Iranian Genetics Society
Journal of Genetics and Plant Breeding
Shahid Bahonar University of Kerman

Investigating seedling and mature plant development of *Bunium Persicum* for its domestication purposes

Farkhondeh Rezanejad

*Corresponding Authour: Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. Email address: frezanejad@uk.ac.ir

Hero Rahimi

PhD, Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. Email address: rahimi.hero@gmail.com

Farzad Ganjalikhani Hakemi

PhD, Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. Email address: hakemif92@gmail.com

Mohsen Asadi Khanouki

PhD, Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. Email address: mohseneasadi@gmail.com

Abstract

Objective

More appropriate exploitation of medicinal plants requires the transfer of their germplasm from nature to agriculture through domestication. Black zireh or Kermani zireh (*Bunium persicum*) is used in the food and pharmaceutical industries. Several studies have reported its hard germination and seed dormancy. There are no published reports about its fruit development in field (farm) cultivation. The low germination and long life cycle have led to its major harvesting from natural habitats.

Materials and Methods

Black zireh seeds collected from Gavar (Kerman province) were cultivated in petri dish and perlite at 5-7°C. For studying the development of flowers and fruits, as well as the beginning of domestication and adaptation, seeds were planted in the farm of Sarduiyeh and Shahid Bahonar University of Kerman.

Results

Dormancy, lack of mature seeds, and emptiness decrease germination percentage. Dormancy breaking and seed germination were optimized by cold treatment without any chemical treatment indicating morphophysiological dormancy. At 5-7°C, about 30-45 days after cultivation, the germination was ≥90%. Cotyledonary seedlings and rosette leaves developed in the first and second years respectively. In the third year, about 20-30% of the plants formed compound umbel inflorescences and schizocarp fruits. All plants produced flowers and fruits in the fourth year. The underground part, which begins developing in the first year, turns brown as it grows, accompanied by the formation of cottony tissue.

Conclusion

Seed dormancy in Black zireh is morphophysiological, and seed maturation plays key role in germination. Flowers and Fruits formed 3 years after planting. The results showed the beginning of its successful domestication; hence suitable ecotype selection and breeding programs are underway.

Keywords: Underground storage part, Seed dormancy and germination, Black zireh, Flowering, Fruit.

Paper Type: Research Paper.

Citation: Rezanejad F, Rahimi H, Ganjalikhani Hakemi F, Asadi Khanouki M (2024) Investigating seedling and mature plant development of *Bunium Persicum* for its domestication purposes. *Journal of Genetics and Plant Breeding* 1 (1), 79-96.

Journal of Genetics and Plant Breeding 1 (1), 79-96. DOI: 10.22103/gpb.2024.22953.1000

Received: December 29, 2023. Received in revised form: February 20, 2024.

Accepted: February 22, 2024. Published online: April 6, 2024.

Publisher: Research and Technology Institute of Plant Production, Afzalipour Research Institute, Shahid Bahonar University of Kerman and Iranian Genetics Society.

© the authors

مجله ژنتیک و به نژادی گیاهی
انجمن ژنتیک ایران
I.G.S.
دانشگاه شهید باهنر کرمان
پژوهشگاه اضفی پور

مطالعات تکوین دانه‌رست و گیاه بالغ در زیره سیاه (*Bunium persicum*) به‌منظور اهلی‌سازی آن

فرخنده رضانژاد

*نویسنده مسئول: استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران. رایانامه: frezanejad@uk.ac.ir

هیرو رحیمی

دانش آموخته دکتری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران. رایانامه: rahimi.hero@gmail.com

فرزاد گنجعلیخانی حاکمی

دانش آموخته دکتری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران. رایانامه: hakemif92@gmail.com

محسن اسدی خانوکی

دانش آموخته دکتری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران. رایانامه: mohseneasadi@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۸ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۳ /۱۲/۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۳

چکیده

هدف: بهره‌برداری بهتر از گیاهان دارویی، به کشت و اهلی‌سازی رقم‌های مستعد نیاز دارد که از طریق انتقال آن‌ها از محیط طبیعی به کشت مزرعه‌ای انجام می‌شود. زیره سیاه یا زیره کرمانی (*Bunium persicum* یا *Elwendia persicum*) یکی از گیاهان دارویی مهم و با ارزش اقتصادی بالای جنس *Bunium* می‌باشد که به‌طور عمده در صنایع غذایی و دارویی کاربرد دارد. مطالعات متعددی، رویش سخت و خفتگی دانه را در این گونه گزارش کردند. تاکنون گزارشی در ایران و دنیا درباره تکوین دانه رست و گیاه بالغ، تشکیل گل و میوه و نیز در زمینه سازگاری گیاه در مزرعه منتشر نشده است؛ از طرفی درصد رویش پایین و چرخه رویشی طولانی سبب شده بخش عمده محصول از زیستگاه‌های طبیعی برداشت شود.

مواد و روش‌ها: دانه‌های زیره سیاه جمع‌آوری شده از گَوَر (استان کرمان)، پس از استریل‌سازی، در پتری‌دیش و پرلیت در دمای ۷-۵°C کشت شدند. به‌منظور مطالعات مراحل تکوینی بعدی تا تشکیل گل و میوه و نیز شروع اهلی‌سازی و سازگاری گیاهان، کشت مزرعه‌ای در ساردوئیه و دانشگاه شهید باهنر کرمان انجام شد.

نتایج: خفتگی، تکوین ناقص رویان و پوکی سبب کاهش درصد رویش هستند. شکست خفتگی و رویش دانه، با تیمار سرما بدون استفاده از تیمار شیمیایی بهینه شد که نشان‌دهنده خفتگی از نوع مورفوفیزیولوژیک (MPD) است. در دمای ۷°C-۵، حدود ۴۵-۳۰ روز پس از کشت، رویش بالاتر از ۹۰٪ مشاهده شد که در سال اول تکوین، دانه‌رست‌های لپه‌ای و در سال دوم برگ‌های طوقه‌ای (روزت) تشکیل شدند. در کشت مزرعه‌ای، در سال سوم کشت، حدود ۲۰-۳۰ درصد گیاهان، پس از تشکیل برگ‌های روزت و برگ‌های ساقه‌ای، گل‌آذین چتر مرکب و میوه شیزوکارپ دادند و در سال چهارم، همه گیاهان کشت شده، گل و دانه تولید کردند. بخش زیرزمینی که از سال اول شروع به تکوین می‌نماید طی نمو با تشکیل بافت چوب‌پنبه‌ای قهوه‌ای می‌شود.

نتیجه‌گیری: خفتگی دانه در زیره از نوع مورفوفیزیولوژیک بوده و چرخه تکوینی گیاه تا تشکیل گل و میوه ۴-۳ سال طول می‌کشد. نتایج این مطالعه شروع اهلی سازی موفق این گونه را نشان داد که گزینش اکوتیپ‌های بهتر و برنامه‌های اصلاحی، در حال انجام هستند. همچنین مرحله نموی دانه (میوه) نقش مهمی در رویش موفق دارد.

کلیدواژه‌ها: بخش ذخیره‌ای زیرزمینی، خفتگی و رویش دانه، زیره سیاه، گل‌دهی، میوه.

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: رضانژاد فرخنده، رحیمی هیرو، گنجعلیخانی حاکمی فرزاد، اسدی خانوکی محسن (۱۴۰۳) مطالعات تکوین دانه‌رست و گیاه بالغ در زیره سیاه (*Bunium persicum*) به‌منظور اهلی‌سازی آن. *مجله ژنتیک و به‌نژادی گیاهی*، ۱(۱)، ۹۶-۷۹.

Publisher: Research and Technology Institute of Plant Production, Afzalipour Research Institute, Shahid Bahonar University of Kerman and Iranian Genetics Society

© the authors

مقدمه

سرده (جنس) زیره یا *Bunium* L. (تیره Apiaceae) با حدود ۵۱ گونه، در آسیا، اروپا و آفریقای شمالی توزیع شده است. در سال‌های اخیر، محققین روسی این سرده را بر اساس تفاوت در ساختار میوه به‌ویژه وسعت صفحه اتصال دو مریکارپ (کومیشر)، تعداد لپه‌ها و توالی‌های مولکولی ITS و ETS از nrDNA به دو جنس جداگانه *Bunium* و *Elwendia* تقسیم کردند (Degtjareva et al. 2013; Kljuykov et al. 2020). زیره سیاه یا زیره کرمانی که تاکنون *Bunium persicum* نامیده

شده است؛ مطابق رده‌بندی این محققین، *Elwendia persicum* نامیده می‌شود. مطابق رده‌بندی جدید، گونه‌های *B. paucifolium*، *B. rectangulum*، *B. cornigorum*، *B. lurestanicum*، *B. verruculosum*، در جنس *Bunium* باقی ماندند و سایر گونه‌ها از جمله زیره سیاه در جنس *Elwendia* قرار گرفته‌اند (Degtjareva et al. 2009, 2013; Kljuykov et al. 2020).

براساس رده‌بندی Mozaffarian (2007)، در ایران، همه گونه‌ها در جنس *Bunium* قرار دارند. حدود ۱۷-۱۴ گونه برای ایران گزارش شده است که دارای خواص دارویی هستند اما مهم‌ترین گونه در بین آن‌ها به‌دلیل بوی معطر و خواص متعدد که به ترکیب کومین آلدئید آن نسبت داده می‌شود، زیره سیاه (*B. persicum* یا *E. persicum*) است (Adelifar & Rezanejad 2020, 2021). این جنس دارای خواص تغذیه‌ای و دارویی متعددی از جمله خواص ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، ضد دیابتی و سایر خواص درمانی است که به ترکیبات اسانس و ترکیبات فنلی متعدد آن نسبت داده می‌شود (Adelifar & Rezanejad 2021).

زیره سیاه (*B. persicum* یا *E. persicum*)، از جمله گیاهان دارویی با ارزش اقتصادی و صادراتی بالا می‌باشد که برای مصارف آشپزی به‌عنوان ادویه، در غذاها و نوشیدنی‌ها مانند پخت و پز نان، برنج، ماست، پنیر و در محصولات شیرینی‌پزی استفاده می‌شود (Aminzare et al. 2017; Sharififar et al. 2010). این گیاه همچنین در صنعت عطرسازی و لوازم آرایشی کاربرد دارد (Salehi et al. 2008). در طب سنتی و مدرن، در معالجه دستگاه گوارش، سوء هاضمه، سردردهای مزمن، اسهال و همچنین برای بهبود عملکرد کبد و چاقی استفاده می‌شود. خواص عملکردی آن، به ترکیبات موثره مخصوصاً ترکیبات ترپنی نسبت داده شده است (Adelifar & Rezanejad 2020; Bansal et al. 2023; Rahimi et al. 2010). این ماده به‌عنوان یک ضد تشنج، ضد دیابت، ضد آسم، ضد اسپاسم، ضد صرع، ضد انسداد، افزایش دهنده شیر مادر استفاده می‌شود (Miraj 2016). با وجود تمام خواص شناخته شده این گیاه ارزشمند، حقایق ناشناخته و کشف نشده زیادی در مورد این گونه شگفت‌انگیز وجود دارد.

کشت زیره سیاه محدود به ارتفاعات بالا، مناطق جنگلی، دامنه‌های چمن‌زار، و مناطق آلپی با ارتفاع کم و متوسط است. برخی گیاهان تیره چتریان از جمله جنس *Bunium*، دارای بخش غده‌ای زیرزمینی است. به‌طور طبیعی، این گیاه از طریق جنسی و توسط دانه تکثیر می‌شود اما دانه‌رست‌ها پس از چهار سال به گل می‌رسند (Khan et al. 2023; Singh et al. 2021). تقاضا برای *B. persicum* به‌سرعت در حال افزایش است، در حالی که زیستگاه طبیعی آن به‌دلیل برداشت بیش از حد در حال کاهش است. کشت تجاری این گونه محدودیت‌های مختلفی دارد، برای مثال، این گونه به‌صورت زیرجمعیت‌های پراکنده و وحشی رشد می‌کند و همچنین چرخه زندگی آن از دانه به دانه طولانی (۴-۳ سال)، عملکرد آن کم، کیفیت محصول نامشخص، جوانه‌زنی بذر ضعیف و ریشه غده‌ای قابلیت تکثیر طبیعی ندارد. به‌علاوه، در سال‌های اخیر، برداشت بی‌رویه بذر آن از زیستگاه‌های وحشی برای سود اقتصادی سریع، به‌طور ژنتیکی اکوتیپ آن را فرسایش داده و این گیاه را به گونه‌ای در حال انقراض تبدیل کرده است. کل محصول توسط جمعیت محلی جمع‌آوری می‌شود و در بازار فروخته می‌شود (Khan et al. 2023; Singh et al. 2021).

با توجه به ارزش دارویی و غذایی زیره سیاه، مطالعات متعددی روی خواص دارویی، تغذیه‌ای و بررسی ترکیبات ثانویه این گونه به‌ویژه اسانس‌های آن انجام شده است. همچنین، مطالعات متعددی روی خفتگی دانه و شکست آن انجام شده است که بیشتر توسط محققان ایرانی و هندی بررسی شده است. در همه این مطالعات به مشکل خفتگی و رویش سخت دانه‌ها اشاره شده است و با استفاده از تیمارهای مختلف، به بهینه‌سازی شکست خفتگی و رویش دانه اقدام شده است اما ادامه روند رشد و نمو، پس از رویش تا تشکیل گل و میوه بررسی نشده است. تاکنون دو نوع خواب مورفولوژیک و مورفوفیزیولوژیک در خانواده چتریان شناسایی شده است (Adelifar & Rezanejad 2021; Baskin & Baskin 2014; Singh et al. 2021). مطابق طبقه‌بندی خواب بذر، رویان‌های تمایزیافته[1] و در حال توسعه[2] دارای خواب مورفولوژیک و یا مورفوفیزیولوژیک هستند و رویان‌های تمایزیافته و توسعه‌یافته دارای خواب فیزیولوژیک هستند. در هر دو نوع خفتگی، تیمارهای دمایی مناسب و تنظیم هورمونی برای رشد بهینه رویان و شکست خفتگی لازم می‌باشند (Baskin & Baskin 2014). مطالعاتی با هدف اهلی‌سازی در شرایط کشت در شیشه و در گلخانه انجام شده است اما در این آزمایش‌ها، کل مرحله نموی به سال اول ختم شده و ادامه مراحل نموی حتی در آزمایشگاه و گلخانه گزارش نشده است. به‌هرحال، Kumar & Singh (2021) اشاره به کشت آن در روستای شونگ (منطقه کیناور هیماچال) هند کرده‌اند و محدودیت رویش و گل‌دهی را گزارش کرده‌اند (Singh et al. 2021). همچنین، Khan et al. (2023) کشت گونه در گلدان و مزرعه را انجام دادند. آن‌ها حداکثر رویش دانه را حدود ۵۸ درصد گزارش کردند و تصویر مستندی که تولید گل و دانه را نشان داده باشد، ارائه نکردند (Khan et al. 2023). در حال حاضر منبع اصلی تولید زیره سیاه، رویشگاه‌های طبیعی است که به‌دلیل بروز خشک‌سالی‌های اخیر و برداشت غیراصولی و بی‌رویه، منجر به کاهش جمعیت طبیعی شده و آن را در معرض انقراض قرار داده است (Thakur & Dutt 2019). بنابراین، با توجه به این موضوع و نیز استفاده اقتصادی و دارویی بالای زیره سیاه، کشت و اهلی‌سازی آن از اهمیت بالایی برخوردار است که در ایران، تاکنون هیچ گزارشی از کشت مزرعه‌ای آن ارائه نشده است.

مواد و روش‌ها

منطقه جمع‌آوری بذر زیره سیاه: به‌منظور بررسی رویش دانه (میوه)، دانه‌های زیره سیاه (*Bunium persicum* یا *Elwendia persicum*) در مرحله بلوغ کامل از منطقه گَوَر (Gavar) (بافت، استان کرمان) با مختصات جغرافیایی 29°9'42.16"N - 57°42'53.25"E و ارتفاع ۲۲۵۰ جمع‌آوری شدند. رسیدگی میوه (دانه) به‌طور معمول در خرداد ماه است اما بسته به شرایط آب و هوایی سال و نیز محل جمع‌آوری، زمان رسیدگی متفاوت است و از اوایل خرداد تا اواخر تیر ادامه دارد.

[1] Differentiated
[2] Underdeveloped

تیماردهی و کشت در اتاقک رشد: با توجه به گزارشات متعدد روی رویش سخت دانه‌ها، ابتدا به‌منظور بهینه‌سازی رویش، از تیمار سرما استفاده و نمونه‌ها در ظروف پتری (با بستر کاغذ صافی و دستمال کاغذی) و گلدان‌های دارای پرلیت بدون خاک کشت شدند. در این روش، دانه‌ها به‌مدت یک شب در زیر آب جاری شسته شدند و سپس سطح آن‌ها با اتانول ۷۰ درصد به‌مدت ۱ دقیقه و محلول هیپوکلریت سدیم ۱ درصد به‌مدت ۱۰ دقیقه استریل شد. در هر روش آزمایش (ظروف پتری، گلدان‌های پرلیت) ۵ تکرار و در هر تکرار ۱۰۰ دانه مورد آزمایش قرار گرفت. به‌منظور اثر تیمار سرما، پس از بهینه‌سازی اولیه، ظروف مختلف کشت تا زمان رویش در دمای ۷–۵ درجه سانتیگراد قرار گرفتند (روش استفاده شده پس از آزمایشات متعدد توسط نویسندگان ابداع شد). پس از شروع رویش، دانه‌ها در اتاقک رشد (فیتوترون، شرکت نور صنعت‌آزما، مدل Phytotron 600ax) با شرایط دمایی ۲۱/۱۸ درجه سانتی‌گراد روز و شب قرار گرفتند. درصد رویش با استفاده از نسبت دانه‌های رویش‌یافته به تعداد کل دانه‌ها محاسبه شد.

کشت در مزرعه: پس از بهینه‌سازی رویش و رشد در آزمایشگاه، کشت بذر تا تشکیل گل و میوه در دو مزرعه (کرمان، مزرعه دانشگاه شهید باهنر کرمان و ساردوئیه در روستای محمدآباد شهید روزبیکر) بررسی شد. هدف از انتخاب این دو منطقه، تکرار آزمایش برای تشکیل گل و میوه بود (استان کرمان، یکی از زیستگاه‌های اصلی زیره سیاه بصورت خودرو (وحشی) می‌باشد، در برخی مناطق کوهستانی اطراف شهر کرمان (کوهپایه، ده‌بالا، سیرچ) و نیز در اطراف شهر ساردوئیه (بحرآسمان، رمون، دلفارد)، زیره سیاه و برخی گونه‌ها به‌صورت خودرو وجود دارند و گل و میوه می‌دهند). در این مطالعه با توجه به تفاوت در شرایط آب و هوایی دو منطقه، برداشت در دانشگاه شهید باهنر کرمان در خرداد و در منطقه ساردوئیه در تیر ماه انجام شد. میوه‌ها (دانه‌ها) در مرحله رسیدگی کامل که رنگ میوه قهوه‌ای می‌شود، برداشت شدند که بسته به منطقه کشت و شرایط آب و هوایی سالانه، زمان برداشت متفاوت است (جدول ۱). طی رویش دانه و تشکیل دانه‌رست، ویژگی‌های تکوینی دانه‌رست و گیاه بالغ بررسی و عکس‌برداری شدند.

آنالیز آماری: کشت آزمایشگاهی در ۵۰ پتری‌دیش و ۵ گلدان حاوی پرلیت که در هر پتری و گلدان ۱۰۰ دانه به‌طور کاملا تصادفی کشت شدند، انجام شد. در کشت مزرعه‌ای حدود ۴۰ کرت در دانشگاه شهید باهنر کرمان و ۱۰ کرت در ساردوئیه انتخاب و در هر کرت حدود ۱۰۰۰ دانه به‌طور کامل تصادفی کشت شدند. در بررسی و مقایسه آماری میزان رویش دانه‌ها در شرایط تیماردهی و کشت در اتاقک رشد با استفاده از نرم‌افزار SPSS Ver 27.0 و آزمون T-test در سطح معنی‌داری ۵ درصد انجام شد. همچنین مقایسه آماری بذرهای کشت شده در شرایط مزرعه در سال سوم و چهارم با استفاده از آنالیز ANOVA و آزمون Duncan در سطح معنی‌داری ۵ درصد مورد بررسی قرار گرفت.

جدول ۱. موقعیت جغرافیایی و مشخصه‌های اقلیمی مناطق کشت مزرعه‌ای زیره سیاه (*B. persicum*).

Table 1. The geographical location of cultivation regions of Black zireh (*B. persicum*).

منطقه Region	مختصات جغرافیایی Geographical location	ارتفاع از سطح دریا Height above sea level
مزرعه دانشگاه شهید باهنر کرمان The farm of Shahid Bahonar University of Kerman	30°14'42.7"N – 57fie °07'15.4"E	1750 متر
مزرعه ساردوئیه The farm of Sarduiyeh	29°12'10.6"N - 57°20'53.2"E	2700 متر

	سال Year	بارندگی (میلی‌متر) rainfall (Mm)	میانگین بیشینه (سانتیگراد) Maximum average (°C)	میانگین دما (سانتیگراد) Average temperature (°C)	میانگین کمینه (سانتیگراد) Minimum average (°C)	رطوبت نسبی (٪) relative humidity (٪)
مزرعه ساردوئیه The farm of Sarduiyeh	1396	119.7	22.5	16	9.5	29.3
	1397	189.7	22.1	15.9	9.8	33.1
	1398	366.7	21.3	15.4	9.5	38.5
	1399	295.2	21.9	15.7	9.6	34
	1400	250.1	23	16.7	36.4	33
	میانگین پنج ساله (Five-year average)	244.28	22.16	15.94	14.96	33.58
	حداقل (Minimum)	119.7	21.3	15.4	9.5	29.3
	حداکثر (Maximum)	366.7	23	16.7	36.4	38.5
مزرعه دانشگاه شهید باهنر کرمان The farm of Shahid Bahonar University of Kerman	1396	34	26.6	16.9	7.3	24
	1397	100.6	25.8	16.8	7.9	27.1
	1398	127.5	25.3	16.8	8.3	26.4
	1399	186.1	25.1	16.5	7.9	34.3
	1400	86.8	26.4	17.7	9	31.3
	میانگین ۵ ساله (Five-year average)	107	25.84	16.94	8.08	28.62
	حداقل (Minimum)	34	25.1	16.5	7.3	24
	حداکثر (Maximum)	186.1	26.6	17.7	9	34.3

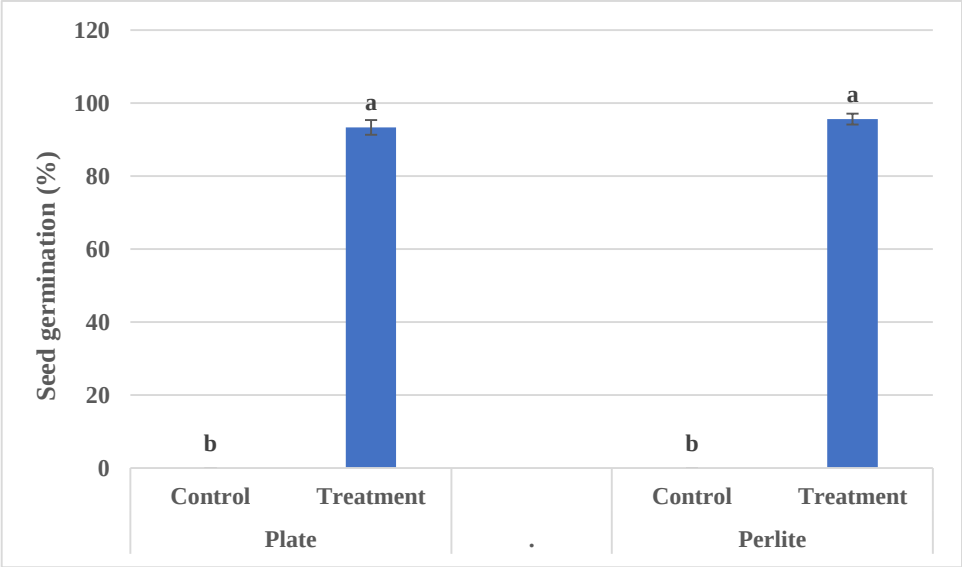
نتایج و بحث

مطالعات رویش دانه نشان داد که نمونه‌های شاهد (بدون پیش‌تیمار سرما)، رویش نداشتند اما پیش‌تیمار سرما، نقش مهمی در رویش دانه داشت و پس از حدود ۴۵–۳۰ روز سرمادهی بیش از ۹۰ درصد دانه‌ها هم در پتری‌دیش و هم در پرلیت رویش کردند و دانه‌رست‌های دو برگی (دو برگ لپه‌ای) را ایجاد کردند (شکل‌های ۳–۱).

شکل ۱. رویش دانه در زیره سیاه (*B. persicum*). A و B، به‌ترتیب مرحله خروج ریشه‌چه و تشکیل دو برگ لپه‌ای، C، کشت بذر در پرلیت

Figure 1. Seed germination in Black zireh (*B. persicum*). A and B: Emergence of radicle and the formation of two cotyledonary leaves, respectively. C: Seed cultivation in a perlite-based growth medium.

ارزیابی رویش دانه و تشکیل گل، میوه و دانه در مزرعه نشان داد که مشابه شرایط آزمایشگاهی، درصد رویش دانه‌ها در مزرعه نیز بالا بود. پس از تشکیل برگ‌های لپه‌ای در سال اول، در سال دوم برگ‌های مرکب شانه‌ای به‌صورت طوقه‌ای (روزت) تشکیل شده (شکل ۴) و در مرحله گل‌دهی (سال سوم و چهارم)، پس از تشکیل برگ‌های طوقه‌ای مرکب، ساقه یا ساقه‌های گل‌دهنده تشکیل شدند (شکل ۵). بر حسب اندازه کورم، تعداد برگ‌های طوقه‌ای و نیز ساقه‌های گل‌دهنده متفاوت است و کورم‌های بزرگ‌تر، تعداد بیشتری برگ و ساقه گل‌دهنده تشکیل می‌دهند. گل‌آذین چتر مرکب است که طی نمو، میوه‌های دو فندقه‌ای را که شیزوکارپ نامیده می‌شوند، ایجاد می‌کنند و هر میوه (هر فندقه) یک مریکارپ نامیده می‌شود. در کشت مزرعه‌ای، در سال سوم کشت، تشکیل گل و میوه در حدود ۳۰–۲۰ درصد گیاهان مشاهده شد و در سال چهارم، همه گیاهانی که برگ‌های طوقه‌ای را ایجاد کردند، گل داده و میوه (دانه) تولید کردند. در این مرحله، اندازه بخش ذخیره‌ای زیرزمینی نیز افزایش یافته و لایه‌های مختلف بافت چوب‌پنبه‌ای اطراف آن را احاطه کرده‌اند که به آن ظاهر قهوه‌ای متمایل به سیاه رنگ داده است (شکل ۶ و ۷).



شکل ۲. مقایسه درصد رویش زیره سیاه (*B. persicum*) در ظروف پتری (پتری‌دیش) و گلدان‌های دارای پرلیت، تحت پیش‌تیمار سرمای ۷-۵ درجه سانتیگراد. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد (آزمون T-test).

Figure 2. Comparison of the germination percentage of Black zireh (*B. persicum*) in Petri dishes and perlite, under cold pretreatment of 5-7 °C. Different letters indicate a significant difference at the 5% level (T-test).

بررسی رویش دانه در این مطالعه، نشان داد که رسیدگی و بلوغ کامل دانه نقش مهمی در رویش دارد. به‌علاوه، پیش‌تیمار سرما نیز، نقش مهمی در شکست خفتگی و تحریک رویش دارد و بیش از ۹۰ درصد دانه‌ها، پس از سرمادهی به‌مدت حدود ۴۵-۳۰ روز رویش کرده و دانه‌رست‌های دو برگی (دو برگ لپه‌ای) را ایجاد کردند. به‌نظر می‌رسد یکی از دلایل گزارشات متعدد درباره رویش سخت بذر (دانه) این گیاه، این باشد که بذرها (دانه‌ها) را به‌صورت زودرس جمع‌آوری می‌کنند که هنوز تمایز رویان، کامل نشده است. به‌طور معمول، مردم محلی قبل از اینکه افراد غیر محلی برای جمع‌آوری اقدام نمایند برای اینکه شانس جمع‌آوری را برای فروش از دست ندهند، دانه‌ها را زودتر از بلوغ کامل جمع‌آوری می‌نمایند. همچنین، برخی مردم محلی به‌منظور قهوه‌ای شدن بذرها که به‌طور معمول نشان‌دهنده کیفیت بالاتر بذر است پس از جمع‌آوری، آن‌ها را مالش داده تا ترکیبات فنلی آن‌ها آزاد شود و سبب تغییر رنگ آن‌ها شود، یا در کیسه‌های پلاستیکی دربسته به‌مدت ۳-۲ روز قرار می‌دهند. ممکن است این تغییرات نیز روی جوانه‌زنی اثر داشته باشد که به مطالعات دقیق‌تر و بیشتری نیاز دارد.

شکل ۳. رویش دانه و تکوین دانه‌رست با برگ‌های لپه‌ای در زیره سیاه (*B. persicum*)، A و B، به‌ترتیب در ساردوئیه و مزرعه دانشگاه شهید باهنر کرمان.

Figure 3. Seed germination and seedling development (ontogeny) with cotyledonary leaves in Black zireh (*B. persicum*). A and B, respectively in Sarduiyeh and the farm of Shahid Bahonar University of Kerman.

مطابق مطالعات Baskin & Baskin (2014)، در تیره چتریان هر دو خواب مورفولوژیک و مورفوفیزیولوژیک وجود دارد. در هر دو نوع خفتگی، تیمارهای دمایی مناسب و تنظیم هورمونی برای رشد بهینه رویان و شکست خفتگی لازم می‌باشند (Baskin & Baskin 2014). همچنین، براساس نظر این محققین، اگر رویان‌های در حال توسعه، در یک دوره زمانی کمتر از ۳۰ روزه، روی محیط مرطوب رویش نمایند دارای خواب مورفولوژیکی (MD) هستند و اگر در این دوره زمانی رویش نکنند دارای خواب مورفوفیزیولوژیکی (MPD) هستند. با توجه به اینکه دانه‌های این گونه بیش از ۳۰ روز برای رویش کامل نیاز داشتند بنابراین خواب آن‌ها از نوع MPD است. همچنین، اگر دانه‌ها به دمای بالا (≥۱۵ درجه سانتی‌گراد) برای رویش نیاز داشته باشند دارای خواب مورفوفیزیولوژیک ساده (Simple MPD) و اگر برای رویش به دمای پایین (۱۰-۰ درجه سانتی‌گراد) نیاز داشته باشند دارای خواب مورفوفیزیولوژیک پیچیده (Complex MPD) هستند (Baskin & Baskin 2014; Zhang et al. 2019; Rahimi et al. 2023). بنابراین در خواب رویان از نوع خواب مورفوفیزیولوژیک، علاوه بر اینکه لازم است رویان تا حد بحرانی و لازم جهت جوانه‌زنی رشد کند، باید خواب فیزیولوژیک دانه هم شکسته شود؛ یعنی نسبت هورمون‌های داخلی دانه هم به سمت نسبت مناسب

جهت جوانه‌زنی سوق پیدا کند. بنابراین، این تیپ رویان‌ها ترکیبی از خواب مورفولوژیک و فیزیولوژیک دارند. با توجه به شرح ذکر شده، خفتگی دانه‌های *B. persicum* از نوع مورفوفیزیولوژیک پیچیده می‌باشد. مطالعات روی جمعیت‌های مختلف و استفاده از روش‌های جهش‌زایی و یا تشکیل هیبرید می‌تواند به گزینش ژنوتیپ برتر و کوتاه کردن چرخه زندگی کمک کند که در حال انجام می‌باشند.

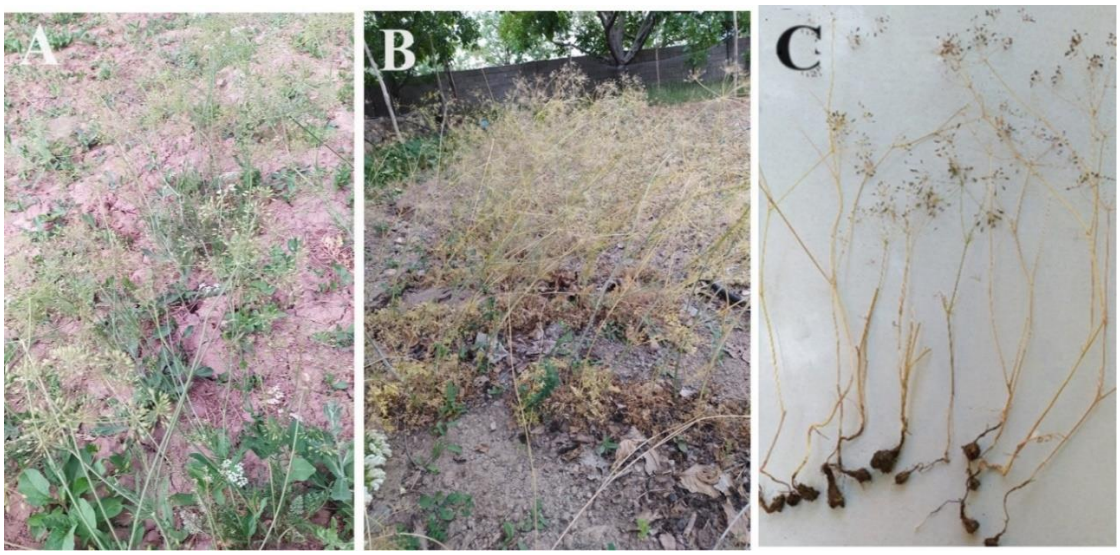
شکل ٤. تشکیل دانه‌رست با برگ‌های طوقه‌ای (روزت) در زیره سیاه در سال دوم (*B. persicum*)، A و B، به‌ترتیب در ساردوئیه و مزرعه دانشگاه شهید باهنر کرمان.

Figure 4. Formation of seedlings with rosette leaves in Black zireh (*B. persicum*) in the second year of cultivation. A and B, respectively in Sarduiyeh and the farm of Shahid Bahonar University of Kerman.

مطالعات متعددی روی کشت و رویش (جوانه‌زنی) دانه این گیاه انجام شده است که در همه آن‌ها به رویش کند، سخت و خفتگی دانه اشاره شده است. در مطالعات رویش دانه و استفاده از محرک‌های مختلف شکست خفتگی، درصد رویش ۶۵-۴۰ درصد در اثر عوامل محرک گزارش شده است. به‌جز گزارش Emamipoor & Maziah (2014) که ضمن استفاده از تیمارهای مختلف هورمونی، تیمار توأم تیدیازرون و جیبرلیک‌اسید سبب تحریک رویش بین ۹۳-۹۰ درصد شد. همچنین، Thakur & Dutt (2019) گزارش کردند که برای رویش حداکثری، پیش‌تیمار سرما در دمای ۵-۳ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵-۴ ماه نیاز است (Azizi et al. 2009; Chahota et al. 2017; Emamipoor & Maziah 2014; Mandegary et al. 2012; Singh et al. 2021; Thakur & Dutt 2019).

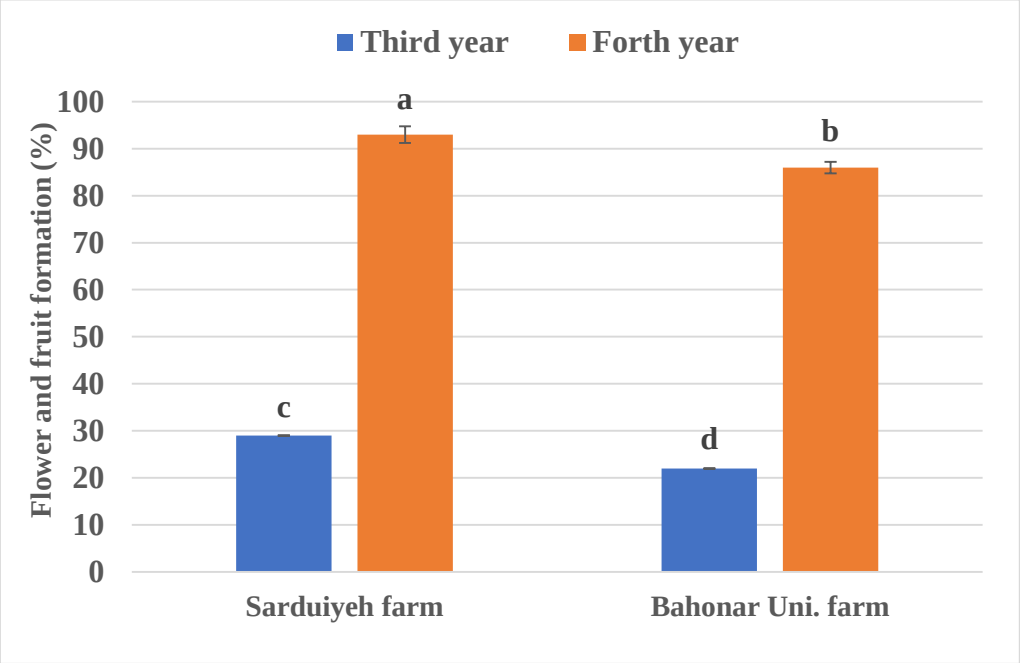
شکل ۵. تشکیل ساقه گل‌دهنده با گل‌آذین‌های چتر مرکب در زیره سیاه (*B. persicum*) در سال چهارم، A و B، به‌ترتیب در ساردوئیه و مزرعه دانشگاه شهید باهنر کرمان.

Figure 5. Formation of flowering stems containing compound umbel inflorescences in Black zireh (*B. persicum*) in the fourth year. A and B, respectively in Sarduiyeh and the farm of Shahid Bahonar University of Kerman.



شکل ٦. تشکیل میوه در زیره سیاه در سال چهارم (*B. persicum*)، A و B، به‌ترتیب در ساردوئیه و مزرعه دانشگاه شهید باهنر کرمان، C. بخش زیرزمینی چوب‌پنبه‌ای شده.

Figure 6. The fruit ripening stage in Black zireh (*B. persicum*) in the fourth year. A and B, respectively in Sarduiyeh and the farm of Shahid Bahonar University of Kerman, C, the subrinized underground part (corm).



شکل ۷. درصد تشکیل میوه زیره سیاه (*B. persicum*) در مزرعه شهید باهنر کرمان و ساردوئیه در سال سوم و چهارم. بررسی آماری با آزمون Duncan و حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

Figure 7. The percentage of fruit formation of Black zireh (*B. persicum*) in the farm of Shahid Bahonar University of Kerman and Sarduiyeh in the third and fourth years. The different letters indicate a significant difference (Duncan's test at 5% level).

مطالعات روی *Heracleum sphondylium* از خانواده چتریان نشان داد که دمای پایین برای تحریک تجزیه ذخایر اندوسپرم و در دسترس قرارگرفتن آن‌ها برای رویان در حال رشد لازم و ضروری است. دمای پایین (۲ درجه سانتی‌گراد) باعث تحریک تجزیه پروتئین‌ها به ترکیبات نیتروژنی و تشکیل اسیدهای‌آمینه گلیسین و آرژینین می‌شود که برای رشد رویان ضروری هستند. در دماهای بالا (۱۵ درجه سانتی‌گراد)، ترکیبات نیتروژنی محلول در دسترس نیستند و آلانین (که رشد رویان‌های جدا شده را تحریک نمی‌کند) فراوان‌ترین اسیدآمینه موجود می‌باشد. در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، قندهای محلول در رویان‌های این گیاه افزایش، اما در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد این قندها افزایش نیافتند. این مطالعات نشان دادند تا زمانی که منبع مناسبی از نیتروژن تأمین نشود، نوع قندهای موجود در محیط کشت اثری بر رشد رویان ندارند و مقدار کربوهیدرات‌های موجود در اندوسپرم برای تأمین رشد رویان کافی بوده و ترکیبات نیتروژنی عامل محدودکننده رشد رویان هستند. بنابراین در دماهای پایین تبدیل پروتئین‌ها به

ترکیبات نیتروژنی محلول رخ می‌دهد که همراه با قندهای محلول موجود در اندوسپرم، باعث رشد رویان طی ۹ هفته استراتیفیکاسیون سرد در دمای ۲ درجه سانتی‌گراد می‌شود (Nelson et al. 2017; Stokes 1953). به‌هرحال، در همه این مطالعات، فقط رویش و تشکیل دانه‌رست گزارش شده است و بر اساس مطالعات کتابخانه‌ای انجام شده، هیچ گزارش دقیق منتشر شده‌ای روی روند بعدی رشد و نمو دانه‌رست، استقرار آن و نیز تشکیل گل و میوه و کشت مزرعه‌ای به‌منظور اهلی‌سازی توسط دانه انجام نشده است. به‌جز مطالعه Kumar & Singh (2021) که اشاره به کشت و اهلی‌سازی زیره در روستای شونگ (منطقه کیناور هیماچال) هند کرده است و محدویت رویش و گل‌دهی را گزارش کرده‌اند. مطالعاتی با هدف اهلی‌سازی در شرایط کشت در شیشه (Mardani et al. 2015) و در گلخانه (Talezade et al. 2019) انجام شده است اما در این آزمایشات کل مرحله نموی به سال اول ختم شده و ادامه مراحل نموی و انتقال به مزرعه و حتی ادامه مراحل نموی در آزمایشگاه و گلخانه گزارش نشده است.

مطالعات رویش دانه و تشکیل گل و میوه در مزرعه نشان داد که مشابه شرایط آزمایشگاهی، رویش دانه‌ها در مزرعه نیز بالا بود. بنابراین، زیره سیاه قابلیت زراعی شدن و کشت در مزرعه را دارد. نتایج مثبت این مطالعه، می‌تواند در انجام تحقیقات بعدی کمک کند که بتوان مطالعات اصلاحی بیشتری روی گونه انجام داد، برای مثال با استفاده از جهش‌یافته‌ها یا تیمارهای مختلف بتوان خفتگی دانه را برطرف کرد یا گیاهانی تولید کرد که چرخه زندگی کوتاه‌تری داشته باشند و بتوانند در سال اول یا دوم، وارد مرحله زایشی شده و گل و میوه تولید کنند که نویسندگان در حال مطالعه و بررسی هستند.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که خفتگی دانه‌های زیره سیاه (*B. persicum*) از نوع مورفوفیزیولوژیک پیچیده (Complex MPD) بوده و پیش‌تیمار سرما (دمای پایین ۱۰-۰ درجه سانتی‌گراد) در شکست خفتگی و رویش دانه موثر است. در مزرعه، مشابه شرایط آزمایشگاهی، درصد رویش دانه‌ها بالا بود و پس از تشکیل برگ‌های لپه‌ای، در سال دوم برگ‌های مرکب شانه‌ای به‌صورت طوقه‌ای و سپس در سال سوم و چهارم، ساقه یا ساقه‌های گل‌دهنده تشکیل شدند. براساس مطالعات کتابخانه‌ای، این پژوهش، اولین گزارش منتشر شده از کشت و اهلی سازی گونه زیره می‌باشد و نتایج نشان داد که مرحله نموی دانه (میوه) نقش مهمی در رویش موفق آن‌ها دارد.

References

Adelifar, N., & Rezanejad, F. (2020). Studying the morphological diversity of *Bunium paucifolium* and some *Elwendia* species (Apiaceae). *Cogent Biology*, *6*(1), 1809820. https://doi.org/10.1080/23312025.2020.1809820

Adelifar, N., & Rezanejad, F. (2021). A comparative study of essential oil constituents, total phenolics and antioxidant capacity of the different organs of four species of the genus *Bunium*. *Flavour and Fragrance Journal*, *36*(3), 384-394. https://doi.org/10.1002/ffj.3650

Aminzare, M., Amiri, E., Abbasi, Z., Hassanzad Azar, H., & Hashemi, M. (2017). Evaluation of In Vitro antioxidant characteristics of Corn starch bioactive films incorporated with *Bunium*

Persicum and *Zataria Multiflora* essential oils. *Annual Research & Review in Biology*, *15*(5), 1-9. https://doi.org/10.9734/ARRB/2017/35155

Azizi, M., Davareenejad, G., Bos, R., Woerdenbag, H. J., & Kayser, O. (2009). Essential oil content and constituents of Black Zira (*Bunium persicum* [Boiss.] B. Fedtsch.) from Iran during field cultivation (Domestication). *Journal of Essential Oil Research*, *21*(1), 78-82. https://doi.org/10.1080/10412905.2009.9700117

Bansal, S., Sharma, K., Gautam, V., Lone, A. A., Malhotra, E. V., Kumar, S., & Singh, R. (2023). A comprehensive review of *Bunium persicum*: A valuable medicinal spice. *Food Reviews International*, *39*(2), 1184-1202. https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1929305

Baskin, C. C., & Baskin, J. M. (2014). Seeds: Ecology, biogeography, and, evolution of dormancy and germination. In *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination* (2nd ed.). Elsevier Inc.

Chahota, R. K., Sharma, V., Ghani, M., Sharma, T. R., Rana, J. C., & Sharma, S. K. (2017). Genetic and phytochemical diversity analysis in *Bunium persicum* populations of north-western Himalaya. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, *23*(2), 429-441. https://doi.org/10.1007/s12298-017-0428-9

Degtjareva, G. V., Kljuykov, E. V., Samigullin, T. H., Valiejo-Roman, C. M., & Pimenov, M. G. (2009). Molecular appraisal of *Bunium* and some related arid and subarid geophilic Apiaceae-Apioideae taxa of the Ancient Mediterranean. *Botanical Journal of the Linnean Society*, *160*(2), 149-170. https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2009.00970.x

Degtjareva, G. V., Kljuykov, E. V., Samigullin, T. H., Valiejo-Roman, C. M., & Pimenov, M. G. (2013). ITS phylogeny of Middle Asian geophilic Umbelliferae-Apioideae genera with comments on their morphology and utility of psbA-trnH sequences. *Plant Systematics and Evolution*, *299*(5), 985-1010. https://doi.org/10.1007/s00606-013-0779-9

Emamipoor, Y., & Maziah, M. (2014). An efficient method in breaking of dormancy from *Bunium persicum* (Boiss) Fedtsch seeds: a valuable herb of Middle East and Central Asia. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, *4*(8), 642-649. https://doi.org/10.12980/APJTB.4.2014APJTB-2014-0042

Khan, M. H., Dar, N. A., Alie, B. A., Mir, G. H., Fayaz, U., Khan, A., Bashir, B., Ahmad, A., Mansoor, S., Chung, Y. S., & Heo, S. (2023). Plant growth hormones and micro-tuberization in breaking the seed dormancy of *Bunium persicum* (Boiss.) Fedts. *Plants*, *12*(17), 3163. https://doi.org/10.3390/plants12173163

Kljuykov, E. V., Petrova, S. E., Degtjareva, G. V., Zakharova, E. A., Samigullin, T. H., & Tilney, P. M. (2020). A taxonomic survey of monocotylar Apiaceae and the implications of their

morphological diversity for their systematics and evolution. *Botanical Journal of the Linnean Society*, *192*(3), 449-473. https://doi.org/10.1093/botlinnean/boz095

Mandegary, A., Arab-Nozari, M., Ramiar, H., & Sharififar, F. (2012). Anticonvulsant activity of the essential oil and methanolic extract of *Bunium persicum* (Boiss). B. Fedtsch. *Journal of Ethnopharmacology*, *140*(2), 447-451. https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.01.024

Mardani, H., Ziaratnia, S. M., Azizi, M., Aung, H. P., Appiah, K. S., & Fujii, Y. (2015). *In vitro* microtuberization of Black Zira (*Bunium persicum* Boiss.). *African Journal of Biotechnology*, *14*(25), 2080-2087. https://doi.org/10.5897/AJB2015.14427

Miraj, S. (2016). A systematic review on the *Heracleum persicum* effect and efficacy profiles. *Der Pharma Chemica*, *8*(14), 140-142.

Mozaffarian, V. (2007). Iranian Flora, Apiaceae. In: Vol. 54. In *Investigations institute of country forests and Rangelands*, Tehran. (In Persian).

Nelson, S. K., Ariizumi, T., & Steber, C. M. (2017). Biology in the dry seed: Transcriptome changes associated with dry seed dormancy and dormancy loss in the *Arabidopsis* GA-insensitive *sleepy*1-2 mutant. *Frontiers in Plant Science*, *8*(2158), 317146. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02158

Rahimi, R., Shams-Ardekani, M. R., & Abdollahi, M. (2010). A review of the efficacy of traditional Iranian medicine for inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology*, *16*(36), 4504. https://doi.org/10.3748/wjg.v16.i36.4504

Salehi, P., Mohammadi, F., & Asghari, B. (2008). Seed essential oil analysis of *Bunium persicum* by hydrodistillation-headspace solvent microextraction. *Chemistry of Natural Compounds*, *44*(1), 111-113. https://doi.org/10.1007/s10600-008-0033-9

Sharififar, F., Yassa, N., & Mozaffarian, V. (2010). Bioactivity of major components from the seeds of *Bunium persicum* [boiss.] fedtch. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, *23*(3), 300-304.

Singh, S., & Kumar, V. (2021). Biology, genetic improvement and agronomy of *Bunium persicum* (Boiss.) Fedtsch.: A comprehensive review. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, *22*, 100304. https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2021.100304

Stokes, P. (1953). A Physiological Study of Embryo Development in *Heracleum sphondylium* L. *Annals of Botany*, *17*(1), 157-174. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a083338

Talezade, M., Nezami, A., Parsa, M., Afshari, R. T., & Nabati, J. (2019). Optimization of culture media for seedling establishment of *Bunium persicum* (Boiss.) B. Fedtsch. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, *35*(4), 551-564. (In Persian).

Thakur, S., & Dutt, H. C. (2019). *Bunium persicum* (Boiss.) Fedtsch. Distribution, Botany and Agrotechnology. In *Plants of Commercial Values*. *Plants of Commercial Values*, 89-95.

Zhang, K., Zhang, Y., Walck, J. L., & Tao, J. (2019). Non-deep simple morphophysiological dormancy in seeds of *Angelica keiskei* (Apiaceae). *Scientia Horticulturae*, *255*, 202-208. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.05.039