



Gorgan University of Agricultural
Sciences and Natural Resources

The role of gibberellic acid, temperature and scarification on *in/ex vitro* germination of *Rosa persica* Michx ex Juss.

Shahrzad Vaziee¹, Mostafa Khoshhal Sarmast^{*2}, Farshid Ghaderi-Far³,
Changquang Wang⁴

1. Graduate, Dept. Horticultural Science and Landscape Engineering, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: shahrzad.vaziee@yahoo.com
2. Corresponding Author, Associate Prof., Dept. of Horticultural Science and Landscape Engineering, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: mkhsarmast@gau.ac.ir
3. Professor, Dept. of Agronomy, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: farshidghaderifar@yahoo.com
4. Professor, College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China. E-mail: cqwang@njau.edu.cn

Article Info	ABSTRACT
Article type: Full Length Research Paper	Background and Objectives: Persian rose or Varak (<i>Rosa persica</i>) is a thorny shrub belongs to Rosaceae family. This small scented plant due to the having a yellow-flower with a distinct reddish-brown spot in petals base and tremendous resistance to heat and drought has a great potential for modern rose breeding. Since there are not any available reports on germination habit of this aforementioned species, therefore the goal of this experiment is to evaluate the seed viability and type of dormancy in this anomalous species.
Article history: Received: 06.14.2022 Revised: 07.06.2022 Accepted: 08.23.2022	
Keywords: Plant growth regulators, Seed, Stratification, Tissue culture	Materials and Methods: To increase the germination percentage of <i>R. persica</i> , collected seeds were exposed to 96% of sulfuric acid for 0, 10 and 30 min. whereupon sulfuric acid-exposed seeds were sown on MS (Murashige and Skoog) media supplemented with 0, 0.1, 1 and 10 mg/l gibberellic acid. This combination was evaluated under <i>ex vitro</i> (Petri dish) and <i>in vitro</i> (in MS media) condition at 4 and 24 °C in incubator. Data collected from many traits related to the root and stem after 6 weeks of the experiments.
	Results: Despite confirmation of seed viability via Tetrazolium test, standard germination test was failed under <i>ex vitro</i> condition and a few weeks after the beginning of the experiment all specimens became infected with fungus. However, under <i>in vitro</i> condition, treatment of seeds with sulfuric acid for 10 min and then 1 mg/l gibberellic acid, were significantly effective on germination percentage and more than 60% germination frequency was observed in 10-minute sulfuric acid treatment in a hormone-free medium, while no seeds have germinated in the control. The maximum root and stem length, hypocotyl length, epicotyl length, seedling length and the number of leaves has achieved when seeds exposed to sulfuric acid for 30 min. However, 10 min treatment of seeds with sulfuric acid was more effective in increasing the length and number of lateral roots and stem diameter. Root and stem length, hypocotyl length and seedling length has increased when gibberellic acid augmented. Stem diameter, length and number of lateral roots were higher in hormone free medium while the number of leaves and epicotyl was higher in medium supplemented with 0.1 mg/l gibberellic acid.

Conclusion: The effect of sulfuric acid on improving germination indicates physical dormancy of Iranian rose seeds. Application of whole treatments did not result to germination at 4 °C. Seeds respond to germination treatments only at 24 °C. The result of our study on temperature unlike other rose species reveals no need for stratification treatment.

Cite this article: Vaziee, Shahrzad, Khoshhal Sarmast, Mostafa, Ghaderi-Far, Farshid, Wang, Changquang. 2023. The role of gibberellic acid, temperature and scarification on *in/ex vitro* germination of *Rosa persica* Michx ex Juss. *Journal of Plant Production Research*, 29 (4), 231-245.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/JOPP.2022.20323.2941

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

اثر اسید جیبرلیک، دما و خراش دهی بر جوانه‌زنی درون و برونشیشهای *(Rosa persica Michx ex Juss.)*

شهرزاد وضیعی^۱، مصطفی خوشحال سرمست^{۲*}، فرشید قادری فر^۳، چانک کوانگ وانگ^۴

۱. دانشآموخته گروه علوم باگبانی و فضای سبز، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
رایانامه: shahrzad.vaziee@yahoo.com
۲. نویسنده مسئول، دانشیار گروه علوم باگبانی و فضای سبز، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: mkhsarmast@gau.ac.ir
۳. استاد گروه زراعت، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: farshidghaderifar@yahoo.com
۴. استاد دانشکده علوم باگبانی، دانشگاه علوم کشاورزی نانجینگ، چین. رایانامه: cqwang@njau.edu.cn

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله:	مقاله کامل علمی- پژوهشی
تاریخ دریافت:	۱۴۰۱/۰۳/۲۴
تاریخ ویرایش:	۱۴۰۱/۰۴/۱۵
تاریخ پذیرش:	۱۴۰۱/۰۶/۰۱
واژه‌های کلیدی:	ساخه و هدف: گل رز ایرانی یا ورک <i>Rosa persica</i> (syn. <i>Hulthemia persica</i>) درختچه Rosaceae است. این درختچه کوچک زیستی معطر به دلیل داشتن گل زرد همراه با لکه سیاه در قائمه و مقاومت حیرت‌آور در برابر خشکی و گرما، امکان بسیار بالایی در بهشتزدای گلهای رز دارد. با توجه به این‌که هیچ گزارشی در رابطه با جوانه‌زنی بذر این گونه منتشر نشده است، این آزمایش با هدف بررسی توانایی جوانه‌زنی بذر گل رز ایرانی و نوع خفتگی این گونه ناشناخته انجام شد.
مواد و روش‌ها:	مواد و روش‌ها: برای افزایش میزان جوانه‌زنی بذرهای گل رز ایرانی از تیمارهای اسید سولفوریک ۹۶ درصد به مدت ۰، ۱۰ و ۳۰ دقیقه و اسید جیبرلیک در غلظت‌های ۰، ۱ و ۱۰ میلی گرم در لیتر و برهمکنش آنها در شرایط درون‌شیشهای (محیط MS) و برونشیشهای (کشت درون ظرف پتربال) در دو دمای ۴ و ۲۴ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. داده‌برداری از ویژگی‌های ریشه‌چه و ساقه‌چه پس از ۶ هفته صورت گرفت.
یافته‌ها:	یافته‌ها: با وجود تأیید زنده‌بودن بذر با آزمون ترازوولیوم، آزمون جوانه‌زنی استاندارد در محیط برونشیشهای ناموفق بود و پس از گذشت چند هفته از شروع آزمایش تمام نمونه‌ها آلوده به قارچ شدند. در شرایط درون‌شیشهای در بین اثرات اصلی، تیمار اسید سولفوریک ۱۰ دقیقه و اسید جیبرلیک ۱ میلی گرم در لیتر به طور قابل توجهی بر درصد جوانه‌زنی مؤثر بود و بیش از ۶۰ درصد جوانه‌زنی در تیمار اسید سولفوریک ۱۰ دقیقه در محیط فاقد هورمون مشاهده شد در

حالی که در شاهد جوانه‌زنی ثبت نشد. بیشترین طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، طول محور زیرلپه، طول رولپه، طول دانهال و تعداد برگ در اسید سولفوریک ۳۰ دقیقه و بیشترین طول و تعداد ریشه فرعی و قطر ساقه در اسید سولفوریک ۱۰ دقیقه به دست آمد. طول ساقه‌چه، طول ریشه اصلی، طول محور زیرلپه و طول دانهال با افزایش غلظت اسید جیبرلیک افزایش یافت. قطر ساقه، طول و تعداد ریشه فرعی در محیط فاقد اسید جیبرلیک و تعداد برگ و طول محور رولپه در تیمار ۱/۰ میلی‌گرم در لیتر اسید جیبرلیک بیشتر بود.

نتیجه‌گیری: تأثیر اسید سولفوریک در بهبود جوانه‌زنی نشان‌دهنده خفتگی فیزیکی بذر گل رز ایرانی است. تیمار دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تأثیری در بهبود جوانه‌زنی بذر این گونه گیاهی نداشت و جوانه‌زنی در دمای ۲۴ درجه بیشینه بود. نتایج بررسی اثر دما بیانگر این است که این گونه بر خلاف دیگر گونه‌های گل رز به تیمار چینه سرمایی نیازی ندارد.

استناد: وضعی، شهرزاد، خوشحال سرمست، مصطفی، قادری‌فر، فرشید، وانگ، چانک کوانگ (۱۴۰۱). اثر اسید جیبرلیک، دما و خراش‌دهی بر جوانه‌زنی درون و برون‌شیشه‌ای گل رز ایرانی (*Rosa persica* Michx ex Juss.). نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی، ۲۹ (۴)، ۲۴۵-۲۳۱.

DOI: 10.22069/JOPP.2022.20323.2941



© نویسنده‌ان

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

پیچیده خفتگی بذر برطرف شود که این امر منجر به تغییر در فرابر، پوسته و رویان می‌شود. گزارش شده است که میزان خفتگی و کترل آن در بین گونه‌ها، واریته‌ها و بذرها و حتی بین هیپ‌های موجود در یک بوته واحد متفاوت است (۹). این موضوع نشان می‌دهد که یک تیمار مشخص در تمام شرایط برای رفع خفتگی در گل رز مؤثر نیست. بذر رز به طور معمول به دلیل فرابر سخت، مهارکننده‌های فرابر و پوسته، دارای خفتگی است (۱۰). گزارش شده است که وجود موانع فیزیولوژیکی در رویان (۱۲)، و همچنین غلظت بالای اسید آبسیزیک در پریکارپ و پوسته بذر رز، جوانه‌زنی آن‌ها را با مشکل مواجه می‌کند (۱۳).

خفتگی بذر یک سازوکار جلوگیری از جوانه‌زنی بذر در شرایط دمایی نامساعد است. ازدست رفتن توانایی جوانه‌زنی در شرایط محیطی نامناسب، ناشی از ایجاد خفتگی ثانویه در بذرها است (۱۴). اما بذر رزهای وحشی دارای خفتگی ترکیبی هستند که شامل خفتگی فیزیکی مربوط به پوسته بذر و خفتگی فیزیولوژیکی رویان است (۱۵). هورمون‌های گیاهی از جمله جیبرلین، اسید آبسیزیک، اکسین و اتیلن در تنظیم خفتگی بذر از جمله خفتگی ثانویه نقش دارند (۱۶، ۱۷).

ریزافزایی یکی از مهم‌ترین جنبه‌های تجاری استفاده از کشت درون‌شیشه‌ای است و مزایای زیادی نسبت به روش‌های متداول از دیاد روشی دارد. هدف ریزافزایی تولید انبوه دانه‌الهای عاری از آلودگی، همسان از نظر ژنتیکی باشد و نمو طبیعی، در کم‌ترین زمان و با کم‌ترین هزینه است. روش‌های گیاه‌افزایی در شرایط آزمایشگاهی به ویژه برای آن دسته از گونه‌های باغبانی که با روش‌های رویشی به

گل رز یکی از مهم‌ترین درختچه‌های زیستی از جنس *Rosa* و تیره Rosaceae است (۱) که شامل ۲۰۰ گونه و بیش از ۱۸۰۰۰ رقم می‌باشد (۲). به دلیل رشد خوبی که در اقلیم‌های معتدل دارد، منشأ رزهای وحشی را سراسر نیمکره شمالی (جنوب چین، هندوستان، بنگلادش، اتیوپی، آمریکای جنوبی تا شمالی و اروپا) می‌دانند (۳). یکی از گونه‌های گل رز که خیلی کم *Rosa Michx ex Juss.* موردنوجه قرار گرفته است گونه *Hulthemia persica Michx ex Juss.* یا *persica* می‌باشد که بیشتر به عنوان یک علف هرز مهاجم و مضر در مناطق شرقی و مرکزی ایران و به نام رز ایرانی یا ورک شناخته شده است. این گیاه به صورت درختچه‌هایی به ارتفاع ۵۰ تا ۶۰ سانتی‌متر رشد می‌کند (۴). از مهم‌ترین صفات گل این گیاه وجود لکه بزرگ قهوه‌ای مایل به قرمز در پایه گلبرگ زرد رنگ و عطر فوق العاده این گیاه است. برگ‌های آن ساده و بدون گوشوارک می‌باشد (۵) و به تقریب در تمام نقاط ایران به خصوص نقاط نیمه‌خشک دیده می‌شود (۶). رز ایرانی بومی ایران، افغانستان و آسیای میانه است. این گیاه غالب به عنوان علف هرز در مزارع رشد می‌کند و در مناطق آفتابی و خاک‌های قلیایی بهترین رشد را نشان می‌دهد. به دلیل مقاومت بسیار بالای آن به خاک‌های شور، قلیا و شرایط بیابانی می‌توان در آینده این گونه را به عنوان یک ژرمپلاسم مناسب برای انتقال صفت مقاومت در برابر تنفس‌های زیستی و غیرزیستی به دیگر ارقام گل رز تجاری در نظر گرفت.

جوانه‌زنی کمبذر در رزها یکی از مشکلات بزرگ در افزایش و بهترادی تجاری گل رز است (۷، ۸). علی‌رغم اعمال بسیاری از تیمارها، جوانه‌زنی کمی در بذرها رز حاصل شده است. برای به دست آوردن درصد بالای جوانه‌زنی بذر، لازم است تا فرایند

دور ریخته شده و بذرها دو تا سه مرتبه با آب شسته شدند و در نهایت زیر استریو میکروسکوپ ارزیابی شدند. بذرهای زنده به رنگ قرمز و بذرهای مرده تغییر رنگی در آن‌ها ایجاد نگردید.

تهیه محیط کشت: محیط کشت پایه MS (۱۹) شامل نصف غلظت نمک‌های معدنی، $0/5$ میلی‌گرم در لیتر نیکوتینیک‌اسید، $0/5$ میلی‌گرم در لیتر پیروودوکسین، $1/1$ میلی‌گرم در لیتر تیامین، 2 میلی‌گرم در لیتر گلایسین، 100 میلی‌گرم در لیتر اینوزیتول، 3 درصد ساکارز و $0/8$ درصد آگار بود. اسیدیته محیط کشت قبل از اتوکلا (در دمای 121 درجه با فشار $1/2$ اتمسفر به مدت 20 دقیقه) روی $5/8-5/7$ تنظیم شد.

هورمون اسید جیبرلیک از صافی میلی‌پور با اندازه $0/22$ میکرون عبور داده شد و پس از اتوکلاو، زمانی که دمای محیط کشت تا 50 درجه کاهش یافت، به محیط کشت بافت افزوده شد.

گندздایی سطحی و کشت بذر: برای گندздایی بذرها ابتدا به مدت یک دقیقه در اتانول 96 درصد غوطه‌ور شدند. بعد از گذشت زمان ذکر شده و شست و شوی بذرها با آب مقطر استریل، به مدت 30 دقیقه در محلول کلراکس خالص (میزان کلر فعال: 5 درصد) قرار داده شدند و سپس شش بار و هر بار به مدت پنج دقیقه با آب مقطر استریل آبشویی شدند. سپس بذرها در شرایط درون‌شیشه‌ای (محیط MS) و همچنین در ظروف پتروی دارای کاغذ صافی همراه با اعمال تیمارهای مختلف کشت شدند.

تیمار جوانه‌زنی بذر در شرایط درون/برون‌شیشه‌ای: در این آزمایش برای افزایش میزان جوانه‌زنی بذرهای رز ایرانی از تیمارهای اسیدسولفوریک 96 درصد به مدت 0 ، 10 و 30 دقیقه و اسید جیبرلیک در غلظت‌های $0/1$ ، 1 و 10 میلی‌گرم در لیتر و

سختی تکثیر می‌شوند و همچنین گونه‌هایی که بذرهای سخت کاردارند، پرکاربرد است (۱۸). همچنین در گونه‌هایی که جوانه‌زنی در شرایط خارج آزمایشگاه امکان‌پذیر نیست و یا در تعدادی از گونه‌های گیاهی که دارای خفتگی پوسته بذر و یا اندوسپرم هستند، استفاده از کشت رویان راهگشا می‌باشد. از آنجا که جوانه‌زنی بذرهای گل رز ایرانی در آزمون استاندارد جوانه‌زنی در ظرف پتروی و در شرایط معمول امکان‌پذیر نشد، این پژوهش با هدف بررسی نوع خفتگی بذر و توسعه روش‌های مؤثر در بهبود جوانه‌زنی آن در شرایط درون‌شیشه‌ای انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه مواد گیاهی: این پژوهش روی بذر گیاه رز ایرانی با نام علمی (syn. *Hulthemia persica*) (*Rosa persica* Michx ex Juss. (Michx ex Juss. در گروه علوم باغبانی و فضای سبز دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. بذرهای این گیاه در مردادماه از منطقه دیزباد در دامنه‌های جنوبی رشته‌کوه بینالود واقع در استان خراسان رضوی به مختصات $36^{\circ}06'15.1''$ E $59^{\circ}17'18.5''$ N جمع‌آوری شدند و بالافصله به آزمایشگاه منتقل و آزمایش‌ها روی آن‌ها انجام شد.

آزمون تترازاولیوم: برای تعیین زنده بودن بذرها، ابتدا به مدت یک شب در جای تاریک خیسانده شدند و پس از برش بذرها با تیغ و مشاهده رویان، به مدت 3 ساعت در تاریکی در دمای 30 درجه سانتی‌گراد در محلول 1 درصد 2 ، 3 و 5 تری فنیل تترازاولیوم کلراید با اسیدیته $7-6$ قرار گرفتند. پس از گذشت این زمان و هنگامی که تغییر رنگ ظاهر شد محلول تترازاولیوم

نتایج و بحث

عدم موفقیت در جوانه‌زنی بروون‌شیشه‌ای منجر به انجام آزمایش‌های القاء جوانه‌زنی در شرایط درون‌شیشه‌ای شد. در شرایط بروون‌شیشه‌ای با وجود گندزدایی سطحی بذرها و کشت آن‌ها در ظروف پتری دارای کاغذ صافی، ادامه بررسی به‌دلیل آلودگی شدید قارچی پس از دو هفته امکان‌پذیر نشد. آزمایش بروون‌شیشه‌ای برای اطمینان دو بار تکرار شد. احتمال می‌رود که بذرهای این گونه دارای بیماری بذر زاد باشند که نیاز به مطالعه و بررسی جداگانه دارد. به‌دلیل عدم موفقیت در شرایط بروون‌شیشه‌ای همه تیمارها در شرایط درون‌شیشه‌ای بر روی بذرها اعمال شدند.

نتایج حاصل از صفات اندازه‌گیری شده حاصل از جوانه‌زنی بذر رز ایرانی نشان‌دهنده اثر معنی‌دار ($P \leq 0.01$) تیمارهای دما، اسید سولفوریک و اسید جیبرلیک و برهمکنش آن‌ها در همه صفات اندازه‌گیری شده بود. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر سطوح مختلف دما، اسید سورلفوریک و اسید جیبرلیک و اثر متقابل آن‌ها از نظر اثر بر درصد جوانه‌زنی اختلاف معنی‌داری داشت (جدول ۱).

نتایج این پژوهش نشان داد که درصد جوانه‌زنی بذرها در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد $36/5$ درصد بیش‌تر از جوانه‌زنی آن‌ها در دمای ۴ درجه است. در تیمار با اسید سولفوریک با افزایش زمان خراش‌دهی درصد جوانه‌زنی کاهش یافت (جدول ۲).

برهمکنش آن‌ها در شرایط درون‌شیشه‌ای (محیط MS) و بروون‌شیشه‌ای (کشت درون ظرف پتری) در دو دمای ۲۴ و ۴ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. بذرهایی که تحت تیمار دمای ۴ درجه سانتی‌گراد (در حضور و عدم حضور نور) برای سه ماه بودند، پس از پایان تیمار سرماده‌یی به دمای ۲۴ درجه اتفاق رشد متقل شدند.

بذرها پس از تیمار با اسید سولفوریک، به مدت یک شب در زیر آب جاری قرار داده شدند. برای هر تیمار ۳ تکرار و در هر تکرار ده بذر در نظر گرفته شد. سپس به میزان ۳ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف اسید جیبرلیک به هر پتری دیش (شرایط بروون‌شیشه‌ای) اضافه گردید. برای کشت در شرایط درون‌شیشه‌ای، پس از تهیه محیط MS با توجه به غلظت مورد نیاز، اسید جیبرلیک با استفاده از سمپلر در زیر هود لامینار به محیط‌ها اضافه شد و سپس محیط کشت به درون ظرف‌های پتری استریل توزیع گردید. سپس بذرها پس از گندزدایی زیر هود لامینار در محیط MS کشت شدند. پس از حدود ۶ هفته درصد جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، طول گیاه، تعداد ریشه فرعی، قطر ساقه، تعداد برگ‌ها، طول محور زیرلپه و رولپه اندازه‌گیری شد.

تجزیه داده‌ها: آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. تجزیه داده‌ها با نرم‌افزار SAS صورت گرفت و میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد مقایسه شدند.

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده مربوط به خصوصیات جوانه‌زنی بذر گل رز ایرانی بر اساس میانگین مربعات در شرایط درون‌شیشه‌ای.

Table 1. The analysis of variance related to the *in vitro* seed germination properties based on Mean Squares.

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی DF	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	طول ریشه Root length	طول ساقه Stem length	طول زیرلپه Hypocotyl length	طول روله Epicotyl length
دما	1	24017.01**	206.85**	49.13**	18.73**	0.49**
Temperature						
اسید سولفوریک	2	2610.76**	83.22**	12.29**	4.72**	0.15**
Sulfuric acid						
اسید جیبرلیک	3	112.38**	3.48**	0.74**	0.26**	0.005**
Gibberellic acid						
دما × اسید سولفوریک	2	2610.76**	83.22**	12.29**	4.72**	0.15**
Temperature × Sulfuric acid						
دما × اسید جیبرلیک	3	112.38**	3.48**	0.74**	0.26**	0.016**
Temperature × Gibberellic acid						
اسید سولفوریک × اسید جیبرلیک	6	222.80**	7.12**	0.36**	0.25**	0.13**
Sulfuric acid × Gibberellic acid						
دما × اسید سولفوریک × اسید جیبرلیک	6	222.80**	7.12**	0.36**	0.25**	0.13**
Temperature × Sulfuric acid × Gibberellic acid						
خطا E	48	29	0.06	0.01	0.01	0.0002
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	14.78	15.4	15.16	19.96	18.72

** بیانگر معنی داری در سطح ۰/۰۱ است

** indicates significance at the level of 0.01%

ادامه جدول ۱**Continue Table 1.**

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی DF	تعداد ریشه فرعی Number of lateral root	طول ریشه فرعی Lateral root length	طول دانهال Seedling length	قطر ساقه Stem diameter	تعداد برگ Number of leaf
دما	1	8.00**	4.46**	463.65**	5.38**	424.52**
Temperature						
اسید سولفوریک	3	2.00**	1.15**	100.73**	1.36**	106.39**
Sulfuric acid						
اسید جیبرلیک	3	0.33**	1.07**	2.63**	0.05**	0.19**
Gibberellic acid						
دما × اسید سولفوریک	2	2.00**	1.15**	100.73**	1.36**	106.39**
Temperature × Sulfuric acid						
دما × اسید جیبرلیک	3	0.33**	1.07**	2.63**	0.05**	0.19**
Temperature × Gibberellic acid						
اسید سولفوریک × اسید جیبرلیک	6	0.55**	0.45**	1.42**	0.01**	1.01**
Sulfuric acid × Gibberellic acid						
دما × اسید سولفوریک × اسید جیبرلیک	6	0.55**	0.45**	1.42**	0.01**	1.01**
Temperature × Sulfuric acid × Gibberellic acid						
خطا E	48	0.0008	0.07	0.04	0.0003	0.05
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	8.66	16.23	8.34	6.83	9.73

** بیانگر معنی داری در سطح ۰/۰۱ است

** indicates significance at the level of 0.01%

اسید جیبرلیک، ۱۰ درصد بر میزان جوانه زنی افزود و آن را به ۶۵ درصد رساند (جدول ۲).

بیشترین طول ریشه چه (۵/۸۹ سانتی متر)، طول ساقه چه (۳/۷۴ سانتی متر)، طول محور زیرلپه (۲/۴۴ سانتی متر) و طول دانهال (۹/۶۴ سانتی متر) در برهمکنش میان اسید سولفوریک ۳۰ دقیقه و اسید جیبرلیک ۱۰ میلی گرم در لیتر حاصل شد. بیشترین تعداد برگ (۸/۷۷) و طول روپله (۰/۵۵ سانتی متر) در تیمار ترکیبی اسید سولفوریک ۳۰ دقیقه و اسید جیبرلیک ۰/۱ میلی گرم در لیتر مشاهده شد. طول (۲/۰۷ سانتی متر) و تعداد ریشه فرعی (۲) در تیمار اسید سولفوریک ۱۰ دقیقه که فاقد اسید جیبرلیک بود به بالاترین مقدار رسید. بدون حضور یا عدم حضور اسید سولفوریک، طول ساقه چه، ریشه چه، طول زیرلپه و طول دانهال با افزایش غلظت اسید جیبرلیک افزایش یافت. هر چند که در حضور اسید سولفوریک بر میزان آنها افزوده شد. تعداد برگ و طول روپله در برهمکنش میان ۰/۱ میلی گرم در لیتر اسید جیبرلیک و تیمار ۳۰ دقیقه اسید سولفوریک بیشینه بود (جدول ۳).

بیشترین درصد جوانه زنی (۲۵ درصد) در تیمار اسید سولفوریک ۱۰ دقیقه حاصل شد (جدول ۲). بدون تیمار اسید سولفوریک، در بین سطوح مختلف اسید جیبرلیک بیشترین درصد جوانه زنی (۳۰ درصد) در غلظت یک میلی گرم در لیتر نسبت به غلظت های کمتر و بیشتر از آن به دست آمد. طبق نتایج حاصل از برهمکنش تیمارها، بیشترین درصد جوانه زنی به میزان ۶۵ درصد در دمای ۲۴ درجه و تیمار اسید سولفوریک ۱۰ دقیقه حاصل شد. در دمای ۴ درجه سانتی گراد هیچ بذری جوانه نزد. در دمای ۲۴ درجه سانتی گراد نیز بذرها بی که با اسید سولفوریک تیمار نشده و جیبرلیک اسید در سطح ۰/۱ میلی گرم یا کمتر دریافت کرده بودند جوانه نزدند اما میزان جوانه زنی به میزان ۲۰ درصد در تیمار فاقد اسید سولفوریک، دمای ۲۴ درجه و تیمار اسید جیبرلیک ۱۰ میلی گرم در لیتر به دست آمد (جدول ۲ و شکل ۱).

برهمکنش ۳۰ دقیقه اسید سولفوریک به همراه ۱۰ میلی گرم در لیتر اسید جیبرلیک تا ۵۵ درصد درصد بر میزان جوانه زنی مؤثر بود در حالی که تماس بذرها به مدت ۱۰ دقیقه با اسید سولفوریک و در محیط فاقد

جدول ۲ - مقایسه برهمکنش اسید سولفوریک، اسید جیبرلیک و دما بر درصد جوانه زنی بذر

Table 2. The mean comparison for temperature, sulfuric acid and gibberellic acid interaction on the germination percentage of *Rosa persica*.

دما		اسید جیبرلیک Gibberellic acid (PPM)	اسید سولفوریک Sulfuric acid (min)
Temperature (°C)	۲۴ (°C)		
۰ ^h	۰ ^h	۰	۰
	۰ ^h	۰.۱	
	۰ ^h	۱	
	۰ ^h	۱۰	
۶۵ ^a	۰ ^h	۰	۱۰
	۰ ^h	۰.۱	
	۰ ^h	۱	
	۰ ^h	۱۰	
۴۶ ^{cd}	۰ ^h	۰	۳۰
	۰ ^h	۰.۱	
	۰ ^h	۱	
	۰ ^h	۱۰	
۴۳ ^{de}	۰ ^h	۰	
	۰ ^h	۰.۱	
	۰ ^h	۱	
	۰ ^h	۱۰	
۵۵ ^b	۰ ^h	۰	
	۰ ^h	۰.۱	
	۰ ^h	۱	
	۰ ^h	۱۰	

اعداد با حروف مشابه اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند

Means followed by similar letters are not significantly different at p=5%, Duncan's multiple range test

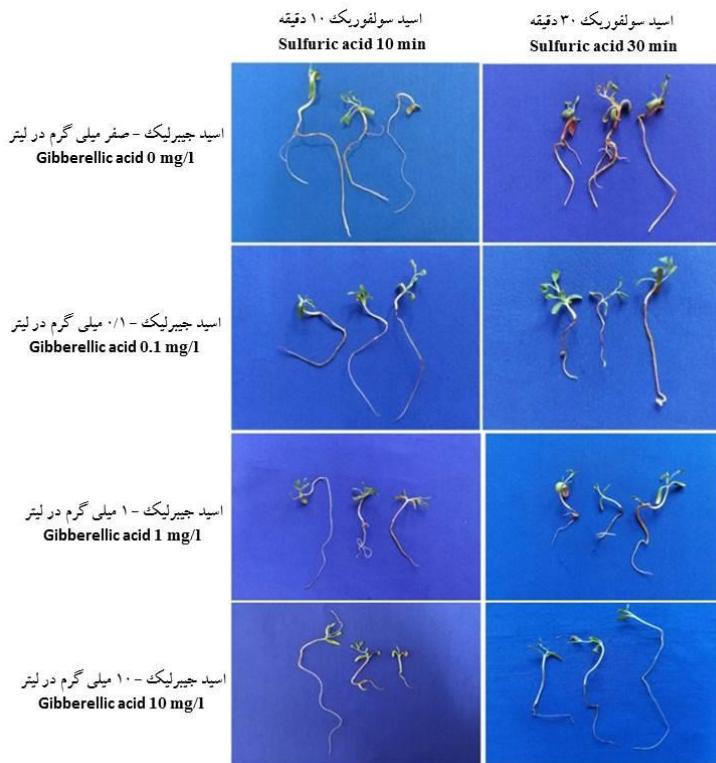
جدول ۳- اثر کاربرد غلظت‌های مختلف اسید سولفوریک و اسید جیبرلیک بر صفات اندازه‌گیری شده در بذرهاي *Rosa persica*

Table 3. Effect of different concentrations of sulfuric acid and gibberellic acid on the measured traits in *Rosa persica* seeds.

اسید سولفوریک Sulfuric acid	اسید جیبرلیک GA3	نرخ میانگین Average rate							
طول ریشه Radicle length (cm)	طول ساقه Plumule length (cm)	طول نیزه Hypocotyl length (cm)	طول روپه Epicotyl length(cm)	تعداد ریشه فرعی Number of lateral root	طول ریشه فرعی lateral root length(cm)	طول دانهال Seedling length(cm)	تعداد برگ Leaf number(cm)	قطر میانه Stem diameter (mm)	اسید جیبرلیک GA3
0 ^e	0 ^e	0 ^e	0 ^f	0 ^e	0 ^g	0 ^g	0 ^d	0 ^g	0
0 ^e	0 ^e	0 ^e	0 ^f	0 ^e	0 ^g	0 ^g	0 ^d	0 ^g	0.1
0.95 ^d	0 ^e	0 ^e	0 ^f	0 ^e	0 ^g	0.95 ^f	0 ^d	0 ^g	1
1.43 ^d	0 ^e	0 ^e	0 ^f	0 ^e	0 ^g	1.43 ^f	0 ^d	0 ^g	10
4.24 ^c	2.28 ^c	1.51 ^c	0.25 ^{bc}	2.00 ^a	2.07 ^a	8.27 ^b	6.88 ^c	1.04 ^b	0
4.91 ^b	2.16 ^c	1.79 ^b	0.07 ^e	0.5 ^d	0.13 ^f	7.83 ^{bc}	6.5 ^c	0.7 ^e	0.1
5.43 ^{ab}	2.75 ^b	1.47 ^c	0.12 ^d	0.5 ^d	0.1 ^f	7.43 ^c	8.16 ^b	0.65 ^f	1
5.88 ^a	2.88 ^b	1.65 ^{bc}	0.27 ^b	1.00 ^c	1.00 ^c	7.51 ^c	6.75 ^c	0.63 ^f	10
5.47 ^{ab}	1.58 ^d	0.87 ^d	0.23 ^c	1.00 ^c	1.6 ^b	6.46 ^d	7.66 ^b	1.1 ^a	0
3.75 ^c	2.09 ^c	1.06 ^d	0.55 ^a	1.5 ^b	0.4 ^e	5.76 ^e	8.77 ^a	0.73 ^e	0.1
3.64 ^c	2.32 ^c	1.43 ^c	0.25 ^{bc}	1.5 ^b	0.66 ^d	6.54 ^d	6.55 ^c	0.8 ^d	1
5.89 ^a	3.74 ^a	2.44 ^a	0.24 ^{bc}	0 ^e	0 ^g	9.64 ^a	6.99 ^c	0.89 ^c	10

اعداد با حروف مشابه در هر ستون اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند

Means followed by similar letters in each column are not significantly different at p=5%, Duncan Multiple Range test



شکل ۱- ویژگی‌های دانهال پس اثر تیمار اسید جیبرلیک و اسید سولفوریک روی بذر گل رز ایرانی.

Fig. 1. Seedling properties after treatment of *R. persica* seeds with sulfuric acid and GA3.

اگرچه که بدون تیمار اسید سولفوریک، اسید جیبرلیک تا ۲۰ درصد بر میزان جوانه‌زنی افزود اما نتایج نشان می‌دهد که اثر هم افزایی قابل توجیهی میان تیمار اسید سولفوریک و اسید جیبرلیک بر درصد جوانه‌زنی بذر این گونه وجود ندارد. مطالعات مختلفی تأثیر مثبت اسید جیبرلیک بر درصد جوانه‌زنی بذر چاودار را گزارش داده‌اند. کاربرد اسید جیبرلیک باعث افزایش میانگین شاخص‌های جوانه‌زنی از جمله درصد جوانه‌زنی شد (۲۱). افزایش درصد جوانه‌زنی با استفاده از تیمار اسید جیبرلیک در بذر گونه Greipsson *Leymus arenarius* گزارش شده است. نتایج ما با گزارش‌های پیشین در خصوص اثر مثبت این هورمون گیاهی در افزایش درصد جوانه‌زنی هم راستا است (جدول ۲)، اما این اثر افزایشی در برهمکنش با تیمار اسید سولفوریک خیلی اثربخش نبود. به عبارت دیگر تیمار اسید سولفوریک به مراتب اثر قوی‌تری بر درصد جوانه‌زنی این گونه در مقایسه با تیمارهای مختلف اسید جیبرلیک و برهمکنش اسید جیبرلیک و اسید سولفوریک داشت. از دلایل افزایش درصد جوانه‌زنی در تیمار با اسید جیبرلیک تنها می‌تواند این باشد که اسید جیبرلیک در برهمکنش با اسید جیبرلیک درونی بذر، فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و دیگر آنزیم‌های هیدرولیزی را تحریک می‌نماید و به این ترتیب قند لازم جهت انجام سوخت‌وساز دانه از طریق تجزیه نشاسته فراهم می‌شود و در نهایت جوانه‌زنی تحریک و آغاز می‌گردد (۲۳). همچنین اسید جیبرلیک از طریق ضدیت با آبسیزیک اسید و به دنبال آن با اثر بر تنظیم بروز و بیان ژن‌ها می‌تواند جوانه‌زنی را در بذر القا کند (۲۱). نتایج بررسی‌های ما نشان می‌دهد که نرم شدن پوسته بذر گل رز ایرانی به‌وسیله اسید سولفوریک حدود دو تا سه برابر میزان جوانه‌زنی را در مقایسه با بذرهای که تنها اسید جیبرلیک دریافت

با وجود گندздایی سطحی بذرهای گل رز ایرانی با الکل و کلراسکس، اما پس از گذشت چند هفته از شروع آزمایش در ظروف پتروی پلاستیکی دارای کاغذ صافی در شرایط برون‌شیشه‌ای، تمامی نمونه‌ها آلوده به قارچ شدند. با وجود تکرار آزمایش باز هم نتایج مشابه‌ای به دست آمد. بنابراین ادامه آزمایش در شرایط برون‌شیشه‌ای دنبال شد. نکته قابل تأمل در خصوص جوانه‌زنی بذر این گیاه این است که پس از رفع خفتگی پوسته بذرها توسط اسید سولفوریک یا جدا نمودن پوسته بذر در شرایط برون‌شیشه‌ای، اسید جیبرلیک تأثیر معنی‌داری در بهبود درصد جوانه‌زنی بذر گل رز ایرانی نداشت (جدول ۲). این نتایج به همراه عدم جوانه‌زنی بذرها در تیمار سرمایی ۴ درجه سانتی‌گراد در این گونه گیاهی نشان می‌دهد که بذرهای رز ایرانی برخلاف دیگر گونه‌های رز دارای خفتگی رویانی نیستند (۲۰)، زیرا تیمار چینه‌سرمایی در یخچال نه تنها در بهبود جوانه‌زنی مؤثر نبود بلکه حتی اثر منفی در مقایسه با دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد داشت. از آنجا که جوانه‌زنی بذرهای گل رز ایرانی در دمای ۲۴ درجه به وقوع پیوست، این فرضیه مطرح شد که شاید دلیل عدم جوانه‌زنی بذر این گل در دمای ۴ درجه، نبود نور باشد. این فرضیه با قراردادن بذرها در دمای یخچال و در حضور نور به‌طور همزمان مورد آزمون قرار گرفت. نتایج نشان داد که حضور یا عدم حضور نور در شرایط دمای پایین در جوانه‌زنی بذر گل رز ایرانی بی‌تأثیر است. عدم پاسخ مناسب به دمای پایین و یا تیمار اسید جیبرلیک در بالا بردن درصد جوانه‌زنی در بذرهای این گونه می‌تواند تا حدودی مربوط به منشاء این گیاه باشد. از آنجا که در نواحی بیابانی و گرم و خشک، به‌طور عمدۀ آب عامل محدودکننده می‌باشد و دوره‌های طولانی سرمایی زمستانه وجود ندارد، بنابراین نیاز به دمای پایین برای جوانه‌زنی در این گونه‌ها از نظر اکولوژیک قابل توجیه نیست.

به کمک چینه سرمایی در دمای ۲/۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ تا ۱۲ هفته در بسترها کشت بدون خاک متغیر بود (۲۶). در گزارشی دیگر بر روی گونه *R. multibracteata* مشخص شد که این گونه دارای خفتگی فیزیولوژیک حدوداً است که به نگهداری در انبار خشک برای ۶۸ هفته و سپس چینه سرمایی برای ۱۶ تا ۲۴ هفته برای رسیدن به بالاترین درصد جوانه‌زنی نیاز دارد. نرم شدن پوسته حتی به کمک اسید سولفوریک تأثیر معنی‌داری در بهبود جوانه‌زنی این گونه نداشت (کمتر از ۵ درصد جوانه‌زنی) (۲۰). نتایج ما در خصوص اثر استفاده ترکیبی از اسید سولفوریک و چینه سرمایی در بهبود جوانه‌زنی با نتایج پیشین مطابقت ندارد که این موضوع تا حد زیادی می‌تواند به دلیل مکان رشد و نمو گل رز ایرانی باشد که منجر به عدم نیاز به دمای پایین برای جوانه‌زنی می‌شود. نتایج ما در خصوص بی‌اثر بودن استفاده ترکیبی از اسید سولفوریک و اسید جیرلیک در بهبود جوانه‌زنی با نتایج Zhou و همکاران (۲۰) هم سو است. در گونه *R. arvensis* مشخص شد که وجود بازدارنده‌های رشد در رویان، در محدود کردن جوانه‌زنی نقش دارد که محدودیت توسط بتزیل آدنین و اسید جیرلیک قابل رفع است (۲۷).

بر اساس مطالعات انجام شده مشخص شده است که اسید جیرلیک اثر قابل توجهی در توسعه رویان ندارد بلکه به عنوان عامل اصلی در تحریک جوانه‌زنی نقش دارد. بنابراین کاربرد خارجی آن به عنوان محرك جوانه‌زنی عمل خواهد کرد (۲۸). اسید جیرلیک در تنظیم آزادسازی مواد مؤثر، القای آنزیمی و تنظیم جوانه‌زنی مؤثر است (۲۹) و اسید سولفوریک با کاهش ضخامت پوسته بذر جذب آب و خروج ریشه‌چه را تسهیل می‌کند. کاهش درصد جوانه‌زنی در تیمار اسید سولفوریک ۳۰ دقیقه می‌تواند به علت تأثیر شدید اسید بر پوسته بذر و به دنبال آن آسیب رویان

کرده‌اند افزایش می‌دهد. این موضوع بیانگر وجود خفتگی فیزیکی مربوط به پوسته بذر در گل رز ایرانی است. وجود خفتگی دوگانه فیزیکی و فیزیولوژیکی در بذرها گل رز پیش‌تر گزارش شده است (۲۴). در گزارشی مربوط به اثر اسید سولفوریک روی بذرها *Rosa rugosa* مشخص شد که تیمار با اسید سولفوریک به مدت ۴ دقیقه به بیشترین درصد جوانه‌زنی (۳۴ درصد) منجر می‌شود. این در حالی است که افزایش زمان تیمار اسید سولفوریک به ۶ دقیقه، درصد جوانه‌زنی را به ۱۲ درصد کاهش داد (۲۴). هم‌چنین بیشترین درصد جوانه‌زنی در غلظت ۰/۰ میلی‌گرم در لیتر اسید جیرلیک در محیط نیم غلظت موراشیگ و اسکوگ به میزان ۶۰/۲۵ درصد به دست آمد. گزارش شده است که افزایش غلظت اسید جیرلیک به ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر درصد جوانه‌زنی را در این گونه کاهش می‌دهد. در پژوهش حاضر نیز با افزایش زمان تیمار اسید سولفوریک به ۱۰ دقیقه و افزایش غلظت اسید جیرلیک به ۱۰ میلی‌گرم در لیتر درصد جوانه‌زنی کاهش یافت که نتایج آن با گزارش‌های پیشین همسو می‌باشد. غلظت اسید جیرلیک دارای یک حد بحرانی می‌باشد که اعمال بیش از این حد، باعث اثرات منفی بر جوانه‌زنی می‌گردد (۲۵). اعمال تیمار ۳۰ دقیقه اسید سولفوریک در بالاترین غلظت اسید جیرلیک، اثر افزایشی در جوانه‌زنی داشت. به هر حال درصد جوانه‌زنی بیش از ۶۰ درصد در تیمار ۱۰ دقیقه اسید سولفوریک و در محیط عاری از هورمون به دست آمد که بیانگر این نکته است که اسید جیرلیک قادر به افزایش شدید جوانه‌زنی در بذر گل رز ایرانی نیست. اما بر اساس نتایج این آزمایش، افزایش نسبی جوانه‌زنی در غلظت‌های بالای اسید جیرلیک مشاهده شده است. بهبود درصد جوانه‌زنی از ۰/۷ تا ۳۷ درصد در دورگه میان "Old Blish" و *R. wichuraiana Crep*

مؤثر بوده که این نتایج با نتایج گزارش‌های پیشین مطابقت دارد (۳۴، ۳۵). یکی از دلایل افزایش طول ساقه‌چه توسط هورمون اسید جیبرلیک به خاطر افزایش در رشد و تقسیمات سلولی از طریق تأثیر بر سنتز و فعالیت هورمون اکسین و سایتونکنین می‌باشد (۳۱).

نتیجه‌گیری

این پژوهش به دلیل نبود هیچ گونه اطلاعاتی در خصوص جوانه‌زنی بذر گل رز ایرانی انجام شد. به‌طور خلاصه تیمار دمای پایین بر بهبود جوانه‌زنی گل رز ایرانی در شرایط درون و برون‌شیشه‌ای بی‌تأثیر بود. تیمار اسید سولفوریک، خفتگی فیزیکی پوسته بذر این گل را از بین برد و اثر بیشتری در مقایسه با اسید جیبرلیک بر درصد جوانه‌زنی داشت. از سوی دیگر، کاربرد اسید جیبرلیک اگرچه به‌طور معنی‌داری در بهبود جوانه‌زنی تأثیری نداشت، اما بر بهبود خصوصیات رشدی ریشه و ساقه این گل مؤثر بوده است.

باشد (۳۰). در بذرهایی که با ۱۰ درصد اسید سولفوریک تیمار شده بودند با افزایش غلظت اسید جیبرلیک تعداد و طول ریشه‌های فرعی کاهش یافت اما در تیمار ۳۰ درصد اسید سولفوریک، در بالاترین غلظت اسید جیبرلیک این میزان به صفر رسید. این در حالی است که بذرهایی که با اسید سولفوریک تیمار شده بودند، با افزایش غلظت اسید جیبرلیک به‌طور قابل توجهی طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و دانهال افزایش یافته است که با نقش اصلی این هورمون گیاهی در طول شدن سلول‌ها (۳۱) منطبق است. اثر افزایشی طول میانگره به وسیله اسید جیبرلیک تا حدی مربوط به نقش ژن *MSD1* در جلوگیری از تجزیه *GA20* در سلول گیاه است (۳۲). در پژوهش دیگری گزارش شده است که اسید جیبرلیک طول ریشه، و تعداد ریشه فرعی را افزایش داده است (۳۳) در صورتی که در پژوهش حاضر جیبرلین تنها باعث افزایش طول ریشه اصلی شده است و اثری عکس بر تعداد و طول ریشه فرعی داشت. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که هورمون اسید جیبرلیک در رشد طولی دانهال‌ها

منابع

- 1.Harmon, D. 2022. Tissue culture, transformation and cytogenetics of Rose (*Rosa hybrida*). M.Sc. thesis. North Carolina State University. USA. 82p.
- 2.Desta, B., Tena, N. and Amare, G. 2022. Response of Rose (*Rosa hybrid L.*) plant to temperature. Asian J. Plant, Soil Sci. 7: 93-101.
- 3.Ukrainets, O. and Polishchuk, V. 2022. Clonal Micropagation, rhizogenesis and adaptive capacity of certain Rose (*Rosa L.*) variety explants. Grassroots. J. Nat. Res. 5: 47-56.
- 4.Muzaffarian, V. 2011. Trees and shrubs of Iran. Nashr Moaser. 1054p.
- 5.Ueda, Y., Kurosawa, T., Ogawa, S., Nishino, E., Wang, B., Liao, K. and He, H. 2000. Morphological character and germination in achenes of *Rosa persica* Michx. In III Internat. Symp. Rose Res.Cultivar. 547: 129-140.
- 6.Ghahreman, A. 1988. Flora of Iran, Vol. 1 to 24, Research Institute of Forests and Rangelands. (In Persian)
- 7.Haouala, F., Hajlaoui, N., Ben, Z. and Cheikh-Affene, Z. 2013. Enhancing seed germination in Rose (*Rosa rubiginosa L.*). Med. Arom. Plants. 2: 1-4.
- 8.Zlesak, D.C. 2005. The effects of short-term drying on seed germination in *Rosa*. HortSci. 40: 6. 1931-1932.
- 9.Meyer, S.E. 2008. Rosa L.: rose, briar. In: Franklin, T., Karrfalt, Robert P., eds. The Woody Plant Seed Manual. Agric. Handbook No. 727. Washington, DC. U.S. Department of Agriculture, Forest Service. pp. 974-980.

- 10.Zhou, Z.Q., Bao, W.K. and Wu, N. 2009. Dormancy and germination in *Rosa multibracteata* Hemsl. & EH Wilson. *Sci. Hort.* 119: 4. 434-441.
- 11.Densmore, R. and Zasada, J.C. 1977. Germination requirements of Alaskan *Rosa acicularis*. *Can. Field-Natural.* 91: 1. 58-62.
- 12.Jackson, G.A.D. and Blundell, J.B. 1963. Germination in *Rosa*. *J. Hort. Sci.* 38: 4. 310-320.
- 13.Bo, J., Huiru, D. and Xiaohan, Y. 1993. Shortening hybridization breeding cycle of rose-a study on mechanisms controlling achene dormancy. In International Symposium on Cultivar Improvement of Horticultural Crops. Part 3: Flowers. 404: 40-47.
- 14.Hilhorst, H.W.M. 1998. The regulation of secondary dormancy. The membrane hypothesis revisite. *Seed Sci. Res.* 8: 77-90.
- 15.Suszka, B. and Bujarska-Borkowska, B. 1987. Seed after-ripening, germination and seedling emergence of *Rosa canina* L. and some of its rootstock selection. *Arboretum Kórnickie.* 32: 231-296.
- 16.Basbouss-Serhal, I., Leymarie, J. and Bailly, C. 2016. Fluctuation of *Arabidopsis* seed dormancy with relative humidity and temperature during dry storage. *J. Exp. Bot.* 67: 119-130.
- 17.Li, Z., Zhang, J., Liu, Y., Zhao, J., Fu, J., Ren, X., Wang, G. and Wang, J. 2016. Exogenous auxin regulates multi-metabolic network and embryo development, controlling seed secondary dormancy and germination in *Nicotiana tabacum* L. *BMC Plant Biol.* 16: 41.
- 18.Shikhamany, S.D. 2006. Horticultural genetic resources: role of ex situ conservation. ICAR short course on in vitro conservation and cryopreservation new options to conserve horticultural genetic resources. Hessaraghatta Lake: Indian Institute Hort. Research, pp. 6-15.
- 19.Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
- 20.Zhou, Z.Q., Bao, W.K. and Wu, N. 2009. Dormancy and germination in *Rosa multibracteata* Hemsl. & E.H. Wilson. *Sci. Hort.* 119: 434-441.
- 21.Sadegh Azadi, M., Bahari, A. and Yonesi, A. 2012. Preparation wild rye seed with gibberellic acid to improve germination under stress, The 3rd National Conference on Pasture. Watersheds and Desert. Med. Source Faculty, Iran. pp. 39-45.
- 22.Greipsson, S. 2001. Effects of stratification and GA3 on seed germination of a sand stabilizing grass *Leymus arenarius* used in reclamation, *Seed Sci. Technol.* 29: 1-10.
- 23.Nadjaf, M., Banayan, L., Tabrizi, I. and Rastgoo, M. 2006. Seed germination and seed dormancy breaking techniques for *Ferula gummosa* and *Teucrium polium*. *J. Arid Environ.* 64: 542-547.
- 24.Lee, J.Y., Lee, J.H., Ki, G.Y., Kim, S.T. and Han, T.H. 2011. Improvement of Seed Germination in *Rosa rugosa*. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 29: 352-357.
- 25.Rajabian, T., Saboora, A., Hassani, B. and Fallah Hosseini, H. 2007. Effects of GA3 and chilling on seed germination of *Ferula assa-foetida*, as a medicinal plant. *Iranian J. Med. Arom. Plants.* 23: 391-404.
- 26.Anderson, N. and Byrne, D.H. 2007. Methods for *Rosa* germination. *Acta Hort.* 7251. 10.17660/ ActaHortic. 2007. 751.64.
- 27.Jackson, G.A.D. and Blundell, J.B. 1963. Germination in *Rosa*. *J. Hort. Sci.* 38: 310-320.
- 28.Dehgan, B. and H. Perez.2005. Preliminary study shows germination of *Caribbean applecactus* improved with acid scarification and Gibberellic acid. *Native Plants J.* 6: 1. 91-96.
- 29.Panda, D., Mohanty, S., Das, S., Prasad Sah, R., Kumar, A., Bwhwra, L., Baig, M. and Tripathy, A.C. 2021. The role of phytochrome-mediated gibberellic acid signaling in the modulation of seed germination under low light stress in rice (*Oryza sativa* L.). *Physio. Molecul. Biol. Plants.* 28: 585-605.
- 30.Takos, I.A. and Efthimiou, G.S.P. 2003. Germination results on dormant seeds of fifteen Tree species autumn sown in a

- northern Greek nursery, Silvae Genet. pp. 566-578.
- 31.Taiz, L., Zeiger, E., Moller, I.M. and Murphy, A. 2015. Plant physiology and development. Sinauer Association, INC (p.761).
- 32.Li, W., Ma, Q., Yin, P., Wen, J., Niu, L. and Lin, H. 2021. The GA 20-Oxidase Encoding Gene MSD1 Controls the Main Stem Elongation in *Medicago truncatula*. Front Plant Sci. 12: 709625. doi:10.3389/fpls.2021.709625.
- 33.Isvand, H., Azarnia, M., Nazarian Firoozabadi, F. and Sharafi, R. 2011. Effects of Priming by Gibberellin and Abscisic Acid on Emergence and some Physiological Characters of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Seedling under Dry and Irrigated Conditions. Iranian J. Field Crop Sci. 14: 789-797.
- 34.Emam, M. 2004. Asexual regeneration of mature *Juglans regia* by shoot tip culture. Pajouhesh and Sazandegi. 63: 10-15.
- 35.McGranahan, G. 1987. Tissue culture of *Juglans*. In: Bonga and Durzan (edt). Cell and tissue culture in Forestry, Vol. 3. Martinus. Nijhoff (pub): 261-271.

