشان می‌دهد.

آزمون خلوص شامل: آزمون خلوص فیزیکی و آزمون خلوص ژنتیکی

آزمون خلوص فیزیکی: خلوص فیزیکی بیانگر میزان تمیز بودن بذر است.

آزمون تعیین خلوص فیزیکی بذر، اولین آزمونی است که باید انجام شود. زیرا نمونه‌های بذری، با وجود گزینه‌های متعددی که در تمیزکردن و بوجاری بذر وجود دارد (ماشین‌آلات و دستگاه‌های مختلف)، حاوی ناخالصی‌هایی مانند بذر علف‌های هرز، بذر سایر گونه‌های گیاهی، ساختارهایی که از بذر جدا شده‌اند، ذرات برگ و سایر مواد بوده و همیشه نمی‌توان بذرهای خالص را به‌طور کامل از ضایعات و ناخالصی‌ها جدا کرد. این موضوع به‌ویژه زمانی اتفاق می‌افتد

که ناخالصی‌ها یا بذرهای سایر گیاهانی که قرار است از نمونه اصلی حذف شوند، ویژگی‌های فیزیکی بسیار شبیه به بذرهای خالص دارند.

بنابراین هدف از آزمون خلوص فیزیکی، تعیین ترکیب نمونه بذر و تعیین هویت گونه‌های مختلف بذرها و ذرات بی‌اثر تشکیل دهنده نمونه، براساس وزن و یا تعداد است. بنابراین مهم است که خلوص نمونه اصلی پس از تمیز کردن و بوجاری کنترل شود.

بنابراین آزمون خلوص فیزیکی به دو روش قابل اجرا است: درصدی و عددی (تعداد بذر). در روش درصدی، اجزای تشکیل‌دهنده نمونه بذری، به‌صورت درصد از کل و در روش عددی، به‌صورت تعداد از کل بیان می‌شوند.

دستگاه‌های مورد نیاز برای آزمون تعیین خلوص فیزیکی بذر

- ✓ میز کار یا صفحه کار خلوص با چراغ رومیزی: صفحه‌کار که با منبع نور در پس‌زمینه می‌باشد و جداسازی آسان اجزای مختلف را تسهیل می‌کند. همچنین به تشخیص بهتر پریکارپ‌های رنگی از سفید و دانه‌های کوتاه، بلند، باریک و متوسط از یکدیگر کمک می‌کند.
- ✓ تقسیم‌کننده بذر (مقسم بذر): مقسم بذر دستگاهی است که نمونه بذر را به نمونه‌های مساوی کوچکتر تقسیم می‌کند. این کار ممکن است به‌صورت مکانیکی و یا الکترونیکی (با استفاده از نیروی گریز از مرکز) انجام شود.
- ✓ دمنده بذر: برای حذف مواد بی‌اثر سبک وزن از بذرها استفاده می‌شود. نمونه کار در قسمت پایین لوله نگهداری می‌شود و جریان یکنواخت هوا به سمت بالا تا مدت زمان تعیین شده تنظیم می‌گردد. مواد سبک‌تر با جریان هوا از نمونه جدا شده و در

پارتیشن موجود در لوله دمنده ته‌نشین می‌شود. لوله برداشته‌شده و مواد بی‌اثر جمع‌آوری می‌شوند.

- ✓ الک (ها)
- ✓ پنس و کاردک
- ✓ ظروف آلومینیومی
- ✓ ذره‌بین (۵ تا ۷ برابر)
- ✓ میکروسکوپ دوچشمی استریوسکوپی
- ✓ شیشه ساعت
- ✓ ترازوی دیجیتال

اقدامات لازم قبل از انجام آزمون

قبل از برداشتن نمونه کار (Working Sample)، باید نمونه بذری همگن شود. برای این کار، از تقسیم‌کننده بذر (Seed divider) استفاده می‌شود. دستورالعمل‌های زیر را دنبال کنید.

- ✓ تمیز بودن تقسیم‌کننده و ظروف را بررسی کنید.
- ✓ کل نمونه بذر را در قیف ظرف تقسیم‌کننده بریزید.
- ✓ اجازه دهید محتوای نمونه بذر از بدنه اصلی تقسیم‌کننده عبور کند.
- ✓ محتویات هر دو ظرف دریافت نمونه را، دوباره با هم ترکیب کرده و دوباره آن را از تقسیم‌کننده عبور دهید.
- ✓ این فرایند را دو بار تکرار کنید تا نمونه ارسالی همگن شود.
- ✓ نمونه بذر ارسالی را تقسیم کنید.
- ✓ محتویات یک ظرف را کنار بگذارید.
- ✓ سپس محتویات ظرف دیگر را تقسیم کنید تا وزن نمونه کار به دست آید.

روش کار

۱) یک نمونه کار تقریباً ۲۵۰۰ عدد و یا ۱۰۰ گرم از بذر را جدا کنید.

۲) ترکیب نمونه کار را براساس مواد زیر تقسیم کنید. نمونه را روی میز پهن کنید و تمام بذرهای خالص را به‌صورت دستی با موچین جدا کنید یا ناخالصی‌ها را با دمیدن، الک‌کردن و یا حرکت‌دادن در سطح شیب‌دار جدا کنید. برای این منظور، می‌توان از دمنده برای جداسازی اجزای نمونه براساس چگالی استفاده کرد. مواد سبک (کاه، دانه‌های خالی، مواد خنثی سبک و غیره) در بالا و داخل یک فنجان جمع‌آوری می‌شوند، در حالی که مواد سنگین‌تر (بذرهای کامل، سنگ‌ها، چوب‌ها و غیره) در قسمت پایینی باقی می‌مانند. یا از یک دوربین دوچشمی برای مشاهده دقیق‌تر نمونه استفاده می‌شود. نوری که از بالا می‌تابد به تحلیل‌گر اجازه می‌دهد تا ویژگی‌های خارجی بذرها را ببیند، درحالی‌که نور از پایین می‌تابد، دید را برای جداسازی اجزای بذرها فراهم می‌کند.

کل نمونه بذری از لحاظ اجزای تشکیل دهنده به چهار قسمت تقسیم می‌شود.

اجزای تجزیه‌وتحلیل خلوص فیزیکی بذر

بذر خالص: بذرهایی از نوع گونه‌ای که مورد هدف آزمون بوده و یا در نمونه غالب هستند.

بذر سایر گیاهان: بذر گیاهانی که به‌عنوان محصولات فرعی غیر از محصول اصلی هستند.

بذر علف‌های هرز: بذر یک گونه علف هرز که طبق قانون/ عرف عمومی، به‌عنوان علف‌های هرز شناخته می‌شود.

ماده بی‌اثر: تمام مواد و ساختارهای هستند که به‌عنوان بذر خالص، بذر سایر گیاهان و یا بذر علف‌های هرز تعریف نشده‌اند. پس از تأیید همه اجزاء، هر قسمت وزن و ثبت شده و با استفاده از فرمول‌های زیر به‌صورت درصد از کل محاسبه می‌گردند (شکل ۱).

شکل ۱. جداسازی اجزای تشکیل‌دهنده نمونه بذری

(از گیاه پیاز کویری *Allium bungei* به‌صورت بصری و توزین هریک از اجزا)

میزان خلوص بذر براساس وزنی از طریق رابطه زیر محاسبه می‌گردد.

$$1)\ P\% = \frac{WPS}{WWS} \times 100$$

P % =درصد خلوص

WPS (Weight of Pure Seeds)= وزن بذرهای خالص

WWS (Weight of Working Sample)= وزن کل نمونه کار

وزن برحسب درصد تا یک رقم اعشار بیان می‌شود (جدول ۱). همه اجزا باید به ۱۰۰ درصد اضافه شوند. نتیجه تجزیه‌وتحلیل خلوص به‌صورت درصد برای هر کسری و با دقت یک رقم اعشار گزارش می‌شود. برای این منظور، می‌توان از جدول ۱ استفاده کرد.

جدول ۱. تعیین میزان اعشار برای وزن

وزن نمونه کار (گرم)	تعداد اعشار	مثال
کمتر از یک گرم	۴	۰/۹۰۲۵
۱ تا ۹/۹۹ گرم	۳	۹/۰۲۵
۱۰ تا ۹۹/۹۹	۲	۹۰/۲۵
۱۰۰ تا ۹۹۹/۹۹	۱	۹۰۲/۵
۱۰۰۰یا بیشتر	۰	۱۰۲۵

میزان خلوص بذر براساس تعداد از طریق رابطه زیر محاسبه می‌گردد.

$$2)\ P\% = \frac{NPS}{NTS} \times 100$$

P % =درصد خلوص

NPS (Number of Pure Seeds) =تعداد بذرهای خالص

NTS (Number of Total Seeds) =تعداد کل بذرها (خالص و ناخالص)

مثال: در نمونه بذر ارسالی به بانک ژن، بذر گیاه *Paracaryum persicum* با کد بانک ژن ۵۰۷۰۴، وزن کل نمونه ۶/۴۸ گرم (وزن بذر خالص: ۳/۸۹ و وزن بذرهای ناخالص: ۲/۵۹ گرم) و تعداد کل دانه‌ها (خالص و ناخالص) ۲۳۳۲ عدد است (با محاسبه وزن هزاردانه، تعداد کل دانه‌ها به‌دست می‌آید).

شکل ۲. نمونه بذر گیاه *paracaryum persicum* با کد بانک ژن ۵۰۷۰۴

محاسبه درصد خلوص وزنی طبق فرمول ۱

درجه خلوص وزنی = (۳/۸۹ ÷ ۶/۴۸) ×۱۰۰ - ٪۶۰

محاسبه درصد خلوص عددی طبق فرمول ۲

در یک گرم نمونه، تعداد کل دانه‌های خالص، ۲۱۴ عدد و در کل نمونه (۶/۴۸ گرم)، ۱۳۸۸ عدد خواهد بود. بنابراین خلوص نمونه از طریق فرمول زیر محاسبه می‌شود.

درجه خلوص عددی = (۱۳۸۸ ÷ ۲۳۲۳) × ۱۰۰ - ۵۹٪ ÷ ۷۵

درجه خلوص این نمونه بذری ۶۰ درصد می‌باشد.

آزمون خلوص ژنتیکی

روش کلاسیک شامل آزمون‌های کشت می‌باشد. این آزمون‌ها شامل کشت یک نمونه از بذر در گلخانه و یا خزانه، برای ارزیابی رشد و نمو بوته در مقایسه با دیسکریپتور رقم می‌باشد. عیب این آزمون، زمان انجام آن می‌باشد. زیرا مواد ژنتیکی ممکن است در محیطی ارزیابی شوند که سازگاری به آن ندارند و منجر به مشکلات بیشتری در تشخیص بوته‌های خارج از تیپ گردد. امروزه تکنیک‌های آزمایشگاهی مانند الکتروفورز ژل نشاسته در دسترس می‌باشند که می‌توان با استفاده از آنها، اقدام به تعیین خلوص ژنتیکی کرد. مزیت این تکنیک‌ها، سرعت و دقت بالای آن و عیب آنها هزینه بالا و پیچیدگی اجرای آزمون می‌باشد.

آزمون تعیین وزن هزاردانه (Thousand Seed Weight)

به دو روش می‌توان وزن هزار دانه را محاسبه کرد:

۱) هزار عدد بذر در سه تکرار از هر نمونه بذر شمارش و توزین شده و میانگین وزن هزار بذر برای هر نمونه بذر محاسبه و برحسب گرم بیان می‌شود.

۲) یا می‌توان وزن کل نمونه بذر را برحسب گرم بر تعداد کل بذرها تقسیم و بعد در ۱۰۰۰ ضرب کرد.

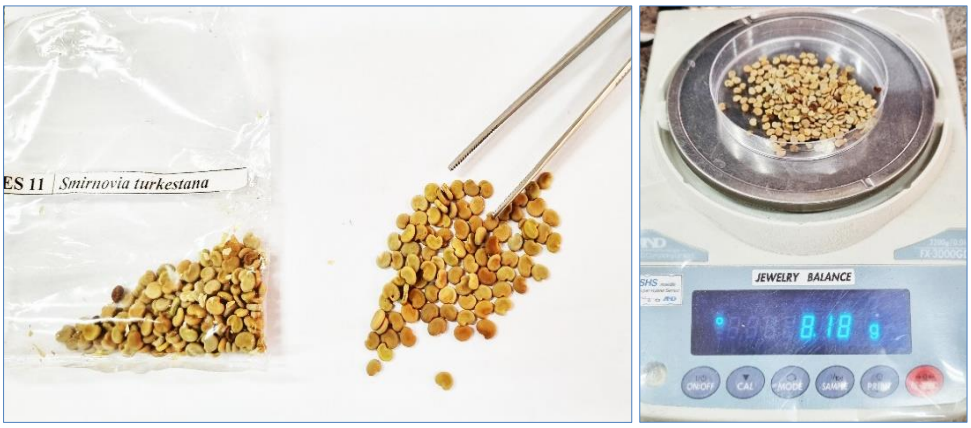
$$3)\ TSW = \frac{W}{S} \times 1000$$

TSW= وزن هزار دانه

W= وزن کل نمونه بذر

S= تعداد بذر

در صورتی که بذرها خیلی ریز بوده و یا تعداد نمونه‌های ارسالی زیاد و مستلزم صرف وقت و انرژی زیاد باشد می‌توان به‌جای ۱۰۰۰ دانه، ۱۰۰ دانه را جدا و توزین کرد و بعد عدد به‌دست‌آمده را در ۱۰ ضرب نمود (شکل ۳).



شکل ۳. جداسازی بذرها از نمونه برای تعیین وزن هزاردانه

مثال: اگر وزن کل نمونه بذر ۴۰۰ گرم و تعداد بذر در نمونه ۵۰۰ عدد باشد، وزن هزار دانه برابر با:

وزن هزار دانه = (۴۰۰÷ ۵۰۰) ×۱۰۰= ۸۰ (گرم)

آزمون تعیین تعداد بذر

تعیین تعداد بذر، بر روی بخش خالص بذر، از آزمایش خلوص انجام می‌شود. طبق قوانین AOSA و ISTA برای تعیین تعداد بذر، می‌توان از دو روش استفاده کرد.

بذرشمار مکانیکی

بذرشمارهای مکانیکی با استفاده از یک نمونه کنترل شناخته شده از همان گونه که قرار است شمارش شود، کالیبره می‌شوند. برای این منظور، باید بذرها در یک کیسه ضد رطوبت ارسال شوند.

استفاده از روش غیرمکانیکی

در این روش، کاربر می‌بایست مقداری بذر را در دستگاه بذرشمار ریخته و تعدادی که نیاز دارد در صفحه نمایش تنظیم نماید تا دستگاه بذرشمار به همان اندازه بذر را شمارش کرده و جدا نماید. با داشتن وزن هزاردانه و درجه خلوص بذر، می‌توان تعداد بذر را محاسبه کرد.

برای تعیین تعداد بذر مراحل زیر را دنبال کنید:

- ✓ هزار دانه از نمونه بذر را جدا و وزن کنید (A)
- ✓ عدد به‌دست آمده را بر ۱۰۰۰ تقسیم تا وزن یک دانه به‌دست آید. A÷۱۰۰۰=B
- ✓ کل نمونه بذر را وزن کنید (C)
- ✓ عدد به‌دست آمده (C) را بر وزن یک بذر یا دانه (B) تقسیم کنید تا تعداد بذر به‌دست آید.

تعداد بذر = C÷B

و یا می‌توان از فرمول ۴ برای تعیین تعداد بذر در نمونه استفاده کرد.

$$4)\ NSP = \frac{WTS \times P}{WTS} \times 100$$

NSP(Number Seed based purity)= تعداد بذر برحسب درجه خلوص

WTS (Weight Thousand Seeds)= وزن هزار دانه

P= درجه خلوص

آزمون تعیین رطوبت داخلی بذر

از زمان برداشت تا زمان کاشت، رطوبت بذر متفاوت است و اگر برای هر دوره زمانی، مقدار آن از سطوح بحرانی خاصی بالاتر رود، احتمال خطر یا تحریک نامطلوب فرایندهای فیزیولوژیکی درون بذر و ضعیف‌شدن و از دست رفتن قابلیت زنده‌مانی بذر وجود دارد. بنابراین برای تصمیم‌گیری در مورد اینکه آیا بذرها باید قبل از ذخیره‌سازی یا بسته‌بندی خشک شوند، آگاهی از میزان رطوبت لازم است. رطوبت بذر را می‌توان براساس وزن تر یا وزن خشک بیان کرد، اما در آزمایشگاه بذر، همیشه براساس وزن تر بیان می‌شود. آزمون رطوبت باید ظرف ۲۴ ساعت پس از دریافت بذر آغاز شود.

میزان رطوبت، نشان‌دهنده مقدار آب موجود در بذر است و معمولاً به‌صورت درصد براساس وزن مرطوب بیان می‌شود، تقریباً با هر جنبه‌ای از بذرها و عملکردهای فیزیولوژیکی آنها ازجمله بلوغ، طول عمر، قدرت و آسیب ناشی از گرما، حشرات و عوامل بیماری‌زا مرتبط است (Elias *et al*., 2012). اصل مورد استفاده در تعیین رطوبت، این است که اطمینان حاصل شود که رطوبت بذر تا حد امکان حذف شده و هیچ فضایی برای اکسیداسیون، از بین رفتن سایر مواد فرار یا تجزیه وجود ندارد (Tang *et al*., 2000).

نمونه ارسالی تنها در صورتی برای تعیین رطوبت پذیرفته می‌شود که در یک ظرف ضد بخار با حداقل فضای هوا، مهروموم شده باشد. اگر رطوبت نمونه مورد آزمون، بیش از ۱۷ درصد باشد، قبل از آسیاب‌کردن، پیش خشک کردن (خشک‌کردن اولیه) ضروریست.

روش‌های تعیین رطوبت بذر شامل: روش مستقیم (غیرمخرب) و روش غیرمستقیم (مخرب) می‌باشد.

روش مستقیم یا غیرمخرب

در این روش، بذرها به همین صورت (بدون آسیب) باقی می‌مانند و پس از آزمون قابل استفاده هستند. اگرچه این روش سریع است اما روش دقیقی نیست. انواع مختلفی از رطوبت‌سنج‌ها برای این منظور و تعیین میزان رطوبت بذرها در بازار موجود است که می‌توان به رطوبت‌سنج Steinlite، رطوبت‌سنج دیجیتال، رطوبت‌سنج مادون قرمز، رطوبت‌سنج Koster، رطوبت‌سنج Farmi-35 و غیره اشاره کرد. اساس کار دستگاه‌های رطوبت‌سنج، براساس مقاومت الکتریکی است که مقدار رطوبت موجود در بذر ایجاد می‌کند.

روش‌های غیرمستقیم یا مخرب

در این روش بذرها آسیب می‌بینند (قابلیت زنده‌مانی کاملاً از بین می‌رود) و قابل استفاده دوباره نیستند. اصل این روش‌ها حذف آب از نمونه با حرارت دادن، خشک‌کردن یا عملیات شیمیایی بر روی بذرهاست. روش کارل فیشر، روش تیتراسیون تولوئن، روش پنتا اکسید فسفر، روش آون با هوای گرم و غیره جزء این روش‌ها هستند.

- ✓ روش رسمی آون با هوای گرم توسط ISTA برای تعیین رطوبت بذر توصیه شده است.
- ✓ روش استفاده از آون (هوای گرم): دو روش زیر برای روش آون (هوای گرم و بسته)، با توجه به دما و مدت زمان خشک‌کردن وجود دارد.

روش دمای ثابت بالا با زمان کمتر

در این روش بیشتر بذرها در دمای ۱۳۰±۱ درجه سانتی‌گراد در آون به‌مدت یک ساعت خشک می‌شوند. از این روش برای تعیین رطوبت بذرهای موجود در بانک ژن، مثل بذر گیاهان مرتعی (جو، یونجه، آگروپایرون) و گیاهان دارویی (بومادران، بابونه، نعناع) استفاده می‌شود.

روش دمای ثابت پایین با زمان طولانی

دانه‌های حاوی روغن در دمای ۱۰۳±۱ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۷ ساعت بدون آسیاب خشک می‌شوند.

ابزار مورد نیاز

- ✓ کوره برقی یا آون: کوره باید به صورت الکتریکی گرم شود و باید قابلیت نگهداری به گونه‌ای داشته باشد که دمای اجاق را که روی ۱۰۳ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده است در کمتر از ۳۰ دقیقه پس از بازکردن درب و قراردادن نمونه‌ها در داخل آن دوباره به‌دست آید. دمای داخل باید یکنواخت باشد و در هنگام کار در نوسان نباشد.
- ✓ ترازوی دیجیتال: ترازو باید بتواند با دقت حداقل ۰/۰۰۱± گرم وزن کند.
- ✓ آسیاب
- ✓ ظروف توزین: ظروف یا بطری‌های توزین، باید از شیشه یا فلز غیرخورنده ساخته شده باشند تا جرمی در واحد سطح بیشتر از ۰/۳ گرم بر سانتی‌متر مربع نداشته باشد.
- ✓ الک‌های سیمی با توری‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌متر
- ✓ خشک‌کن

حجم نمونه کار

برای تخمین رطوبت باید از دو تکرار یا دو نمونه کاری مستقل، استفاده شود. نمونه‌ها براساس قطر ظروف مورد استفاده، توزین می‌شوند. اگر قطر ظرف بین ۵ تا ۸ سانتی‌متر باشد، نمونه ۰/۵ گرم گرفته می‌شود، در حالی که اگر قطر بیش از ۸ سانتی‌متر باشد، از نمونه ۱۰ گرم استفاده می‌شود.

روش کار

- ✓ آون را از قبل روشن کنید تا به دمای مورد نظر برسد.
- ✓ ظرف خالی را به همراه درب آن وزن کنید (M_1).
- ✓ آسیاب‌کردن بذرها: بذرهایی با پوشش سخت که مانع از دست‌رفتن آب از آنها می‌شود باید قبل از خشک‌شدن آسیاب شوند، مگر اینکه روغن زیاد آنها، آسیاب را دشوار کند. اگر آسیاب کردن امکان‌پذیر نیست، تقسیم یا برش نیز طبق قوانین ISTA مجاز است. فرایند آسیاب‌کردن نباید بیش از ۲ دقیقه طول بکشد.
- ✓ نمونه آسیاب‌شده با قاشق کوچک کاملاً مخلوط شده و ۵ تا۴ گرم از نمونه در دو تکرار مستقیماً در ظرف اضافه و توزین می‌شود (M2). پس از توزین، ظروف با درب پوشانده می‌شوند تا از گم‌شدن نمونه یا آلودگی احتمالی جلوگیری شود.
- ✓ ظروف محتوای بذر و یا نمونه آسیاب‌شده را در کوره با دمای ۱۳۰ درجه به‌مدت یک ساعت و یا ۱۰۳ درجه به‌مدت ۷ ساعت قرار دهید. در هنگام خشک‌شدن در اجاق، درب ظروف، برای تسهیل خروج رطوبت برداشته شود.
- ✓ پس از پایان دوره خشک‌شدن، درب ظروف را گذاشته و به‌مدت ۳۰ تا ۴۵ دقیقه اجازه می‌دهیم تا خنک شود و بعد دوباره توزین می‌شود (M_3).

میزان رطوبت (M) برحسب درصد تا یک رقم اعشار با استفاده از فرمول ۵ محاسبه می‌شود.

$$5)\ M = \frac{(M2 - M3)}{(M2 - M1)} \times 100$$

M= میزان رطوبت بذر

M_1= وزن ظرف خالی با درب

M_2= وزن ظرف درب‌دار + وزن بذر قبل از خشک‌کردن

M_3= وزن ظرف درب‌دار + وزن بذر بعد از خشک‌شدن و خنک‌شدن

اگر بذرها نیاز به خشک‌کردن اولیه داشته باشند، در این صورت میزان کل رطوبت از دست رفته بذر از طریق فرمول ۶ محاسبه می‌گردد.

$$6)\ M = (S1 + S2) - (S1 \times S2)/100$$

M= میزان رطوبت

S_1= میزان رطوبت از دست رفته در مرحله اول

S_2= میزان رطوبت از دست رفته در مرحله دوم

می‌توان از جدول ۲ برای مستندسازی داده‌ها استفاده کرد.

جدول ۲. ثبت اطلاعات آزمون تعیین میزان رطوبت داخلی بذر

شماره نمونه:			**تاریخ آزمون:**	
درجه حرارت اعمال‌شده برای خشک‌کردن: (Ċ)			مدت زمان شک‌کردن:	
شرح	تکرار۱	تکرار۲	تکرار۳	
۱- وزن ظرف خالی				
۲- وزن ظرف + وزن اولیه بذر				
۳- وزن اولیه بذر (۱-۲)				
۴- وزن ظرف + وزن خشک بذر				
۵- وزن بذر خشک (۱- ۴)				
۶- درصد رطوبت = ۱۰۰×۳ ÷ (۳-۵)				
میانگین رطوبت				
توضیح: چنانچه اختلاف دو تکرار از ۰/۲ درصد بیشتر باشد درصد رطوبت بذر دوباره اندازه‌گیری می‌شود.			نام و امضای کارشناس	

شکل ۴. خشک‌کردن بذرها

در آون برقی در آزمایشگاه بذر بانک ژن مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور دمای آون روی ۱۲۰ درجه تنظیم و بعد بذرها به‌مدت ۱ ساعت در آن قرار گرفته و بعد از خنک‌شدن توزین می‌شوند.

آزمون‌های زنده بودن بذر

آزمون‌های نشان‌دهنده زنده بودن بذر، فعالیت متابولیکی بذر را با توجه به قدرت بذر اندازه‌گیری می‌کنند و شامل آزمون هدایت الکتریکی، آزمون آبنوشی، آزمون تترازولیوم و آزمون X-Rays می‌باشد.

آزمون هدایت الکتریکی (Electrical Conductivity Test)

آزمون هدایت الکتریکی، به‌عنوان یک آزمون سریع، قابلیت استفاده برای پیش‌بینی توانایی جوانه‌زنی و زنده بودن بذر می‌باشد. آزمون هدایت الکتریکی به‌طور غیر مستقیم غلظت الکترولیت‌های آزادشده از بذر را در طی فرایند جذب آب ارزیابی می‌کند (Dias *et al*., 1997). ۵۰ عدد بذر از هر رقم یا ژنوتیپ در سه تکرار شمارش، توزین و با استفاده از محلول ۰/۱ درصد کلریدجیوه، استریل و بعد با آب مقطر سه بار شستشو داده شوند.

این بذرها به‌مدت ۲۴ ساعت در ۷۵ میلی‌لیتر آب مقطر در دمای ۱۰ ± ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و بعد از ۲۴ ساعت خیس‌شدن، بذر از آب جدا شده و محلول به‌آرامی حدود ۱۵تا۱۰دقیقه تکان داده می‌شود و بعد هدایت الکتریکی محلول، با استفاده از رسانایی‌سنج دیجیتال اندازه‌گیری می‌گردد. دستگاه اندازه‌گیری هدایت‌الکتریکی، حداقل ۱۵ دقیقه قبل از آزمون، کالیبره می‌شود.

میزان هدایت‌الکتریکی، به ازای هر گرم وزن بذر، مربوط به هر واحد آزمایشی از طریق رابطه زیر محاسبه می‌شود (Hampton & Tekrony, 1995).

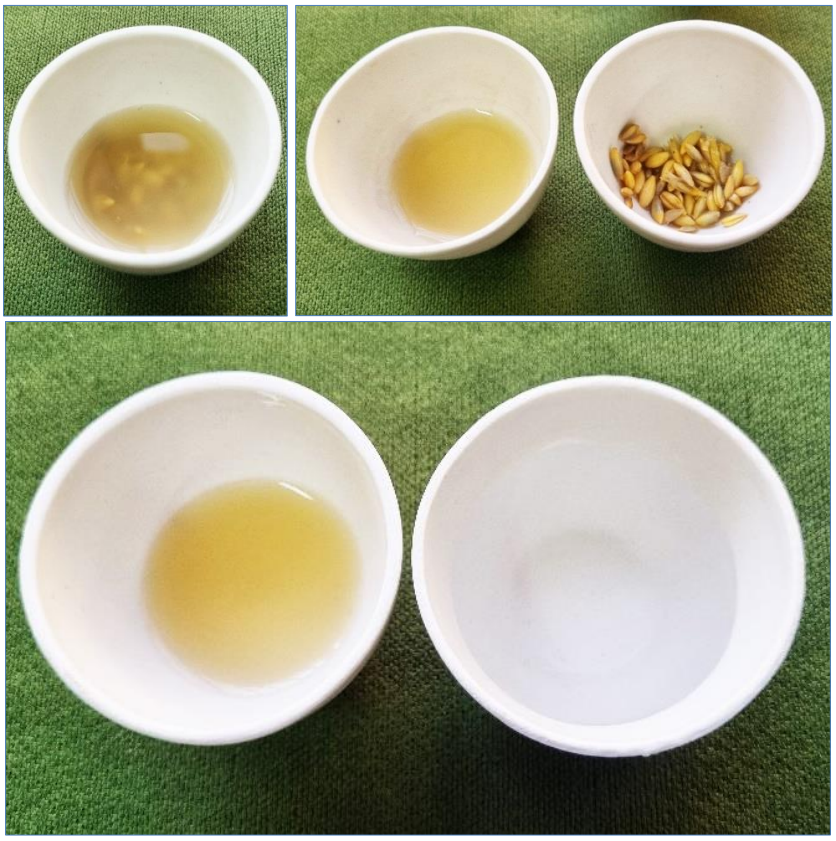
$$7)\ EC = ECS/W$$

EC= هدایت الکتریکی (میکروزیمنس بر سانتی‌متر)

ECS= عدد قرائت‌شده از دستگاه

W= وزن بذر (گرم)

آزمون هدایت الکتریکی را می‌توان روی نمونه‌های ۲ گرمی در چهار تکرار، برای هریک از ارقام مورد آزمون که در ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر دیونیزه با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت خیس شده‌اند و بعد مخلوط آب و بذر از صافی عبور داده شده محاسبه کرد. اندازه‌گیری هدایت الکتریکی هریک از نمونه‌ها، بر مبنای واحد (g /cm /µs) می‌باشد (West & Harris, 1963) (شکل ۵ و ۶).



شکل ۵. بالا چپ: مخلوط بذر گیاه جوپیازدار *Hordeum vulgare* با آب
بالا راست: جداکردن بذرها از مخلوط بعد از ۴۸ ساعت
پایین: آب مقطر و محلول حاصل از آب و تراوشات بذر

شکل ۶. اندازه‌گیری هدایت الکتریکی
راست: آب دیونیزه، چپ: محلول آب و تراوشات بذر گیاه جوپیازدار *Hordeum vulgare*

در بذرهای جوان و سالم میزان هدایت الکتریکی (EC)، کمتر از بذرهای پیر و فرسوده است. مشابه چنین نتایجی در مطالعات سایرین نیز دیده شده است (Basra *et al*., 2003; Goel & Sheoran, 2003; Wang *et al*., 1990). نفوذ آب به ساختمان غشاء سلول، باعث از بین رفتن یکپارچگی غشاء می‌شود و قابلیت نفوذپذیری غشاء افزایش یافته و میزان خروج الکترولیت‌ها و دیگر مواد از بذر افزایش می‌یابد. ازجمله تغییراتی که در غشاء رخ می‌دهد و باعث افزایش نشت الکترولیت‌ها از بذر می‌شود می‌توان به پراکسیداسیون چربی‌های غشاء سلول اشاره کرد. از دست رفتن غشاء و نشت مواد مختلف از سلول یکی از فاکتورهای اصلی مسئول کاهش ظرفیت جوانه‌زنی و رشد گیاهچه است (Goel & Sheoran, 2003).

در آزمونی، با اندازه‌گیری میزان هدایت‌الکتریکی ناشی از تراوش پتاسیم در آب، قدرت بذر تعیین گردید (صدرآبادی حقیقی، ۱۳۸۶). در آزمون دیگر، نمونه‌های ۲ گرمی در چهار تکرار برای هریک از ارقام یونجه مورد آزمایش در ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر دیونیزه با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت قرار گرفت، سپس مخلوط آب و بذر از صافی عبور داده شد و از EC متر، برای اندازه‌گیری هدایت الکتریکی استفاده شد (توکلی کاخکی، ۱۳۸۴).

آزمون آبنوشی (Imbibition Test)

برای اندازه‌گیری مقدار جذب آب در فرایند هیدراتاسیون، ۵۰ عدد بذر از هر رقم یا ژنوتیپ در سه تکرار شمارش، توزین و با استفاده از محلول ۰/۱ درصد کلرید جیوه، استریل و بعد با آب مقطر سه بار شستشو شوند و بعد بین دو لایه کاغذ صافی کاملاً خیس‌شده در پتری‌دیش به‌مدت ۲۴ ساعت و در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده تا بذرها رطوبت را جذب کنند.

سپس بذرها را از پتری‌دیش درآورده و پس از خشک‌کردن سطحی بذرها توسط کاغذ صافی، آنها را وزن کرده و درصد آب جذب‌شده از طریق رابطه زیر محاسبه می‌گردد (Govender *et al*., 2008).

$$8)\ W = \frac{W2 - W1}{W1} \times 100$$

W= درصد آب جذب‌شده

W1= وزن بذر قبل از جذب آب

W2= وزن بذر بعد از جذب آب

میزان آب جذب‌شده توسط بذر، نشان‌دهنده زنده بودن بذر و شروع جوانه‌زنی می‌باشد، هرچقدر این مقدار بیشتر، قدرت جذب آب بیشتر و قدرت جوانه‌زنی (زنده بودن) بیشتر است.

آزمون تترازولیوم (Tetrazolium Test)

آزمایش تترازولیوم، تخمینی از زنده‌بودن جنین بذر را نشان می‌دهد. مدت زمان آزمون ۲ روز می‌باشد.

روش آزمون

آزمون تترازولیوم طبق روش پیشنهادی مور (Moore, 1973) انجام می‌گردد. ۵۰ عدد بذر از هر رقم یا ژنوتیپ در سه تکرار شمارش و در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به‌مدت ۱۶ ساعت در دمای ۱۰ ± ۲۵ درجه سانتی‌گراد خیس می‌شوند. پس از آماده‌سازی، بذرهای خیس شده به صورت طولی به دو قسمت برش داده شده و بذرهای آماده شده در محلول تترازولیوم ۰/۵ درصد (۲،۳،۵- تری فنیل تترازولیوم کلرید) به‌مدت ۴ ساعت رنگ و در دمای ۳۰ درجه

رنگ‌آمیزی می‌شوند. با توجه به گونه، مدت زمان و دما متغیر است (زمانی و همکاران، ۱۴۰۱- برای اطلاع بیشتر می‌توان به منابع مراجعه کرد). پس از رنگ‌آمیزی، بذر از محلول جدا شده و در زیر ذره‌بین بررسی می‌گردد و از نظر الگوهای رنگ‌آمیزی بررسی می‌شود، بذرهایی که رنگ قرمز تا صورتی را نشان می‌دهند، زنده و رنگ‌نشده به‌عنوان غیر زنده در نظر گرفته می‌شود.

برای تهیه محلول تترازولیوم ۰/۵ درصد مراحل زیر را دنبال کنید (زمانی و همکاران، ۱۴۰۱).

- ✓ ۱ گرم پتاسیم دی‌هیدروژن فسفات (KH_2PO_4) در ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر حل شود (محلول A).
- ✓ ۱/۸ گرم دی‌سدیم هیدروژن فسفات (Na2HPO4) در ۱۵۰ سی‌سی آب مقطر حل شود (محلول B).
- ✓ دو محلول A و B با هم مخلوط (۲۵۰ سی‌سی) و به آن، ۱/۲۵ گرم پودر تترازولیوم اضافه گردد (C).
- ✓ مخلوط C را در ظرف ریخته و در تاریکی و دمای ۴ درجه نگهداری شود (شکل ۷).

شکل ۷. مراحل تهیه محلول ۰/۵ درصد تترازولیوم

شکل ۷ مراحل انجام آزمون تترازولیوم در گونه *Hordeum vulgare* و شکل ۸ نحوه رنگ‌پذیری بافت‌های بذر را در زیر استریومیکروسکوپ نشان می‌دهد.

شکل ۸. مراحل انجام تترازولیوم در گونه جو زراعی *Hordeum vulgare*

شکل ۹. مشاهده الگوی رنگ‌آمیزی با تترازولیوم

(در بذر جو زراعی *Hordeum vulgar* در زیر استریومیکروسکوپ نوری)

آزمون X-Rays

در این روش، با استفاده از اشعه ایکس، آناتومی داخلی و خارجی بذر ارزیابی می‌شود. در این روش، بذرها از بین نمی‌روند و همچنان از همان بذرها در سایر آزمایش‌های کیفیت بذر مانند آزمایش جوانه‌زنی و بنیه استاندارد می‌توان استفاده کرد. یکی دیگر از کاربردهای بالقوه اشعه ایکس و هدف از این مطالعه، طبقه‌بندی بذرها براساس اندازه پرشدن جنین در حفره جنینی است. این روش به تنهایی و یا در ترکیب با سایر آزمون‌های بنیه بذر، برای ارزیابی بذر استفاده می‌شود. همچنین می‌توان با این مطالعه به بذرهای باکیفیت بالا در مقایسه با بذرهای آسیب‌دیده مکانیکی دست یافت.

بذرها به‌مدت ۲۰ ثانیه در معرض ۲۰ کیلو ولت اشعه قرار می‌گیرند و بعد تصاویر روی رایانه گرفته شده و براساس پرشدن جنین در حفره، تجزیه‌وتحلیل می‌شوند. در این روش، بذرها با توجه به پربودن جنین، به چهار دسته طبقه‌بندی می‌شوند: بذرهای با کیفیت بالا، متوسط و پایین براساس اندازه جنین در حفره‌های جنین و بذرهای آسیب‌دیده مکانیکی براساس وجود هرگونه آسیب بر روی پوشش بذر.

برای تأیید تفاوت‌های کیفی بین این چهار طبقه بذر، می‌توان بر روی نمونه‌ای از بذر که نماینده بذرها است آزمون‌های بنیه معمولی شامل پیری تسریع‌شده، آزمایش سرد و آزمایش هدایت الکتریکی را انجام داد. بذرهای با کیفیت بالا نسبت به سایر طبقات و بذرهای با کیفیت متوسط و پایین نسبت به بذرهای آسیب‌دیده عملکرد بالاتری خواهند داشت.

آزمون‌های سلامت بذر

هدف از آزمون‌های سلامت بذر، تعیین سلامت بذر برای استفاده در کاشت است. البته بیماری‌های گیاهی به‌طور قابل توجهی، عملکرد را کاهش می‌دهند. همه بیماری‌های گیاهی در بذر یا روی دانه نیستند ولی مهم است که بدانید چه تعداد از آنها روی بذر هستند. بذر ممکن است حاوی پاتوژن‌ها (عوامل بیماری‌زا) باشد که باعث ایجاد بیماری در گیاهان بشود، این بیماری‌ها ممکن است بر ذخیره‌سازی، قدرت جوانه‌زنی، تأمین بذر، عملکرد برداشت و ظاهر بذر تأثیر بگذارند.

پاتوژن‌های گیاهی عبارتند ازقارچ، باکتری، ویروس و نماتد. هنگامی که بذرهای آلوده کاشته می‌شوند، این عوامل به‌طور مساوی در سراسر زمین پخش می‌شوند. لازم است که مشخص شود که این عوامل در چه سطحی هستند. هنگامی که سطح بیماری بالا است، ممکن است جستجوی منبع دیگری از بذر برای کاشت لازم باشد. همچنین ممکن است در انتخاب تیمار بذر، بسیار مفید باشد. مهمتر از همه، این است که ممکن است بیماری‌های گیاهی را که قبلاً نداشته‌اید، شناسایی و معرفی کنید. بسیاری از این بیماری‌ها می‌توانند در خاک یا زباله‌ها باقی بمانند و برای سال‌های متمادی مشکل‌ساز شوند.

روش‌های زیادی برای آزمون سلامت بذر در آزمایشگاه وجود دارد. متداول‌ترین و قابل اعتمادترین آزمون‌ها، کشت‌ها هستند. بذرها روی محیط‌های مخصوص کشت می‌شوند. این محیط‌های کشت، به رشد ارگانیسم‌های مورد نظر کمک می‌کنند. سپس محیط‌های کشت، انکوبه شده و توسط آسیب‌شناس بذر از نظر صفات خاص بررسی می‌شوند. از آزمایش‌های بصری (چشمی) هم می‌توان برای شناسایی اجسام بیماری در توده‌های بذری استفاده کرد. همچنین می‌توان از آزمایش‌های DNA که به‌دنبال ژنتیک یک پاتوژن است، استفاده کرد

(توجه داشته باشید که این روش‌ها نشان‌دهنده زنده بودن عامل مورد هدف و یا اینکه قادر به عفونت هستند، نیستند).

به منظور کاهش احتمال گسترش پاتوژن‌های مضر از طریق بذر، به سایر مناطق یا کشورها، یکسری روش‌های تشخیص وجود بیماری در بذر وجود دارد که این روش‌ها، به‌طور معمول در چهار روش زیر خلاصه می‌شوند.

آزمون بصری

آزمایش فیزیکی قسمت‌های داخلی و خارجی بذر، با استفاده از میکروسکوپ برای شناسایی وجود یا عدم وجود پاتوژن‌ها.

تکنیک شستن بذر

شستن نمونه بذرها، با آب دوبار تقطیرشده و به دنبال آن، سانتریفوژکردن و مشاهده در زیر میکروسکوپ. آزمون شستشو برای تشخیص اسپورهای قارچی سطحی که باعث ایجاد لکه‌ها، خراش‌ها، زنگ‌زدگی، کپک‌های کرکی، کپک‌های پودری و غیره و پوسته‌های باکتریایی روی سطح بذر می‌شوند، مفید است (Maddox, 1998). بذرها به‌مدت یک شب در آب و یا در محلول رقیق هیدروکسید سدیم خیس می‌شوند. هاگ قارچ‌ها یا سلول‌های باکتریایی از روی بذرها با آب شسته می‌شوند و بعد سوسپانسیون سانتریفوژ می‌گردد. مایع رویی دور ریخته شده و بعد این سوسپانسیون اسپور، در زیر میکروسکوپ از نظر وجود اسپور قارچ بررسی می‌شود.

ارزیابی گیاهچه‌ها

جوانه‌زنی و رشد گیاهچه در شرایط شناخته‌شده مساعد، برای توسعه علائم قابل تشخیص پاتوژن‌ها. برخی از پاتوژن‌های بذری علائم مشخصی را در نهال‌های درحال رشد نشان می‌دهند، بنابراین، آزمون رشد گیاهچه می‌تواند به‌عنوان یک روش مستقیم برای ارزیابی پاتوژن‌های بذر بر روی میزبان زنده آنها و انتقال آنها از طریق بذر استفاده شود. برای انجام این آزمون، نمونه‌های بذر در شرایط کنترل‌شده که منجربه توسعه بیماری می‌شود، کاشته می‌شوند و گیاهچه‌هایی که به این ترتیب به‌دست می‌آیند برای ظهور علائم بررسی می‌گردند. آزمون رشد گیاهچه، یکی از پرکاربردترین آزمون‌ها، برای تشخیص پاتوژن‌های منتقل شونده توسط بذر است (Lee *et al*., 1990; Yang *et al*., 1997).

روش سرولوژیکی (آزمون الیزا)

آزمون‌های سرولوژیکی (مبتنی بر آنتی‌بادی) برای تشخیص پاتوژن‌های ویروسی و باکتریایی که دارای آنتی‌ژن خاص هستند استفاده می‌شوند. بذرها را آسیاب کرده و بعد در بافر استخراج نمونه، خیس می‌شوند. نمونه فرعی از عصاره بذرها در داخل چاهک‌هایی که محتوای یک آنتی‌بادی خاص (نوعی پروتئین) برای پاتوژن هدف است قرار داده می‌شوند. حضور پاتوژن با تغییر رنگ در چاه تشخیص داده می‌شود.

روش‌های کشت

پلیت‌کردن یا کشت بذر روی آگار و بعد شناسایی ارگانیسم است. کشت شامل کشت روی آگار و کشت روی کاغذ بلاتر.

کشت روی آگار

برای محیط کشت می‌توان از یک گرم پودر آگار سیب‌زمینی در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استفاده کرد. سپس مخلوط را استریل و خنک نمود. مخلوط را در ظروف استریل پتری‌دیش ریخته تا سفت شوند، سپس بذرها را استریل کرده (یک دقیقه در محلول ۱ درصد هیپوکلریت سدیم) و روی سطح آگار کشت می‌شوند. می‌توان با توجه به نوع بذر، از بذرهای آسیاب شده نیز استفاده کرد که در این صورت از سوسپانسیون بذر استفاده می‌شود. کشت‌ها را در شرایط رشد مناسب (دما/ نور ۲۰ تا ۲۵ درجه) به‌مدت یک هفته قرار داده و با استفاده از معاینه بصری (چشمی) و آزمایش‌های بعدی، مانند PCR یا سایر آزمون‌ها، پاتوژن‌ها تشخیص داده می‌شوند.

آزمون بلاتر

به‌طورگسترده برای تشخیص قارچ‌های بذری استفاده می‌شود. بذرهای کامل، روی کاغذ بلاتر مرطوب در جعبه‌های پلاستیکی قرار گرفته و به‌مدت ۷ تا ۱۴ روز در شرایط استاندارد جوانه‌زنی نگهداری و بعد از نظر وجود قارچ هدف بررسی می‌شوند.

روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR)

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) یک روش با تکنولوژی بالا برای استخراج و شناسایی DNA از پاتوژن‌ها (در صورت وجود) است. بسیار حساس و به‌ویژه در تعیین عدم وجود صفات بیوتکنولوژیکی خوب است. PCR می‌تواند نتایج کمی یا کیفی بدهد. توجه به جزئیات و دانش عمیق زیست‌شناسی مولکولی و صفات بیوتکنولوژی موجود برای موفقیت در استفاده از PCR حیاتی است. ابتدا از بذرهای رشد کرده و اعمال چند مرحله، DNA خالص استخراج می‌شود. از

طریق استفاده از پرایمرها از طریق Real-time PCR یا ژل PCR، پاتوژن‌ها شناسایی شده و می‌توان آنها را کمّی‌سازی کرد.

آزمون‌های تعیین قدرت بذر

آزمون‌های تعیین قدرت بذر عبارتنداز: تعیین درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، متوسط زمان جوانه‌زنی، میزان جوانه‌زنی، قوه‌نامیه بذر و آزمون هیلتنر، که برای تعیین آنها از آزمون جوانه‌زنی استاندارد استفاده می‌شود.

آزمون جوانه‌زنی استاندارد (Standard Germination Test)

تعریف جوانه‌زنی

فرایند جوانه‌زنی بذر به شکل‌های مختلف تعریف می‌شود.

- ✓ فرایند فیزیولوژیکی است که باعث می‌شود بذر ساکن با رطوبت کم، فعالیت متابولیکی عمومی خود را افزایش دهد و شروع به تشکیل گیاهچه از جنین کند.
- ✓ جوانه‌زنی بذر فرایندی است که بذر می‌تواند یک موجود زنده را تولیدمثل کند.
- ✓ جوانه‌زنی بذر از سرگیری رشد فعال جنین است که منجر به پاره شدن پوسته بذر و ظهور گیاه جوان در شرایط مساعد می‌شود.
- ✓ جوانه‌زنی بذر در آزمایشگاه بذر، به شرح زیر تعریف می شود: جوانه‌زنی ظهور و نمو گیاهچه از جنین است که نشان‌دهنده توانایی یک بذر در تولید یک گیاه مفید و بالغ برای رشد در شرایط مطلوب مزرعه است.

انواع جوانه‌زنی

جوانه‌زنی هیپوژل (Hypogeal)، جوانه‌زنی اپی‌ژل (Epigeal) و جوانه‌زنی زنده‌زا

جوانه‌زنی هیپوژل (درون زمینی)

به این معنی است که لپه‌ها در زیر زمین باقی می‌مانند. اپیکوتیل (بخشی از ساقه بالای لپه) رشد می‌کند، در حالی که هیپوکوتیل (بخشی از ساقه زیر لپه) از نظر طول یکسان می‌ماند. به این ترتیب اپیکوتیل ساقه‌چه را به بالای سطح زمین هل می‌دهد. به‌طور معمول، لپه گوشتی است و حاوی بسیاری از مواد مغذی است که برای جوانه‌زدن استفاده می‌شود. هیچ فتوسنتزی در لپه انجام نمی‌شود. گیاهانی که جوانه‌زنی هیپوژل را نشان می‌دهند به نسبت کمی، به مواد مغذی خارجی، برای رشد نیاز دارند. بنابراین آنها در خاک‌های فقیر مواد مغذی فراوانی دارند. این گیاهان همچنین به نور خورشید کمتری نیاز دارند، بنابراین می‌توان آنها را بیشتر در وسط جنگل‌ها یافت، جایی که رقابت زیادی برای رسیدن به نور خورشید وجود دارد. گیاهانی که جوانه‌زنی هیپوژل را نشان می‌دهند به‌ویژه در مرحله اول، نسبتاً کند رشد می‌کنند. پس از مرحله اول کندتر، گیاه سریع‌تر از گیاهانی که جوانه‌زنی اپی‌ژل را نشان می‌دهند، رشد می‌کند. لپه‌ها یا اندام‌های ذخیره از سطح خاک بیرون نمی‌آیند. فقط ساقه از سطح زمین بیرون می‌آید. به‌عنوان مثال، بیشتر در تک‌لپه‌ای‌ها ازجمله گراس‌ها دیده می‌شود.

جوانه‌زنی اپی‌ژل (برون زمینی)

یک اصطلاح گیاه‌شناسی است که نشان می‌دهد جوانه‌زنی گیاه در بالای سطح زمین انجام می‌شود. جوانه‌زنی اپی‌ژل به این معنی است که لپه‌ها به بالای سطح زمین رانده می‌شوند. هیپوکوتیل کشیده می‌شود، در حالی که اپی‌کوتیل از نظر طول یکسان می‌ماند. به‌طور معمول،

لپه خود حاوی مواد مغذی بسیار کمی در گیاهان است که این نوع جوانه‌زنی را نشان می‌دهد. در عوض، اولین برگچه‌ها قبلاً در داخل آن جمع شده‌اند و فتوسنتز به سرعت در آن شروع می‌شود. گیاهانی که جوانه‌زنی اپی‌ژل را نشان می‌دهند برای رشد سریع‌تر، به مواد مغذی خارجی نیاز دارند، بنابراین در خاک‌های غنی از مواد مغذی بیشتر دیده می‌شوند. گیاهان همچنین برای انجام فتوسنتز به نور خورشید نسبتاً زیادی نیاز دارند. گیاهانی که جوانه‌زنی اپی‌ژل را نشان می‌دهند، به‌ویژه در مرحله اول که برگچه‌ها باز می‌شوند، نسبتاً سریع رشد می‌کنند. لپه‌ها یا اندام‌های ذخیره از بالای سطح خاک بیرون می‌آیند. این نوع جوانه‌زنی در بیشتر دولپه‌ای‌ها مانند گیاهان خانواده لگوم‌ها (یونجه، شبدر، گون و ...) دیده می‌شود.

جوانه‌زنی زنده‌زا

جوانه‌زنی زنده‌زا، نوع خاصی از جوانه‌زنی است که در گیاهان نمک‌دوست و در هالوفیت‌ها وجود دارد. در جوانه‌زنی زنده‌زا، بذرها با چسبیدن به گیاه مادر جوانه می‌زنند. جنین از بذر و بعد از میوه رشد می‌کند و به صورت یک نهال با ریشه و هیپولپه بیرون می‌زند.

گیاهان زنده‌زا بذرهایی تولید می‌کنند که قبل از جداشدن از گیاه مادر جوانه می‌زنند. این پدیده معمولاً در مانگروها مشاهده می‌شود.

آزمون جوانه‌زنی

هدف از آزمایش جوانه‌زنی، تعیین حداکثر ظرفیت جوانه‌زنی بذر برای تخمین حداکثر تولید گیاهچه است. آزمون جوانه‌زنی طبق دستورالعمل ایستا (ISAT, 2022)، به روش روی کاغذ، بین کاغذ و روی شن قابل اجراست (Anonymous, 2011). معمولاً در آزمایشگاه روش روی کاغذ و بین کاغذ توصیه می‌شود. برای بذرهای ریز، روش روی کاغذ و برای بذرهای درشت،

روش بین کاغذ استفاده می‌شود. روش روی شن نیز در گلخانه توصیه می‌گردد. آزمون جوانه‌زنی بر روی بخش خالص بذر، حاصل از آزمایش خلوص انجام می‌شود.

به منظور اجرای این آزمون، ابتدا باید از پاکیزگی و عدم آلودگی بذرها و ظروف آزمایش اطمینان حاصل نمود.

وسایل و مواد لازم

- ✓ پتری‌دیش شیشه‌ای- استوانه مدرج- ارلن
- ✓ کاغذ صافی واتمن- بشقاب پلاستیکی- سینی پلاستیکی- پنس و قاشق کوچک- ماژیک- دستکش لاتکس
- ✓ الکل اتیلیک (۹۷درصد)- الکل صنعتی- آب مقطر- وایتکس (هیپوکلریت سدیم)

محلول‌های مورد نیاز

- ✓ الکل ۷۰ درصد (الکل اتیلیک ۷۰ درصد)، برای تهیه این محلول، باید به ازای هر ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول، ۷۰ میلی‌لیتر الکل ۹۷ درصد و ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر را درون یک استوانه مدرج ریخته و بعد محلول‌ها به‌طور کامل مخلوط شود.
- ✓ محلول هیپوکلریت سدیم ۵۰ درصد، برای تهیه هر ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول هیپوکلریت سدیم ۵۰ درصد، باید۵۰ میلی‌لیتر هیپوکلریت سدیم و ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر با هم ترکیب شوند.
- ✓ الکل اتیلیک ۵۰ درصد، برای تهیه این محلول، می‌بایست به ازای هر ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول، ۵۴ میلی‌لیتر الکل ۹۷ درصد و ۴۶ میلی‌لیتر آب مقطر درون یک استوانه مدرج ریخته و بعد محلول‌ها کاملاً مخلوط گردد.

برای انجام آزمون جوانه‌زنی مراحل ۱ تا ۶ را دنبال کنید.

۱) جداکردن نمونه کار

۴ تکرار از ۱۰۰ عدد بذر را انتخاب کنید. ۴ تکرار را می‌توان به تکرارهای کوچکتر تقسیم کرد، اما تعداد کل بذرهای آزمون شده باید ۴۰۰ عدد باشد تا مطابق با قوانین باقی بماند. اگر کمتر از ۴۰۰ عدد بذر در دسترس باشد، از نظر آماری بهتر است ۴ تکرار ۵۰ بذری به جای ۲ تکرار ۱۰۰ بذری کشت شود (AOSA, 1999; ISTA, 1996) (شکل ۱۰).

شکل ۱۰. جداکردن بذرهای گیاه دم‌گاوی *Smirnovia turkestana* برای کشت در آزمون جوانه‌زنی

۲) استریل کردن بذرها و وسایل کار

روش ضدعفونی‌کردن بذر به شرح زیر می‌باشد.

- ✓ شست‌وشوی بذرها با آب معمولی (سه مرتبه) برای از بین بردن خاک، گل‌ولای و دیگر ذرات
- ✓ شست‌وشوی بذرها با آب مقطر (سه مرتبه) هر بار چند دقیقه
- ✓ قرار دادن بذرها درون الکل ۵۰ درصد به‌مدت حدود ۳۰ ثانیه
- ✓ شست‌وشوی بذرها با آب مقطر (سه مرتبه)
- ✓ قرار دادن بذرها درون محلول هیپوکلریت سدیم ۵۰ درصد به‌مدت ۱۰ تا ۲۰ دقیقه
- ✓ شست‌وشوی بذرها با آب مقطر (سه مرتبه هر بار سه دقیقه)
- ✓ غلبه بر خواب بذرها- خواب به حالتی گفته می‌شود که وقتی بذر در شرایط مساعد برای جوانه‌زنی قرار می‌گیرد قادر به جوانه‌زنی نیست. برای انجام آزمایش جوانه‌زنی، باید بر خواب غلبه گردد.

برای حذف خواب بذرها با توجه به اینکه عامل خواب خارجی یا داخلی باشد روش‌های استفاده شده متفاوت خواهد بود. اگر بذر جوانه نزد و این به علت سختی پوسته بذر باشد، در این صورت عامل خواب بذر خارجی است. برای رفع این عامل خارجی، باید با استفاده از روش‌های اسکاریفیه (خراش‌دهی) نسبت به حذف پوسته اقدام کرد. این روش‌ها شامل استفاده از سمباده، چاقو، مواد شیمیایی خورنده پوسته بذر مثل اسید سولفوریک و ... می‌باشند که با استفاده از منابع معتبر می‌توان شیوه‌نامه استفاده از آنها را به‌دست آورد.

اگر خواب بذر منشأ درونی داشته باشد و مربوط به خواب جنین باشد با استفاده از تیمارهای مختلف و مناسب (استراتیفه کردن) نسبت به حذف خواب آنها می‌توان اقدام کرد. برای این منظور، از تیمار سرمادهی مرطوب، اسید جیبرلیک، نیترات‌پتاسیم و ... می‌توان

استفاده کرد. پیش‌سرما (سرمادهی) روشی است که بیشترین استفاده را برای بذر گیاهان وحشی که در آنها خواب بذر داخلی و مربوط به جنین بذر است مثل گیاهان خانواده نعناع (پونه، آویشن) و خانواده گل‌مینا (بابونه، بومادران، بابونه گاوی و ...) دارد. بذرها در دمای بین ۰ تا ۴ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گیرند.

پیش‌سردکردن (سرمادهی) را می‌توان به یکی از سه روش زیر انجام داد.

- ✓ می‌توان بذرها را روی محیط جوانه‌زنی مرطوب‌شده در ظروف دربسته کاشت و بعد به سرما منتقل کرده پس از پایان دوره، بذرها را کاشت.
- ✓ بذرها را می‌توان در محیط مرطوب و سرد قرار داد و بعد در پایان دوره، در محیط جوانه‌زنی کاشت.
- ✓ بذرها را به‌مدت ۱۶ تا ۴۸ ساعت در آب خیس کرده تا کاملاً آب را جذب کند، سپس در ظرفی مقاوم به رطوبت قرار داده و در مدت زمان مشخص در سرما نگهداری می‌شوند و بعد روی محیط جوانه‌زنی کشت می‌گردند.

مدت زمان نگهداری بذرها در پیش‌سرما (سرمادهی)، به‌طور گسترده‌ای با توجه به گونه و منبع ژنتیکی بذر متفاوت است. این دوره می‌تواند از ۱۰ روز تا چندین ماه متغیر باشد. بذر گیاهان منابع طبیعی به دلیل وحشی بودن، قبل از جوانه‌زنی، در طبیعت تحت تأثیر سرمای محیط قرار می‌گیرند. بنابراین تقریباً همه این بذرها، به یک دوره سرمادهی برای جوانه‌زنی و بیدارکردن جنین نیاز دارند. این دوره ممکن است از چند روز (برای بذرهای گیاهان بابونه، بومادران، آویشن و ...) تا چند ماه (برای بذر کما) متغیر باشد. سرمادهی ممکن است مرطوب و یا خشک باشد. در سرمادهی مرطوب، بذرها در محیط مرطوب و سرد قرار می‌گیرند، مثل کاشت بذرها در روی کاغذصافی مرطوب و بعد قراردادن در سرما و در سرمادهی خشک، البته فقط در دمای پایین به بذرها تیمار داده می‌شود. گونه‌هایی که برای جوانه‌زنی مشکلی ندارند

غیرخفته نامیده می‌شوند. هنگامی که جوانه‌زنی با سرمادهی افزایش یابد، بذر به‌عنوان خفته طبقه‌بندی می‌شود. هرچه دوره سرمادهی موردنیاز طولانی‌تر باشد، گفته می‌شود که خواب قوی‌تر است. برای جوانه‌زنی بیشتر بذرهای گیاهان منابع طبیعی، معمولاً یک دوره سرمادهی (پیش سرما) برای حذف احتمالی خواب بذر و یکنواختی در جوانه‌زنی پیش‌بینی می‌شود. در صورت نیاز به ۱۰ تا ۱۴ روز پیش‌سرما (مثل بذر گیاه یونجه)، خواب سبک، اگر برای شکستن خواب به ۳۰ تا ۶۰ روز پیش‌سرما (مثل بذر گیاه ؟) نیاز باشد، متوسط و اگر بیش از ۶۰ روز سرمادهی نیاز باشد (مثل بذر گیاه کما یا آنغوزه)، بذر را به‌عنوان بسیار یا به‌شدت خواب، طبقه‌بندی می‌کنند. برخی از بذرها بدون پیش‌سرما جوانه می‌زنند، در حالی که بذرهای دیگر از همان گیاه، بدون سرمادهی جوانه نمی‌زنند. با این حال، اصطلاح خواب متغیر معمولاً برای بذرهایی استفاده می‌شود که در آنها برخی از بذرها در قبل از سرمادهی جوانه می‌زنند، درحالی که بذرهای دیگر از همان گیاه حتی پس از قراردادن در سرما، جوانه نمی‌زنند. نمونه‌ای از این نوع جوانه‌زنی، در بذرهای گیاه یونجه (*Medicago*) دیده شده است.

به دلیل تغییرات ذکرشده در خواب، بذرهای اغلب گیاهان با و بدون پیش سرمادهی، یا با دوره‌های مختلف پیش‌سرما آزمون می‌شوند. از این قبیل آزمون‌ها به‌عنوان آزمون‌های زوجی یا دوگانه یاد می‌شود. معمولاً فقط ۲ آزمایش انجام می‌شود. البته می‌توان آزمون‌های بیشتری را انجام داد. نمونه‌ای از تیمارهای لازم برای شکستن خواب بذرها در جدول ۴ آورده شده است. گاهی سرمادهی می‌تواند با نور جایگزین شود. نور برای شکستن خواب مفید است و می‌تواند نیاز به پیش‌سرما را کاهش دهد. خواب در گیاهان توس (*Betula* L.) و کاج کندر (*Pinus taeda* L.) نمونه‌های برجسته‌ای هستند که نور به شکستن خواب آنها کمک می‌کند. پس از آماده کردن بذرها، پتری‌دیش‌ها با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی شده و بعد اجازه داده می‌شود تا الکل تبخیر شود. برای اطمینان، ابزاری که با بذرها در تماس هستند نیز، با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی می‌شوند.

۳) کاشت بذرها

پس از اطمینان از پاکیزه بودن محیط و وسایل، کاغذ صافی را درون پتری‌دیش قرار داده و بذرها بر روی کاغذ درون پتری‌دیش قرار می‌گیرند. سپس درب پتری‌دیش روی آن قرار داده و برای اطمینان بیشتر، درب پتری‌دیش‌ها محکم بسته شود. بذرها را می‌توان به روش‌های مختلفی کاشت، آنها را می‌توان پراکنده کرد یا یکی‌یکی با پنس قرار داد (شکل ۱۱).

شکل ۱۱. کشت بذرها روی کاغذ در درون پتری‌دیش‌ها برای آزمون جوانه‌زنی

بالا راست: بذر گیاه بابونه گاوی *Phlomis anisodonta* بالا چپ: بذر گیاه *Tanacetum*

پایین: بذر گیاه *Leucopa sclerophylla*

۴) انتقال ظروف کشت‌شده به ژرمیناتور

استانداردهای بین‌المللی ایستا (ISTA) اعلام می‌کنند که بذرها، به‌ویژه بذرهای گیاهان وحشی (محیط‌های طبیعی) قبل از کاشت بهتر است به‌مدت ۱۰ تا ۱۵ روز در دمای ۴ درجه مرطوب تیمار بشوند. این عمل باعث حذف احتمالی خواب بذرها و یکنواختی در جوانه‌زنی می‌گردد. پس از طی این مدت ظروف کشت به ژرمیناتور با دمای ۲ ± ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۲ ± ۹۰ درصد منتقل می‌شوند.

شکل ۱۲. انتقال بذرهای کشت‌شده در پتری‌دیش‌ها به ژرمیناتور با دما و رطوبت کنترل شده

دماها باید در سراسر محفظه و در طبقات به دقت بررسی شود تا مطمئن شوید که هیچ مکانی وجود ندارد که بیش از ۱ درجه سانتی‌گراد از دمای مطلوب منحرف شود. گردش ضعیف هوا و نقاط داغ ناشی از لامپ‌ها یا فلورسنت‌ها، شایع‌ترین دلایل دماهای خیلی بالا یا خیلی پایین هستند. دمایی که محفظه جوانه‌زنی در آن تنظیم می‌شود، به گونه‌ای که مورد آزمون قرار می‌گیرد بستگی دارد.

بسیاری از گونه‌ها در دمای متناوب ۲۰ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد خوب عمل می‌کنند. برای این رژیم، محفظه به‌مدت ۱۶ ساعت در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و برای ۸ ساعت باقیمانده از روز در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شود. احتمالات دیگر دماهای ثابت ۱۵، ۲۰ یا ۲۲ درجه سانتی‌گراد است که معمولاً برای ۸ یا ۱۶ ساعت نور تأمین می‌شود. هنگامی که دماها متناوب هستند، نور در طول دمای بالاتر ارائه می‌شود. یک چرخه طبیعی از نور و دما را اعمال کنید (مثلاً دمای ۲۵تا۲۰ درجه و طول روشنایی ۱۶ و تاریکی ۸ ساعت).

۵) ثبت وقایع

تاریخ شروع جوانه‌زنی زمانی است که بذرهای کشت‌شده در پتری‌دیش‌ها، برای جوانه‌زنی به ژرمیناتور با دمای ثابت یا متناوب منتقل می‌شوند. در بذر گیاهان منابع طبیعی (مرتعی، دارویی) خروج ریشه‌چه به طول ۲ میلی‌متر به‌عنوان معیار بذر جوانه‌زده در نظر گرفته می‌شود. شمارش بذرهای جوانه‌زده پس از انتقال به ژرمیناتور یک روز در میان تا زمانی که در دو شمارش متوالی، افزایش در تعداد بذرهای جوانه‌زده مشاهده نگردد، عموماً ۱۴ تا ۲۱ روز ادامه می‌یابد.

این روند برای گیاهان مرتعی و دارویی در بانک ژن منابع طبیعی (مطابق با استانداردهای ISTA) استفاده می‌شود. تعداد بذرهای جوانه‌نزده دارای رویان سالم (با برش بذر وجود و سلامت رویان مشخص می‌شود)، تعداد بذرهای جوانه نزده فاسد، تعداد گیاهچه‌های سالم و غیرنرمال در فرم یادداشت‌برداری جوانه‌زنی ثبت می‌گردند.

از هر تکرار (پتری‌دیش)۵ عدد گیاهچه نرمال به‌طور تصادفی انتخاب، و طول ساقه‌چه و ریشه‌چه اندازه‌گیری می‌گردد (جدول ۳). در ادامه توضیحات لازم برای هریک آورده شده است.

جدول ۳. ثبت مشخصات جوانه‌زنی بذرهای کشت‌شده

	تعداد بذر جوانه‌زده در روز									تعداد بذر کاشته شده	تعداد بذر سالم جوانه‌زده	تعداد بذر فاسد شده	تعداد گیاهچه‌های سالم	تعداد گیاهچه‌های غیر نرمال
	روز سوم	روز پنجم	روز هفتم	روز نهم	روز یازدهم	روز سیزدهم	روز پانزدهم	روز هفدهم	روز نوزدهم	روز بیست‌ویکم				
تکرار ۱														
تکرار ۲														
تکرار ۳														
تکرار ۴														

	طول ساقه‌چه					طول ریشه‌چه				
	۱	۲	۳	۴	۵	۱	۲	۳	۴	۵
تکرار ۱										
تکرار ۲										
تکرار ۳										
تکرار ۴										

بذرها پس از پایان آزمون جوانه‌زنی به‌طور معمول به شش دسته طبقه‌بندی می‌شوند.

۱) بذرهای سالم جوانه‌زده: بذرهایی که رطوبت را جذب کرده و جوانه زده‌اند (شکل ۱۳).

شکل ۱۳. نمونه‌ای از بذرهای سالم جوانه‌زده در گونه‌ای از گون (Astragalus)

۲) بذرهای خفته: بذرهایی که زنده هستند ولی قادر به جذب آب نبوده، بنابراین سفت باقی می‌مانند و نشان می‌دهد که این بذرها خواب دارند و تیمارهای خواب‌شکنی مناسب نبوده است. بذرهایی که لایه‌های غیرقابل نفوذ به آب دارند، در پایان دوره آزمون سفت باقی می‌مانند (شکل ۱۴).

شکل ۱۴. نمونه‌ای از بذرهای سالم در کد ۷۰۰۴ بانک ژن

(*Leucopa sclerophylla*) جوانه‌زده پوسته سفت بذر مانع از نفوذ آب به داخل بذر می‌شود.

۳) بذرهای فاسد یا مرده: بذرهایی که نه سفت هستند و نه خواب دارند و نه جوانه می‌زنند.

۴) گیاهچه‌های طبیعی: گیاهچه‌هایی که دارای ساختارهای ضروری هستند و نشان‌دهنده توانایی آنها در تولید گیاهان بالغ مفید در شرایط مزرعه‌ای مطلوب است.

۵) گیاهچه‌های غیرطبیعی: گیاهچه‌هایی هستند که تمام ساختارهای اساسی را ندارند یا آسیب‌دیده، تغییر شکل داده یا پوسیده می‌باشند که مانع از رشد طبیعی می‌شوند (شکل ۱۵).

شکل ۱۵. گیاه *Nepeta catarica*

راست: گیاهچه طبیعی، وسط: بذر فاسد شده

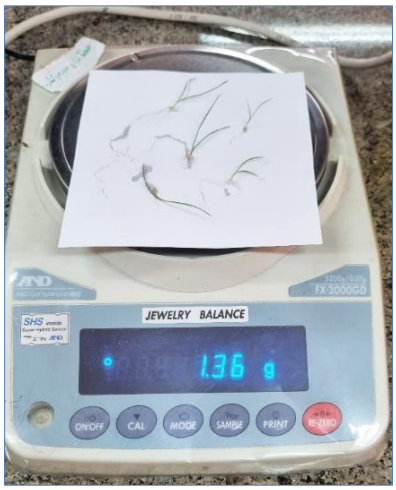
چپ: گیاهچه غیرطبیعی در بذر جوانه‌زده گیاه *Nepeta catarica*

طول گیاهچه (ساقه‌چه + ریشه‌چه)

پنج گیاهچه نرمال از هر تکرار (پتری‌دیش) به‌طور تصادفی انتخاب و طول آنها برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری شده و بعد میانگین گرفته می‌شود (شکل ۱۶).

تعیین وزن تر و خشک گیاهچه

پنج عدد گیاهچه طبیعی که برای اندازه‌گیری طول گیاهچه استفاده شدند نیز برای اندازه‌گیری وزن تر و خشک گیاهچه استفاده می‌شوند. برای تعیین وزن خشک، گیاهچه‌های انتخاب شده پس از تعیین وزن تر، در کاغذ آلومینیومی پیچانده و در آون با دمای ۱۰±۸۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت خشک می‌شوند. سپس گیاهچه‌ها را از آون خارج کرده و به‌مدت ۳۰ دقیقه در خشک‌کن قبل از توزین، قرار داده و بعد با استفاده از ترازوی الکترونیکی توزین می‌گردند. میانگین وزن گیاهچه‌های خشک‌شده از هر تکرار محاسبه و به‌عنوان وزن خشک گیاهچه برحسب میلی‌گرم بیان می‌شود (Anonymous, 2011) (شکل ۱۶).



شکل ۱۶. توزین وزن تر گیاهچه‌های *Leucopa sclerophylla*

۶) تفسیر داده‌ها

محاسبه درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، متوسط زمان جوانه‌زنی، میزان جوانه‌زنی و تعیین قوه نامیه بذرها

۱) درصد جوانه‌زنی (Germination Percent): درصد جوانه‌زنی، نشانگر نسبت تعداد بذرهای جوانه‌زده تا روز n ام به تعداد بذر مصرفی (کاشت) می‌باشد که به صورت درصد بیان می‌گردد، یا به عبارت دیگر، درصدی از بذرها که تا پایان آزمون جوانه زده‌اند. برای محاسبه درصد جوانه‌زنی از فرمول زیر استفاده می‌شود.

$$9)\ \text{Germination}\ (\%) = \frac{G}{X} \times 100$$

G= تعداد بذرهای جوانه‌زده

X= تعداد کل بذرهای کشت شده

درصد جوانه‌زنی در مورد ظرفیت یک بذر می‌گوید. مثلاً یک بذر با ۸۰ درصد جوانه‌زنی نمی‌تواند بیش از ۸۰ نهال در ۱۰۰ عدد بذر تولید کند. بنابراین، در صورت نیاز به ۱۰۰ نهال، حداقل باید ۱۲۵ بذر (۱۲۵=۱۰۰۰۰/۸۰) کاشته شود.

۲) سرعت جوانه‌زنی (Germination Speed): سرعت جوانه‌زنی میانگین تعداد بذرهایی است که در یک دوره زمانی خاص (مثلاً ۷ روز یا ۱۴ روز) جوانه می‌زنند. سرعت جوانه‌زنی یک نمونه بذر نشان‌دهنده قدرت بذر است، البته هر چه سرعت جوانه‌زنی بذرها بیشتر باشد کیفیت یا قدرت بذرها بالاتر است.

شاخص سرعت جوانه‌زنی

طبق فرمول شرح داده شده در کتابچه راهنمای آزمون قدرت بذر AOSA (2002) محاسبه می‌شود.

$$10)\ GS = NSn/n$$

NSn= تعداد بذر جوانه زده تا روز nام

n = تعداد روز گذشته از آغاز جوانه‌زنی

سرعت سبزشدن بالاتر بذرها موجب می‌شود جوانه‌زنی این بذرها قبل از سله بستن خاک، که به‌طور معمول پس از آبیاری و یا بارندگی پس از کاشت ایجاد می‌شود، انجام می‌گردد. سرعت سبزشدن بالا به‌ویژه در شرایطی که کاشت دیر انجام می‌شود از طریق کوتاه کردن فاصله بین جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه در مزرعه مفید می‌باشد (Khazaei, 2001).

۳) متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی (Mean Germination Time): میانگین روزی است که برای جوانه‌زنی بذرها لازم است.

$$11)\ MGT = \frac{\Sigma\,(D\times N)}{\Sigma N}$$

N= تعداد بذرهایی که در روز D ام جوانه زدند.

D= تعداد روزهایی که از آغاز زمان جوانه‌زنی گذشته است.

متوسط زمان جوانه‌زنی معیاری از تعداد بذرهای زنده در یک توده بذری است و بذرهای مرده به حساب نمی‌آیند. در یک توده بذر، متوسط زمان جوانه‌زنی (معیاری از تعداد بذرهای جوانه زده در یک توده بذری) همبستگی زیادی با فاکتورهای محیطی (مانند درجه حرارت و غیره) دارد. متوسط زمان جوانه‌زنی، نشانگر مجموع حاصل‌ضرب تعداد بذرهایی که در روزی مشخص جوانه زدند (در تعداد روزهایی که از آغاز زمان جوانه‌زنی گذشته است نسبت به تعداد بذرهایی که در آن روز جوانه‌زدند، می‌باشد). بررسی‌های مزرعه‌ای نشان داده است که جوانه‌زنی زود، سریع و یکنواخت توده‌های بذری، منجر به تولید گیاهچه‌های قوی و در نهایت رسیدن به تراکم گیاهی مطلوب حتی در شرایط نامساعد محیطی می‌شود (Hastrup-Pedersen *et al.*, 1993).

۴) میزان جوانه‌زنی (Germination Rate): میزان جوانه‌زنی نیز معکوس متوسط زمان جوانه‌زنی است.

$$12)\ GR = \frac{\Sigma\ (D \times N)}{1/D} = \Sigma N$$

D= تعداد روزهایی که از آغاز زمان جوانه‌زنی گذشته است.

N= تعداد بذرهایی که در روز Dام جوانه زدند.

متوسط زمان جوانه‌زنی و میزان جوانه‌زنی همبستگی بسیار زیادی با کیفیت بذر دارند. هرچه سرعت جوانه‌زنی بیشتر و متوسط زمان جوانه‌زنی کمتر و میزان جوانه‌زنی بیشتر باشد، نشان از تحمل بیشتر به شرایط تنش خواهد داشت.

۵) میانگین جوانه‌زنی در روز (Mean Germination per day): میانگین درصد جوانه‌زده‌ها در هر روز می‌باشد.

$$13)\ MGD = GP/D$$

GP= درصد جوانه‌زنی

D= طول دوره آزمون

۶) آزمون قوه‌نامیه یا بنیه بذر(Seed Vigor): بنیه یا قدرت بذر، عبارت است از مجموع آن دسته از خواص بذر، که میزان فعالیت و عملکرد بذر یا تعداد بذر را در زمان جوانه‌زنی و سبز شدن گیاهچه تعیین می‌کند. بنیه بذر یک پارامتر کیفی مهم است که باید برای تکمیل آزمون‌های جوانه‌زنی و زنده‌مانی ارزیابی شود تا بینشی در مورد عملکرد بذر در مزرعه یا ذخیره‌سازی به دست آید. بنیه بذر را می‌توان با روش‌های مختلفی ازجمله پیری تسریع‌شده (AA)، هدایت الکتریکی (EC)، سیستم تصویربرداری بنیه بذر (SVIS)، آزمون سرد و شمارش سرعت جوانه‌زنی (GS) اندازه‌گیری کرد. بنیه بذر جزء مهمی از کیفیت بذر است و سطوح رضایت‌بخش علاوه بر معیارهای کیفی سنتی رطوبت، خلوص، جوانه‌زنی و سلامت بذر برای به دست آوردن توده گیاهی بهینه و تولید بالای محصولات زراعی ضروریست.

در اوایل سال ۱۸۷۶، Frederick Nobbe، قدرت را به‌عنوان «Triebkraft» یک کلمه آلمانی به‌معنای «نیروی محرک» توصیف کرد. Isely (1957) آن را به‌عنوان «مجموع تمام ویژگی‌های بذر که به نفع استقرار توده در شرایط مزرعه نامطلوب است» تعریف کرد. بذرهایی که عملکرد خوبی دارند به‌عنوان بذرهای «قوی بالا» نامیده می‌شوند.

تعریف بعدی از بنیه بذر، عبارت است از «مجموع کل آن خصوصیات بذر که سطح بالقوه فعالیت و عملکرد بذر را در طول جوانه‌زنی و سبزشدن گیاهچه تعیین می‌کند» (Perry, 1978). در اینجا ما بنیه بذر را به‌عنوان «مجموع خصوصیات بذری که توانایی بذرهای زنده را برای جوانه‌زدن سریع و یکنواخت و تولید نهال‌های سالم با سبزشدن سریع و یکنواخت تحت شرایط محیطی بهینه و غیربهینه تعیین می‌کند» تعریف می‌کنیم.

انجمن تحلیل‌گران رسمی بذر (AOSA) بنیه بذر را شامل آن دسته از خصوصیات بذر که ظرفیت ظهور یکنواخت، سریع و رشد نهال‌های معمولی را در طیف وسیعی از شرایط مزرعه تعیین می‌کند، تعریف کرده‌اند (McDonald, 1980).

در زمینه علمی آزمون بنیه بذر، افکار و نظرات زیادی وجود دارد. کارشناسان Vigor حتی اغلب در مورد نحوه املای کلمه با هم اختلاف نظر دارند! (Vigour/Vigor). برای درک بنیه باید به تعریف جوانه‌زنی نگاه کنیم. در آزمون جوانه‌زنی آزمایشگاهی، ظرفیت تولید یک نمونه بذر توسط گیاه ارزیابی می‌شود. بنابراین جوانه‌زنی یک آزمون قابل اعتماد و قابل تکرار است که برای مقایسه تعداد زیادی بذر براساس بالاترین ظرفیت آنهاست.

برتری آزمون بنیه بذر

- ✓ ارائه شاخص حساس‌تری از کیفیت بذر نسبت به آزمایش جوانه‌زنی.
- ✓ ارائه یک رتبه‌بندی ثابت از تعداد زیادی بذر از نظر عملکرد بالقوه آنها.
- ✓ روشی عینی، سریع و ساده بوده و از نظر اقتصادی عملی است.
- ✓ قابل تکرار می‌باشد.
- ✓ با توجه به تنوع و شرایط خاک، بانک بذر و شرایط محیطی، بنیه بذر نمی‌تواند یک مقدار مطلق نشان‌دهنده ظهور گیاهچه در مزرعه باشد، اما می‌تواند اطلاعاتی در مورد

سبزشدن در مزرعه، ظرفیت ذخیره‌سازی و رتبه‌بندی مداوم این ویژگی‌ها،که در آزمایش جوانه‌زنی ارائه نشده‌اند، ارائه دهد.

شاخص بنیه بذر

شاخص بنیه بذر با استفاده از فرمول پیشنهادی زیر به دو روش قابل محاسبه و به‌صورت عدد قابل بیان است (Abdul- Baki & Anderson, 1973).

$$14)\ Vi = G\% \times LM$$

$$15)\ Vi = G\% \times WM$$

G%= درصد جوانه‌زنی

LM= طول گیاهچه (سانتی‌متر)

WM= وزن خشک گیاهچه (میلی‌گرم)

آزمایش بنیه همراه با آزمایش جوانه‌زنی می‌تواند به فروشندگان و خریداران بذر اطمینان بیشتری در هنگام انتخاب تعداد بذر بدهد. دقت، یک عامل بسیار مهم در آزمایش قدرت بذر است. توانایی تجهیزات آزمایش بذر مورد استفاده باید به‌طور مداوم نظارت و بررسی شود. تحلیل‌گری که آزمون را انجام می‌دهد باید دارای مهارت باشد، اطلاعاتش به‌روز باشد و در انجام آزمایش راحت و با تجربه باشد.

آزمون جوانه‌زنی استاندارد (قوه نامیه)، حداکثر ظرفیت یک گروه به‌ویژه بذر را در شرایط ایده‌آل تعیین می‌کند. از آن جایی‌که قوه‌نامیه در شرایط ایده‌آل تعیین می‌گردد، الزاماً نمی‌تواند

منعکس‌کننده ظرفیت سبزشدن یک بذر در شرایط مزرعه‌ای باشد و این درحالی است که تفاوت معنی‌داری بین آزمون جوانه‌زنی استاندارد و سبزشدن در شرایط واقعی مزرعه وجود دارد. قوه‌نامیه نسبتاً بالا، الزاماً به مفهوم سبزشدن یکنواخت یا استقرار قوی در شرایط کشت مزرعه‌ای نیست. قدرت نامیه بذر، به‌عنوان یک ویژگی، ظرفیت سرعت و سبزشدن یکنواخت و توسعه گیاهچه‌های نرمال را در دامنه وسیعی از شرایط مزرعه تعیین می‌نماید.

با افزایش فرسودگی بذرها و کاهش بنیه بذر، درصد و سرعت سبزشدن بذرها در مزرعه کاهش می‌یابد، در نتیجه در اثر کاهش تراکم بوته در واحد سطح، کاهش رقابت رویشی بین بوته‌ها، نورگیری بیشتر و از سویی به علت پایین بودن قدرت رشد، بوته‌های فرسوده زودتر گل می‌دهند و زمان رسیدگی کاهش یافته و نهایتاً منجر به کاهش عملکرد می‌گردد (Gharineh *et al.*, 2004).

آزمون هیلتنر (Hiltner Test)

آزمایش هیلتنر (Hiltner Test)، در ابتدا توسط هیلتنر و ایهسن (Hiltner & Ihssen, 1911)، برای عفونت ناشی از بذر توسط *Fusarium* spp ساخته شد. پس از آزمون، مشاهده شد که کلئوپتیل‌های بذرهای آلوده کوتاه بوده و قادر به نفوذ به لایه شنی آجری به ضخامت ۳ سانتی‌متر بدون آسیب فیزیکی نیستند.

بذرهای آلوده به قارچ‌های بیماری‌زا و یا بذرهای آسیب‌دیده یا آنهایی که بنیه کمی دارند، اغلب ضعیف هستند و قادر به تحمل شرایط نامطلوب در طول جوانه‌زنی و سبز شدن در مزرعه نیستند. لایه سنگ ریزه آجری مورد استفاده در آزمایش هیلتنر، فشار فیزیکی را به بذرها وارد می‌کند، بنابراین گیاهچه‌هایی که به‌طور معمول از سنگ‌ریزه آجر بیرون می‌آیند، می‌توانند در

برابر تنش‌های فیزیکی موجود مقاومت کنند، بنابراین این آزمون روشی برای غربال کردن تعداد زیادی بذر از نظر قدرت می‌باشد.

روش کار

برای اجرای این آزمون، ابتدا مقدار ۱۰۰۰ گرم خرده آجر به ابعاد ۳ تا ۲ میلی‌متر را جدا کرده و در اتوکلاو استریل می‌شوند. برای جداکردن خرده آجر با این ابعاد، از دو عدد الک با قطر منافذ مورد نظر استفاده می‌شود. برای مرطوب نمودن خرده آجرها، میزان ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آنها اضافه نموده، سپس یک لایه سه سانتی‌متری در کف هر ظرف از خرده آجر ریخته و سه نمونه ۵۰ عددی از بذر هر گونه یا ژنوتیپ به‌طور تصادفی انتخاب و بر روی لایه خرده آجر کشت شده، سپس بذرها با یک لایه خرده آجر با ضخامت ۳ تا ۴ سانتی‌متر پوشیده می‌شوند. ظروف را در دمای ۱±۲۰ درجه سلسیوس در انکوباتور به‌مدت ۱۴ روز قرار داده و در پایان دوره آزمایش، تعداد گیاهچه‌های نرمال و غیر نرمال شمارش می‌گردند.گیاهچه‌های قوی می‌توانند نیروی کافی در برابر فشار لایه‌های آجر ایجاد کنند، درحالی‌که گیاهچه‌های ضعیف نمی‌توانند (Hampton & Tekrony, 1995).

آزمون‌های استرس یا تنش

این آزمون‌ها شامل: آزمون جوانه‌زنی سرد، آزمون سرد اشباع، آزمون پیری زودرس و آزمون‌های زوال کنترل‌شده (تنش اسمزی) هستند.

از آنجایی‌که انجام تنش روی بذر، بر قدرت جوانه‌زنی و سبزشدن آن تأثیر منفی می‌گذارد، درصورت بالا بودن میزان سبزشدن بذر در شرایط تنش، نشان‌دهنده قدرت بالای بذر است، بنابراین آزمون‌های تنش، میزانی برای سنجش قدرت بذر در شرایط خاص هستند.

شاخص استرس یا تنش

شاخص استرس جوانه‌زنی، نشانگر نسبت تعداد بذرهای جوانه‌زده در شرایط تنش به بذرهای جوانه‌زده در شرایط مساعد است که هرچه مقدار آن بیشتر باشد، نشان از تحمل بیشتر بذرها به شرایط تنش دارد. برای تعیین شاخص استرس از آزمون‌های استرس استفاده می‌شود که بذر را در شرایط نامطلوب قرار می‌دهند. شاخص استرس (Stress Index)، از فرمول ۱۶ قابل محاسبه است.

$$16)\ SI = \frac{NSS}{NSN} \times 100$$

SI= شاخص استرس

NSS= تعداد بذر جوانه‌زده در شرایط استرس

NSN= تعداد بذر جوانه‌زده در شرایط عادی

آزمون جوانه‌زنی سرد (Cold Test)

در این آزمون، جوانه‌زنی بذرها در دمای خیلی کمتر از دمای بهینه برای جوانه‌زنی انجام می‌گردد.

تعداد ۱۰۰ عدد بذر در چهار تکرار، برای هریک از ارقـام مورد آزمون در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده می‌شود و شمارش نهایی گیاهچه‌های طبیعی پس از ۱۱ روز شروع می‌گردد (Klos and Brummer, 2000a, b).

برای اندازه‌گیری طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و وزن خشک گیاهچه در پایان آزمون، تعـداد ده گیاهچـه به‌طور تصادفی از هر تکرار انتخاب و بعد اندازه‌گیری طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و وزن خشک گیاهچه انجام می‌شود.

آزمون سرد اشباع (Saturated Cold Test)

مدت زمان آزمون ۱۰ روز (هفت روز سرد، سه روز گرم) است.

دو تکرار از ۱۰۰ عدد بذر را در داخل سینی‌هایی که با خاک مزرعه غیر استریل پرشده‌اند در معرض دمای پایین (۱۰ درجه سانتی‌گراد) با ۶۰ تا ۷۰ درصد ظرفیت نگهداری آب، به‌مدت ۷ روز قرار می‌دهند، سپس برای یک دوره رشد ۳ تا ۷ روزه به شرایط جوانه‌زنی ایده‌آل (۲۵ درجه سانتی‌گراد) منتقل می‌شوند. انتظار می‌رود بذرهای با کیفیت پایین به دلیل آلودگی با میکروارگانیسم‌های موجود در خاک غیر استریل مزرعه، سرعت جوانه‌زنی پایینی داشته باشند. استفاده از ماسه و خاک در کتابچه راهنمای آزمون قدرت بذر AOSA توصیه شده است (AOSA, 2002).

آزمون پیری زودرس (Accelerated Aging Test)

از این آزمون، برای تعیین قابلیت انبارداری بذرهای گیاهان مرتعی و دارویی در محیط گرم و مرطوب استفاده می‌شود. تغییرات حرارتی در این آزمون، نبایستی بیش از ±۰/۳ درجه سانتی‌گراد باشد، زیرا حتی تغییرات جزئی درجه حرارت (مثلاً ۰/۵ درجه سانتی‌گراد) تأثیر به‌سزایی روی نتیجه آزمون خواهد داشت.

در این روش، به‌طورخلاصه می‌توان گفت که حدود چهار گرم یا ۱۰۰ عدد از بذر هریک از گیاهان مرتعی و یا دارویی، در چهار تکرار، ابتدا برای ضد عفونی در محلول ۱۰ درصد هیپوکلرید سدیم و بعد در محلول ۲ در هزار قارچ‌کش کار بوکسین‌تیرام به‌مدت یک دقیقه قرارگرفته و بعد نمونه مورد نظر با آب مقطر شستشو داده می‌شود. نمونه‌ها برای خشک‌شدن در آون با دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت قرار داده شده و بعد بذرها در سینی مشبک در داخل جعبه پلاستیکی که محتوای ۴۰ میلی‌لیتر از آب دوبار تقطیر

شده است قرار داده می‌شوند. بذرها با بستن جعبه‌ها و قرار دادن آنها در ۴۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۹۶ ساعت و ۱۰۰ درصد رطوبت نسبی روند پیری را طی می‌نمایند. سپس بذرها را برداشته و در شرایط استاندارد جوانه‌زنی ارزیابی می‌شوند. حالت تغییریافته این روش، افزایش درجه حرارت تا ۴۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۶۰ ساعت و بعد انجام آزمون جوانه‌زنی استاندارد است (Hall & Wiesner, 1990).

نمونه‌ای از این آزمون برای تعیین طول عمر در بذر گونه‌های مختلف گیاه پونه‌سا (*Nepeta* spp.) استفاده شده است (صالحی و همکاران، ۱۴۰۳).

در آزمون دیگر، این روش برای تعیین زنده‌مانی بذرهای چهار رقم یونجه همدانی، یزدی، مائوپا و قره یونجه انجام شده است. بذرها به‌مدت ۲، ۳ و ۴ روز با قرارگرفتن در حرارت ۴۱ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۱۰۰ درصد در معرض پیری زودرس قرار گرفتند و پس از طی این مدت برای آزمون‌های استاندارد جوانه‌زنی، هدایت الکتریکی و تراوش پتاسیم استفاده شدند (صدرآبادی حقیقی، ۱۳۸۶).

آزمون زوال کنترل‌شده (Controlled Deterioration Test) یا تنش اسمزی

آزمون تنش اسمزی برای ارزیابی سبز شدن گیاهچه در مزرعه انجام می‌شود. بذرها به یکی از تنش‌های مورد نظر مانند دمای پایین، شوری بالا یا کمبود اکسیژن تحت فشار قرار می‌گیرند. اما شدت و مدت زمان تنش باید به گونه‌ای باشد که بذرها را به‌طور قابل توجهی تحت فشار قرار دهد، اما آنها را از بین نبرد. شدت و مدت زمان تنش به نوع بذر و نوع تنش اعمال شده بستگی دارد.

در آزمون تنش اسمزی، بذرها را برای جوانه‌زنی در محلول‌هایی از قبیل کلرید سدیم، گلیسرول، ساکارز، پلی‌اتیلن گلیکول و مانیتول با ظرفیت اسمزی معین قرار می‌دهند (Shrma,

1973). شواهد نشان می‌دهد که بعضی مواد اسمزی با وزن مولکولی کم (مانند ساکارز، گلیسرول و مانیتول) می‌توانند وارد بذر درحال جوانه‌زنی شوند. در این میان، پلی‌اتیلن گلیکول (PEG) با وجود محلول بودن در آب و میل ترکیبی کم با محیط، بدون وقوع مسمومیت مولکول آن و توانایی ایجاد تغییر در ظرفیت اسمزی، جذب آب را کاهش می‌دهد (Turkan *et al*., 2005; Zhu *et al*., 2006). اگر جذب آب توسط بذر دچار اختلال گردد و یا جذب به‌آرامی انجام شود فعالیت‌های متابولیکی جوانه‌زنی در داخل بذر به‌آرامی انجام خواهند شد، درنتیجه مدت زمان لازم برای خروج ریشه‌چه از بذر افزایش‌یافته و سرعت جوانه‌زنی کاهش می‌یابد (De & kar, 1994).

در این آزمون برای ایجاد تنش اسمزی از کلرید سدیم (Nacl) و جهت تهیه محلول از روش وانت هوف استفاده شد.

$$17)\ \Psi\pi = -mirt$$

$\Psi\pi$= ظرفیت اسمزی برحسب بار

m= تعداد مول نمک در ۱۰۰۰ گرم آب مقطر (مولاریته)

i= ضریب یونیزاسیون

r= ثابت گازها

T= درجه حرارت مطلق برحسب کلوین

روش کار

۱۰۰ عدد بذر از گیاه مرتعی یا دارویی انتخاب و بعد از محلول آماده‌شده بر روی بذرها اضـافه می‌گردد. شـمارش‌هـا ۳ و ۹ روز پس از شروع آزمون قابل ثبت هستند (بهشتی و همکاران، ۱۳۷۹ ;Cisse and Ejeta, 2003).

نتیجه‌گیری

در آزمایشگاه بانک ژن منابع طبیعی، بذرهای گیاهان وحشی که از مناطق مختلف کشور جمع‌آوری می‌شوند پس از طی مراحل بوجاری، با استفاده از آزمون‌های مختلف از لحاظ قدرت، بنیه، جوانه‌زنی، رطوبت و خلوص ارزیابی می‌گردند. این آزمون‌ها استاندارد بوده و مطابق با قوانین ایستا (ISTA) می‌باشد.

روش‌های شکستن خواب در گیاهان منابع طبیعی

روش‌های خواب‌شکنی برخی از گیاهان مرتعی و دارویی در جدول ۴ آورده شده است. خواب در گیاهان منابع طبیعی ناشی از جنین و یا پوسته غیرقابل نفوذ بذر و یا تلفیقی از هردوی آنهاست. برای حذف پوسته از روش‌های اسکاریفیکاسیون (حذف پوسته سخت با استفاده از مواد شیمیایی خورنده مثل اسید سولفوریک، آب و یا به‌صورت مکانیکی مثل سمباده و غیره) استفاده می‌شود.

برای حذف خواب جنین می‌توان از محرک‌های شیمیایی که باعث حذف فعالیت بازدارنده‌های رشد مثل اسید آبسیزیک می‌شوند استفاده کرد؛ از این مواد می‌توان به نیترات‌پتاسیم، سرمادهی، اسیدجیبرلیک، هیپوکلریت سدیم و ... اشاره کرد.

جدول ۴. روش‌های شکستن خواب برخی از گیاهان مرتعی و دارویی

(بستر کاشت روی کاغذ TPمی‌باشد)

نام گونه	نام فارسی	نام تسهیل‌کننده جوانه‌زنی	غلظت تسهیل‌کننده	منبع
Onobrychis sativa	اسپرس	میکرو ارگانیسم‌های مؤثر	۲ درصد	Abbasi Khalaki *et al*., 2021
Thymus kotschyanus	آویشن کوهی	نانو نقره	۲۰ درصد	Abbasi Khalaki *et al*., 2016
Festuca ovina	فستوکا	نانو نقره	۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد	Abbasi Khalaki *et al*., 2019
Ferula assafoetida	کما	اسیدجیبرلیک + پیش‌سرما	۲۵۰ پی‌پی‌ام و سرمای ۴- ۲ درجه	Keshtkar et al., 2009
Medicago sativa	یونجه	پتاسیم سیلیکات	۱۰۰۰ میلی‌گرم درلیتر	Abbasi Khalaki *et al*., 2021
Medicago rugose	یونجه	گرما	بالای ۷۰ درجه	Gresta *et al*. 2011; Luna, 2020
Medicago ciliaris	یونجه	گرما	بالای ۷۰ درجه	Gresta et al. 2011; Luna, 2020
Prangos ferulacea	جاشیر	اسیدجیبرلیک + سرما	۱۰۰۰ پی‌پی‌ام و سرمای ۴- ۲ درجه	Keshtkar *et al*., 2009
Dorema ammoniacum	کندل	سرما	۴- ۲ درجه	Irvani *et al*., 2012
Onobrychis L.	اسپرس	حذف پوشش بذر و سرمادهی	۴ درجه سانتی‌گراد	جعفری و همکاران، ۱۳۸۹
Onobrychis sativa	اسپرس	نانوتیتانیوم	۱۰۰۰ میلی‌گرم درلیتر	معمری و همکاران، ۱۳۹۷

نام گونه	نام فارسی	نام تسهیل‌کننده جوانه‌زنی	غلظت تسهیل‌کننده	منبع
Colchicum kotschyi	گل حسرت	اسیدجیبرلیک	۵۰۰ پی‌پی‌ام	عزیزی و همکاران، ۱۳۹۸
Robinia pseudoacacia	اقاقیا	آب‌جوش	۱۰۰ درجه	محمودی و ناصری ۱۳۹۸
Tamarindus indica	تمرهندی	آب‌جوش	۱۰۰ درجه	خالقی و همکاران، ۱۳۸۸
Acacia arabica	آکاسیا	آب‌جوش	۱۰۰ درجه	خالقی و همکاران، ۱۳۸۸
Glycyrrhiza glabra	شیرین بیان	آب‌جوش	۱۰۰ درحه	شیدای کرکج و همکاران، ۱۴۰۰
Arctium lappa	بابا آدم	آب داغ	۷۰ درجه	نبئی و همکاران، ۱۳۹۲
Silybum marianum	خارمریم	نیترات پتاسیم	۰/۲ درصد	نبئی و همکاران، ۱۳۹۳
Astragalus daecensis	گون	اسیدسولفوریک	۹۰ درصد	سلیم‌پورو همکاران، ۱۳۹۱
Gleditsia caspica	گیاه لیلکی	اسیدسولفوریک	۹۸ درصد	فضلی و همکاران، ۱۳۹۹
Crataegus aminii	زالزالک	نیترات پتاسیم	۱ درصد	میرزاده واقفی و همکاران، ۱۳۹۲

نام گونه	نام فارسی	نام تسهیل‌کننده جوانه‌زنی	غلظت تسهیل‌کننده	منبع
Crataegus babakhanloui	زالزالک	نیترات پتاسیم	۱ درصد	میرزاده واقفی و همکاران، ۱۳۹۲
Crataegus persica	زالزالک	نیترات پتاسیم	۰/۵ درصد	میرزاده واقفی و همکاران، ۱۳۹۲
Albizia julibrissin	شب‌خسب	اسیدسولفوریک	۵۰ درصد	نصیری و عیسوند، ۱۳۸۰
Albizia julibrissin	شب‌خسب	آب داغ + اسیدسولفوریک	۱۰۰ درجه + ۲۲/۵ درصد	سپهرفر،۱۴۰۰
Ceratonia siliqua	خرنوب	اسیدسولفوریک	۹۰ درصد	محمدخانی و همکاران، ۱۳۹۳
Rubia tinctorum	روناس	اسیدسولفوریک	۹۰ درصد	محمدخانی و همکاران، ۱۳۹۳
Rheum ribes	ریواس	اسیدجیبرلیک+ پیش‌سرما	۹۰۰ میلی‌گرم در لیتر +۴ درجه	محمدخانی و همکاران، ۱۳۹۳
Cycas revolute	سیکاس	سرمادهی+ اسیدجیبرلیک+ اسیدسولفوریک	۵ درجه+۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر+ ۱۵ مولار	حجتی و همکاران، ۱۳۸۶
Notobasis syriaca	گیاه بادآورد	اسیدسولفوریک+ اسیدجیبرلیک	غلیظ+ ۴۰۰ پی‌پی‌ام	زارع و موسوی، ۱۴۰۰

نام گونه	نام فارسی	نام تسهیل‌کننده جوانه‌زنی	غلظت تسهیل‌کننده	منبع
Atriplex leucoclada	سلمک	حذف پوسته بذر	-	شمسی و همکاران، ۱۳۹۴
Salvia verticillata	مریم گلی	اسید جیبرلیک	۵۰۰ پی‌پی‌ام	خاکپور و همکاران، ۱۳۹۲
Salvia officinalis	مریم گلی	اسید جیبرلیک	۲۰۰ پی‌پی‌ام	مجیدی و فراهانی، ۱۴۰۰
Eryngium caeruleum	چوچاق	سرمادهی + اسید جیبرلیک	۴ درجه + ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر	لطفی اصل و همکاران، ۱۳۹۹
Smyrniopsis aucheri	پیکل	سرمادهی	۵ درجه سانتی‌گراد	غلامی و همکاران، ۱۳۹۸ a
Smyrnium cordifolium	آوندول	سرمادهی + اسید جیبرلیک	۵ درجه + ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر	غلامی و همکاران، ۱۳۹۸ b
Brassica napus	شلغم	اسید جیبرلیک + اسید سالیسیلیک	۲۵۰پی‌پی‌ام + ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر	مشکین‌فام و رحیمی‌زاده، ۱۳۹۹
Carthamus tinctorious	گلرنگ	نیترات پتاسیم	۲ درصد	پوررحیم و همکاران، ۱۳۹۴
Zygophyllum atriplicoides	قیچ	جیبرلین	۳ میلی‌مولار	عموآقایی، ۱۳۹۲
Kelussia odoratissima	کرفس کوهی	پیش سرمادهی، نیترات پتاسیم، مواد ازته	۴ درجه، ۰/۲ درصد، ۰/۵ درصد	عموآقایی و ولی‌وند، ۱۳۹۳

نام گونه	نام فارسی	نام تسهیل‌کننده جوانه‌زنی	غلظت تسهیل‌کننده	منبع
Scrophularia striata	گل سازویی	نیترات پتاسیم	۳ درصد	شریفی‌مقدم و احمدی، ۱۳۹۶
Helianthus annus	آفتابگردان	نیترات پتاسیم	۵۰۰ پی‌ای‌ام	سیدی، ۱۳۹۹
Poterium Sanguisorba minor	توت روباهی	خیساندن بذرها با آب	۲۵ درجه	احسانی و همکاران، ۱۳۹۴
Hordeum vulgare	جو	دماهای بالا	۳۰ درجه	بیابانی و همکاران، ۱۳۹۶
Brassica napus	منداب	دماهای بالا	۳۰ - ۱۶ درجه	لطیفی و همکاران، ۱۳۸۳
Hibiscus sabdariffa	چای ترش	دماهای بالا	۳۰ درجه	راحمی و همکاران، ۱۳۹۲
Alium altissimum	موسیر	سرمادهی	۴ درجه سانتی‌گراد	شریفی و همکاران، ۱۳۹۴
Rubia tinctorum	روناس	سرمادهی	۴ درجه سانتی‌گراد	شریفی و همکاران، ۱۳۹۴
Arctium lappa	باباآدم	خراش‌دهی+ آب داغ + اسیدجیبرلیک	۷۰ درجه + ۵۰۰ پی‌پی‌ام	فرهودی و همکاران، ۱۳۹۹
Gundelia tournefortii	کنگر وحشی	خراش‌دهی + اسید جیبرلیک + سرمادهی	۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر +۴ درجه	ویسی و همکاران، ۱۳۹۷

نام گونه	نام فارسی	نام تسهیل‌کننده جوانه‌زنی	غلظت تسهیل‌کننده	منبع
Hyoscyamus reticulatus	بذرالبنج	سرمادهی مرطوب + اسید جیبرلیک	۴ درجه +۵۰۰ پی‌پی‌ام	رضائی چیانه و همکاران، ۱۳۹۳
Ziziphus jujuba	عناب	حذف پوشش سخت بذرها + تیوره	۵۰۰ پی‌پی‌ام	سلیمانی‌نژاد و همکاران، ۱۳۹۲
Malva neglcta	پنیرک	خراش‌دهی + سرمادهی	۴ درجه سانتی‌گراد	مندنی و همکاران، ۱۳۹۷
Ferula gomosa	باریحه	سرمادهی	۴ درجه سانتی‌گراد	نصیری، ۱۳۹۷
Dracocephalum kotschyi	زرین گیاه	آب جاری + سرمادهی	۴ درجه سانتی‌گراد	نصیری، ۱۳۹۷
Valeriana officinalis	سنبل‌الطیف	سرمادهی	۴ درجه سانتی‌گراد	نصیری، ۱۳۹۷
Dorema aucheri	کندل کوهی	سرمادهی	۴ درجه سانتی‌گراد	نصیری، ۱۳۹۷
Daphne mucronata	خوشک	سرمادهی	۴ درجه سانتی‌گراد	نصیری، ۱۳۹۷
Hertia angustifolia	کرقیچ	سرمادهی	۴ درجه سانتی‌گراد	نصیری، ۱۳۹۷
Diplotaenia damavandica	کزل	سرمادهی	۴ درجه سانتی‌گراد	نصیری، ۱۳۹۷
Capanis decidua	کور	پتاسیم نیترات + سرمادهی	۱ درصد+٤ درجه سانتی‌گراد	نصیری، ۱۳۹۷

نام گونه	نام فارسی	نام تسهیل‌کننده جوانه‌زنی	غلظت تسهیل‌کننده	منبع
Albixia julibrissin	شب‌خسب	اسیدسولفوریک + سرمادهی	۵۰ درصد+۴ درجه سانتی‌گراد	نصیری، ۱۳۹۷
Stocksia brahuica	کهتر	خراش مکانیکی + آب داغ	۹۰ درجه	نصیری، ۱۳۹۷
Arctium lappa	بابا آدم	سرمادهی	۴ درجه سانتی‌گراد	نصیری، ۱۳۹۷
Salsola foetida	علف شور	سرمادهی	۴ درجه سانتی‌گراد	نصیری، ۱۳۹۷
Linum album	کتان سفید	جیبرلیک اسید + سرمادهی	۲۰۰پی‌پی‌ام+۴درجه	نصیری، ۱۳۹۷
Albizia julibrissin	شب‌خسب	خراش‌دهی با اسید سولفوریک	۵۰ درصد	نصیری، ۱۳۸۰
Eucalyptus grandis	اکالیپتوس	سرمادهی	۴ درجه سانتی‌گراد	نصیری، ۱۳۹۱
Eucalyptus microtheca	اکالیپتوس	سرمادهی	۴ درجه سانتی‌گراد	نصیری، ۱۳۹۱
Moringa peregerina	گازرخ	شوری	۱۰۰ میلی مولار	نصیری، ۱۳۹۱
Myrtus communis	مورد	خیساندن با آب + حذف غلاف	۲۵ درجه	نصیری، ۱۳۹۱
Vitex pseudo-negundo	بنگله	خیسانده در آب	۶۰ درجه	نصیری، ۱۳۹۱

نام گونه	نام فارسی	نام تسهیل‌کننده جوانه‌زنی	غلظت تسهیل‌کننده	منبع
Tanacetum parthenium	بابونه گاوی	نیترات پتاسیم	۰/۲ درصد	احیایی و حسینی، ۱۳۹۰
Portulaca oleracea	خرفه	نیترات پتاسیم	۰/۲ درصد	احیایی و حسینی، ۱۳۹۰
Sisymbrium irio	خاکشیر	نیترات پتاسیم	۰/۲ درصد	احیایی و حسینی، ۱۳۹۰
Saponaria officinalis	گل صابونی	خراش‌دهی با سنباده	به‌مدت ۲۰ ثانیه	احیایی و حسینی، ۱۳۹۰
Althaea officinalis	ختمی	حذف پوسته بذر	-	احیایی و حسینی، ۱۳۹۰
Calendula officinalis	همیشه بهار	حذف پوسته بذر	-	احیایی و حسینی، ۱۳۹۰
Silybum mariaum	خارمریم	هیپوکلریت سدیم	۰/۵ درصد	احیایی و حسینی، ۱۳۹۰

منابع

احسانی، س.م.، تمرتاش، ر. و طاطیان، م.ر. ۱۳۹۴. اثر تیمارهای مختلف بر جوانه‌زنی و رشد گونه توت روباهی *Sanguisorba minor*. نشریه علمی مرتعداری، ۲(۱): ۶۵- ۷۸.

احیایی، ح.ر. و خواجه‌حسینی، م. ۱۳۹۰. ارزیابی ویژگی‌های جوانه‌زنی و خواب در سی توده بذری گیاهان دارویی. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران، ۹(۴): ۶۵۱-۶۵۸.

بهشتی، ع.، توکلی کاخکی، ح. و کوچکی، ع. ۱۳۷۹. تأثیر توام تنش شوری و دما بر جوانه‌زنی ارقام یونجه. دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مجله علوم و صنایع کشاورزی.۱۴، ۷۱- ۷۹.

بیابانی، ع.، زراعی، م.، سنچولی، س. و رومانی، ا. ۱۳۹۶. تأثیر دما و مدت زمان قرار دادن بذور در دماهای مختلف بر خصوصیات جوانه‌زنی بذر جو. تحقیقات کاربردی اکوفیزیولوژی گیاهی، ۴(۱): ۱۷۳-۱۸۶.

پوررحیم علی‌آبادی، س.ن.، آقایاری، ف. و حبیبی، د. ۱۳۹۴. تأثیر روش‌های مختلف پرایمینگ بر خصوصیات جوانه‌زنی بذر گلرنگ (*Carthamus tinctorious*) تحت شرایط تنش خشکی. سومین همایش ملی مباحث نوین در کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، کرج ۲۶ آذرماه.

توکلی کاخکی، ح.ر.، بهشتی، ع.ر.، نصیری محلاتی، م. ۱۳۸۴. ارزیابی آزمون‌های قدرت بذر جهت تعیین کیفیت بذر یونجه. مجله پژوهش‌های زراعی ایران، ۳(۱): ۲۵-۳۴.

جعفری، ع.ا.، نصیری، م.، مداح عارفی.، ح.، امیرخانی، م. و ایزدپناه، م. ۱۳۸۹. بررسی جوانه‌زنی و شکستن خواب بذر برخی از گونه‌های جنس *Onobrychis* موجود در بانک ژن منابع طبیعی. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی.

حجتی، ی.، نادری، ر.، فرامرزی، ع. و قلی‌پور، ج. ۱۳۸۶. بررسی اثر تیمارهای سولفوریک اسید، جیبرلیک اسید و دما بر جوانه‌زنی بذر سیکاس (*Cycas revolute* L.). نشریه دانش نوین کشاورزی پایدار، ۳(۹): ۱۳- ۲۲.

خاکپور، آ.، حبیبی بی‌بالانی، ق. و مهدی، خ. ۱۳۹۲. شکست خواب بذر و تحریک جوانه‌زنی بذر مریم‌گلی بنفش. نشریه اکوسیستم‌های طبیعی ایران. ۳(۳): ۶۷- ۷۸.

خالقی، ا.، دهقان، ع. و معلمی، ن. ۱۳۸۸. اثرات تیمار اسیدسولفوریک و آب گرم بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذور تمر هندی و آکاسیا. مجله علوم باغبانی ایران،۴۰ (۳): ۷۱- ۷۷.

راحمی، ع.، نخزری، ع. و قره‌خانی، م. ۱۳۹۲. اثر شوری و دما بر خصوصیات فیزیولوژیک جوانه‌زنی و رشد گیاهچه چای ترش (*Hibiscus sabdariffa*). نشریه تحقیقات بذر، ۳(۳): ۱۳-۲۰.

رضائی چیانه، ا.، تاج‌بخش، م.، ولیزادگان، ا.، بنائی‌اصل، ف. و مهدوی‌کیا، ح. ۱۳۹۳. بررسی روش‌های موثر در شکستن خواب بذرالبنج مشبک (*Hooscyamus reticulatus*). نشریه پژوهش‌های زراعی ایران، ۱۲(۳): ۲۴۶-۲۵۳.

زارع، ا. و موسوی، س.ا. ۱۴۰۰. ارزیابی اثر تیمارهای مختلف بر شکست خواب بذر گیاه بادآورد (*Notobasis syriaca*) به‌عنوان اولین گزارش در ایران. علوم گیاهان زراعی ایران، ۵۲(۲): ۱۳۳-۱۴۴.

زمانی، م.ح.، جومی، ع.، کشتکار، ا.، مهدویان، ع. و ساسان‌فر، ح.ر. ۱۴۰۱. کاربرد پردازش تصویر در تشخیص درصد رنگ‌پذیری بذر با آزمون تترازولیوم. مجله دانش علف‌های هرز، ۱۸(۲): ۶۵-۷۳.

سپهرفر، د. ۱۴۰۰. مقایسه اثر شکستن خواب بذر شب‌خسب (*Albizia julibrissin*) به‌روش آب داغ، آب ژاول و اسیدسولفوریک. نشریه تحقیقات بذر، ۱۱(۲): ۵۴- ۶۱.

سلیمانی‌نژاد، ع.، انصاری، خ. و نائینی، م.ر. ۱۳۹۲. بررسی اثر تیمارهای مختلف بر جوانه‌زنی بذر دو اکوتیپ عناب (*Ziziphora jujube*). دومین همایش ملی مباحث نوین در کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، دانشکده کشاورزی، ۲۸ آذرماه.

سلیم‌پور، ا.، درخشان‌فر، ا.، رمانی مقدم، م.ر. و مداحی، س. ۱۳۹۱. بررسی تأثیر اسیدسولفوریک ۹۰ درصد بر شکستن خواب بذر و تعیین درصد جوانه‌زنی گون گزانگبین (*Astragalus daecensis*). اولین همایش ملی علوم و تکنولوژی بذر، دانشگاه رازی، کرمانشاه.

سیدی. س.م. ۱۳۹۹. اثرات نیترات پتاسیم بر خصوصیات جوانه‌زنی و رشد اولیه آفتابگردان تحت تنش‌های شوری و خشکی. مجله علمی- پژوهشی زراعت و اصلاح نباتات ایران، ۱۶(۱): ۵۵-۶۴.

شریفی، ح.، نعمتی، ا. و گردکانه، م. ۱۳۹۴. بررسی اثرات شکستن خواب بر ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر دو گونه گیاه دارویی موسیر (*Alium altissimum*) و روناس (*Rubia tinctorum*). اکوفیزیولوژی بذر، ۱(۲): ۱۰۵- ۱۱۶

شریفی مقدم، ح. و احمدی، خ. ۱۳۹۶. تأثیر پرایمینگ نیترات پتاسیم بر ویژگی‌های جوانه‌زنی گل‌سازویی (*Scrophularia striata*) تحت تنش شوری. نشریه تحقیقات بذر۷(۳): ۲۷- ۳۶.

شمسی، م.، روشندل، پ. و خرازیان، ن. ۱۳۹۴. اثر تیمارهای مختلف در شکست خواب و تحریک جوانه‌زنی بذر سلمه (*Atriplex leucoclada* Boiss.). مجله پژوهشهای گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران)، ۲۸(۵):۱۰۴۳- ۱۰۵۲.

شیدای کرکج، ا.، امامی، م.، یونسی‌حمزه‌خانلو، م. و جهان‌تاب، ا. ۱۴۰۰. تأثیر تیمارهای مختلف بر شکست خواب و شاخص‌های جوانه‌زنی بذر گونه دارویی شیرین‌بیان. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران)،۳۴(۴): ۳۱۳- ۳۲۱.

صالحی شانجانی، پ.، رسول‌زاده، ل.، کلاگری، م.، فلاح‌حسینی، ل. و جوادی، ح. ۱۴۰۳. بررسی طول عمر بذر گونه‌های مختلف پونه‌سا (*Nepeta* spp.) در شرایط ex-situ. علوم و تحقیقات بذر ایران، ۱۱(۱): ۳۱-۴۹.

صدرآبادی حقیقی، ر. ۱۳۸۶. مقایسه آزمون‌های تراوش پتاسیم و هدایت الکتریکی در ارزیابی بنیه بذر یونجه. مجله پژوهش‌های زراعی ایران، ۵(۱): ۹۷-۱۰۹.

عزیزی، ه.، رضوانی‌مقدم، پ.، پارسا، م.، شور، م. و خراسانی، ر. ۱۳۹۸. بررسی تیمارهای شکست خواب و برخی خصوصیات جوانه‌زنی بذر گیاه دارویی گل حسرت (*Colchicum kotschyi* Boiss.). علوم و تحقیقات بذر ایران، ۶(۳): ۳۹۹-۴۱۰.

عموآقایی، ر. ۱۳۹۲. تأثیر برخی هورمون‌ها و ترکیبات ازته روی ظرفیت، سرعت و هماهنگی جوانه‌زنی بذرهای قیچ تحت تنش شوری. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران)، ۲۶(۴):۴۶۵- ۴۷۵.

عموآقایی، ر. و ولی‌وند، م. ۱۳۹۳. اثر مدت زمان سرمادهی، غلظت، نوع و زمان تیمار مواد ازته بر جوانه‌زنی و رشد دانه‌رست کرفس کوهی (*Kelussia odoratissima* Mozaff.). مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران)، ۲۷(۳): ۴۶۵-۴۷۷.

غلامی، م.، دانش شهرکی، ع.، اسدی بروجنی، ا.، طهماسبی، پ. و شیرمردی، ح.ع. ۱۳۹۸a. اثر تیمارهای سرمادهی و درجه حرارت بر شاخص‌های جوانه‌زنی، رشدی و استقرار گیاه *Smyrniopsis aucheri* Boiss مرتعی. نشریه حفاظت زیست بوم گیاهان، ۷(۱۵): ۷۰- ۵۵.

غلامی، م.، دانش‌شهرکی، ع.، اسدی، ا.، طهماسبی، پ و شیرمردی، ح.ع. ۱۳۹۸ b. اثر پیش‌سرما و اسیدجیبرلیک بر شکست خواب و شاخص‌های رشد و استقرار گیاه آوندیل (*Symrnium cordifolium* Boiss). نشریه مرتع، ۱۳(۴): ۵۷۱-۵۸۳.

فرهودی، ر.، مدحج، ع. و معتمدی، م. ۱۳۹۹. بررسی روش‌های شکست خواب بذر بابا آدم (*Arctium lappa*). علوم و تحقیقات بذر ایران، ۷(۴): ۵۰۵- ۵۱۷.

فضلی، م.، اکبری‌نیا، م.، طبری کوچکسرایی، م.، یوسف‌زاده، ح. و مسلمی سیدمحله، س.م. ۱۳۹۹. اثر تیمارهای خراش‌دهی بر جوانه‌زنی بذر لیلکی (*Gleditsia caspica* Desf). مجله جنگل ایران، ۱۲(۳): ۳۰۵- ۳۱۵.

لطفی‌اصل گیگلو، م.، اویسی، م.، رحیمیان مشهدی، ح.، پورمراد کلیبر، ب. و نعیمی، م.ح. ۱۳۹۹. تأثیر تیمارهای سرمادهی مرطوب و اسید جیبرلیک بر پارامترهای دمایی جوانه‌زنی علف‌هرز چوچاق (*Eryngium caeruleum*). علوم گیاهان زراعی ایران، ۵۱(۱): ۱۰۰- ۹۱.

لطیفی، ن.، سلطانی، ا. و اسپانر، د. ۱۳۸۳. تأثیر دما بر مؤلفه‌های جوانه‌زنی ارقام کلزا. نشریه علوم کشاورزی ایران. ۳۵(۲): ۳۱۳- ۳۲۱.

مجیدی، ع. و فراهانی، ل. ۱۴۰۰. ارزیابی تأثیر اسیدجیبرلیک و سولفوریک بر بهبود جوانه‌زنی بذر مریم‌گلی *Salvia officinalis*. پنجمین کنگره بین‌المللی توسعه کشاورزی منابع طبیعی، محیط زیست و گردشگری. دانشگاه تبریز.

محمدخانی، ع.، روحی، و.، نوربخش سامانی، م. ۱۳۹۳. اثر تیمارهای مختلف بر شکست خواب و شاخص‌های جوانه‌زنی بذر گیاهان دارویی روناس (*Rubia tinctorum* L.)، ریواس (*Rheum ribes* L.) و خرنوب (*Ceratonia siliqua* L.) . پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه شهرکرد.

محمودی، ج و ناصری، ب. ۱۳۹۸. بررسی تأثیر برخی تیمارهای فیزیکی و شیمیایی در شکست خواب و جوانه‌زنی بذر گونه اقاقیا (*Robinia pseudoacacia* L.). نشریه تحقیقات بذر، ۹(۲): ۵۲-۶۰.

مشکین‌فام، م. و رحیمی‌زاده، م. ۱۳۹۹. بررسی تأثیر پیش تیمار بذر با جیبرلیک اسید و سالیسیلیک اسید بر خصوصیات جوانه‌زنی بذر شلغم در شرایط دمایی مختلف. یافته‌های نوین درکشاورزی، ۱۵(۱): ۴۷- ۵۵.

معمری، م.، علی‌جعفری، ا.، عباسی خالکی، م. و قربانی، ا. ۱۳۹۷. تأثیر نانوپرایمینگ بر مؤلفه‌های رشد *Onobrychis sativa* Lam. در شرایط آزمایشگاهی. نشریه علمی پژوهشی مرتع، ۱۲(۱): ۱۰۱-۱۱۱.

مندنی، ف.، جلیلیان، ا. و الفت، آ. ۱۳۹۷. کارایی پیش تیمارهای شیمیایی و مکانیکی بر شکستن خواب بذر و ویژگیهای جوانه‌زنی (*Malva neglcta*). پژوهش‌های بذر ایران، ۵(۱): ۵۵-۷۰.

میرزاده واقفی، س.، جلیلی، ع. و جم‌زاد، ز. ۱۳۹۲. تأثیر اسیدجیبرلیک، اسید سولفوریک و نیترات پتاسیم بر جوانه‌زنی سه گونه زالزالک بومی ایران. نشریه جنگل و فراورده‌های چوب، ۶۶(۲): ۱۳۵-۱۴۶.

نبئی، م.، روشندل، پ. و محمدخانی، ع. ۱۳۹۲. بررسی اثر تیمارهای مختلف شیمیایی، آب داغ و آب جاری بر شکست خواب بذرهای باباآدم (*Arctium lappa*). مجله پژوهش‌های گیاهی (زیست‌شناسی)، ۲۶(۲):۲۱۷- ۲۲۵.

نبئی، م.، روشندل، پ. و محمدخانی، ع. ۱۳۹۳. بررسی اثر تیمارهای مختلف شیمیایی و غیر شیمیایی بر شکست خواب بذر خارمریم (*Silybum marianum* L. Gaertner). نشریه پژوهش‌های کاربردی زراعی، ۱۰۳: ۴۸- ۵۴.

نصیری، م. و عیسوند، ح.ر. ۱۳۸۰. بررسی اثر اسیدسولفوریک بر شکستن خواب و جوانه‌زنی بذرهای شب‌خسب (*Albizia julibrissin* Durazz) و خرنوب (*Ceratonia silique* L.). نشریه تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۸: ۹۵- ۱۱۱.

نصیری، م.۱۳۹۱. ارزیابی نمونه‌های مختلف بذرهای جنگلی ارتدکس موجود در بانک ژن منابع طبیعی. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی شماره مصوب: ۱۶-۸۶-۰۰۰۰-۰۹-۰۹-۲، شماره فروست: ۴۲۰۶۵، مورخ ۹۱/۱۰/۲.

نصیری، م. ۱۳۹۷. روش‌های جوانه‌زنی بذر برخی گونه‌های گیاهی مرتعی و دارویی. مجله طبیعت ایران، ۳(۲): ۴۲- ۴۸.

ویسی، غ.، مهتدی، ا. و مرادی، ع. ۱۳۹۷. تأثیر تیمارهای مختلف بر جوانه‌زنی و شکست خواب بذر کنگر وحشی. یافته‌های نوین در علوم زیستی، ۵(۱): ۲۶- ۳۷.

Abbasi Khalaki, M., Ghorbani, A.and Moameri, M. 2016. Effects of silica and silver nanoparticles on seed germination traits of Thymus kotschyanus in laboratory conditions. Journal Rangeland Science, 6 (3): 221-231

Abbasi Khalaki, M., Ghorbani, A. and Dadjou, F. 2019. Influence of Nano-Priming on Festuca ovina Seed Germination and Early Seedling Traits under Drought Stress, in Laboratory Condition. Ecopersia, 7(3): 133-139

Abbasi Khalaki, M., Ghorbani, A., Esmali Ouri, A., Shokouhian, A.A. and Jafari, A.A. 2021. Some Facilitators Effects on Alfalfa and Sainfoin Growth in Restoration of Dry-Farming Lands (Study Area: Balekhlichay Watershed, Ardabil, Iran). Ecopersia, 9(1):43-51

Abdul-Baki, A.A. and Anderson, J.D. 1973. In: Physiological and biochemical deterioration of seeds. Kozlowski, T.T. (ed.). Seed biology. 2: 283-315. Academic Press, New York.

Anonymous, 2011. Official Gazette of the Community Plant Variety Office. Community Plant Variety Office, http://www.cpvo.europa.eu/documents/gazettes/2011/cpvo_2011_5.pdf.

AOSA (Association of Official Seed Analyst), 1999. Rules for Testing Seeds. Association of Official Seed Analysts. 75 pp.

AOSA (Association of Official Seed Analyst), 2002. Seed Vigour Testing Handbook, Contribution No. 32 to the Handbook of Seed Testing, Association of Official Seed Analysts, NE, USA.

Basra, S.M.A., Ahmad, N., Khan, M.M., Iqbal N. and Cheema, M.A. 2003. Assessment of cotton seed deterioration during accelerated aging. Seed Science and Technology 31: 531-540.

Cisse, N. D. D. and Ejeta, G. 2003. Genetic variation and relationships among seedling vigor traits in Sorghum. Crop Science, 43: 824-828.

Colete, J.C.F., Vieira, R.D. and Dutra, A.S. 2004. Electrical conductivity and soybean seedling emergence. Scientia Agricola (Piracicaba, Braz), 61(4): 386-391.

De, R. and Kar, R.K. 1994. Seed germination and seedling growth of mung bean (Vigna radiata) under water stress induced by PEG 6000. Seed Science Technology, 23: 301-308.

Dias, D. C. F. S., Marcos- Filho, J. and Carmello, Q. A. C. 1997. Potassium leakage test for the evaluation of vigor in soybean seeds. Seed Science Technology, 25: 7-18.

Elias, S. G., Copeland, L. O., Mcdonald, M. B. and Baalbaki, R. Z. 2012. Seed Testing: Principles and Practices. Michigan State University Press.

Govender, V., Aveling, T.A.S. and Kritzinger, Q. 2008. The effect of traditional storage methods on germination and vigor of maize (Zea mays L.) from northern KwaZulu.Natal and Southern Mozambique. South African Journal of Botany, 74: 190-196.

ISTA (International Seed Testing Association), 1996. International Rules for Seed Testing, Seed Science and Technology 21(Suppl.): 1B288. ISTA. 1995. Handbook of vigour test methods. 117 p.

ISTA (International Seed Testing Association), 2022. International Rules for Seed Testing. Wallisellen, Switzerland, International Seed Testing Association.

Hall, R. D. and Wiesner, L.E. 1990. Relationship between seed vigor tests and field performance of regar meadow bromegrass. Crop Science, 30: 967-970.

Hampton, J.G. and Tekrony D.M. 1995. Handbook of vigour test methods. (3 ed.) ISTA, p.117

Hastrup-Pedersen, L., Jorgensen, P.E. and Poulsen, I. 1993. Effects of seed vigor and dormancy on field emergence, development and grain yield winter wheat (Triticum aestivum L.) and winter barley (Hordeum vulgare L.). Seed Science and Technology, 21: 159-178.

Hiltner, L. and Ihssen, G. 1911. Uber das schlechte Auflaufen und die Auswinterung des Getreides infolge Befalls durch Fusarium. Landwirtsch. Jb. Bayern, 1, 20–60, 231–78, 315-62.

Hosseini, S., Ghaderi-Far, F. and Mohammad-Nejad, F. 2012. Seed vigor test for predicting seedling emergence of mung bean (Vigna radiata) in farm. Journal of Seed Science and Technology, 2(1): 47-52. (In Persian)

Gharineh, M.H., Bakhshandeh, A.M. and Ghassemi-Golezani, K. 2004. Effects of viability and vigour of seed on establishment and grain yield of wheat cultivars in field conditions. Seed and Plant Improvement, 20(3): 383-400. (In Persian)

Goel, A. and Sheoran, I. S. 2003. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes in cotton seeds fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics, 125: 189-198.

Gresta, F., Avola, G., Tuttobene, R., Onofri, A., Barrile, V., Cristaudo, A. and Abbate, V. 2011. The effect of fire on the dormancy break of three annual legume seeds. Italian Journal of Agronomy, 6(e23):8-11

Irvani, N., Solouki, M., Omidi, M., Saidi, A. and Zare, A.R. 2012. Seed germination and dormancy breaking in dorema ammoniacum d., an endangered medicinal plant. Trakia Journal of Sciences, 10(1): 9-15.

Isely, D. 1957. Vigor tests. Proceedings of Association of Official Seed Analysts, 47: 176-182.

Jamali, M., Sadeh, Y., Tavakkol Afshari, R. and Asadi, A. 2016. Investigation of relationships between laboratory tests and seedling emergence of canola (Brassica napus L.) cultivars in field condition. Iranian Journal of Seed Science and Research, 5(1): 63-74. (In Persian)

Keshtkar, H.R., Azarnivand, H. and Atashi, H.2009. Effect of prechilling and GA3 on seed germination of Ferula assa-foetida and Prangos ferulacea. Seed Science and Technology, 37: 464-468

Khazaei, H. 2001. Germination improvement of sugar beet seeds (Beta vulgaris L.) after washing. Journal of Agricultural Sciences and Industries, 15(1): 115-120. (In Persian)

Klos, K. L. E. and Brummer, E.C. 2000a. Field response to selection alfalfa for germination rate and seedling vigor at low temperatures. Crop Science, 40: 1227-1232.

Klos, K. L. E. and Brummer, E. C. 2000b. Response of six alfalfa population to selection under laboratory conditions for germination and seedling vigor at low temperatures. Crop Science, 40: 959-964.

Lee K.W., Lee B.C., Park H.C. and Lee Y.S. 1990. Occurrence of green mottle mosaic virus disease of watermelon in Korea. Kor J Plant Pathol, 6:250-255.

Luna, B. 2020. Fire and summer temperatures work together breaking physical seed dormancy. Scientific reports, 10(6031):1-10

Maddox D.A. 1998. Implications of new technologies for seed health testing and the worldwide movement of seed. Seed Science Research, 8: 277-284.

MC Donald, J. M. B. 1980. Assessment of seed quality. Horticultural Science, 15, 784-788.

Moore, R.P. 1973. Tetrazolium staining for assessing seed quality. In: HEYDECKER, W. (Ed.). Seed Ecology. London: Butterworth, pp.347-366.

Perry, D.A. 1978. Report of the Vigor Test Committee 1974-1977. Seed Science and Technology, 6: 159-181.

Shrma, M.L. 1973. Simulation of droughtand its effect on germination of five pasture species. Agronomy Journal, 65: 982-987.

Tang, S., TeKrony, D.M., Collins, M. and McKenna, C. 2000. Determination of high seed moisture in maize. Seed Technology, 22(1):43-55.

Turkan, I., Bor, M., Ozdemir, F. and Koca, H. 2005. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought – tolerant P. acutifolius Gray and droughtsensitive P. vulgaris L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. Plant Science, 3: 201-204.

Wang, J., Fujimoto, K., Miyazawa, T., Endo, Y. and Kitamura, K. 1990. Sensitivities of lipoxygenaselacking soybean seeds to accelerated aging and their chemilumi nescence levels. Phytochemistry, 29: 3739-3742.

West, S. H. and Harris, H.C. 1963. Seed coat colors associated with physiological changes in alfalfa and crimson and white clovers. Crop Science, 3:190-193.

Yang, Y., Kim, K. and Anderson, E.J. 1997. Seed transmission of cucumber mosaic virus in spinach. Phytopathology, 87: 924-931.

Zhu, J., Kang, H., Tan, H. and Xu, M. 2006. Effects of drought stresses induced by polyethylene glycolon germination of Pinus sylvestris var. mongolica seed from natural and plantation forests on sandy land. Journal of Forest Research, 11: 319-328.