

مطالعه شکست خواب بذر کرفس کوهی (*Kelussia odoratissima*) تحت تاثیر تیماهای اسید جیبرلیک و سرما

روزبه فرهودی^{1*} و مریم مکی زاده تفتی²

- 1- گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران
2- بخش گیاهان دارویی - موسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع ایران، تهران، ایران

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی تیمارهای شکست خواب بذر کرفس کوهی (*Kelussia odoratissima*) در قالب طرح کاملاً تصادفی در پنج تکرار در سال 1391 در موسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع ایران انجام شد. تیمارهای آزمایش عبارت بودند از سرمادهی (دمای 4 درجه سانتیگراد بالای صفر به مدت 4، 6، 8 و 10 هفته)، اسید جیبرلیک (محلول 250، 500 و 1000 پی پی ام) و ترکیب تیمارهای سرما و اسید جیبرلیک (محلول 500 پی پی ام اسید جیبرلیک توام با دمای 4 درجه سانتیگراد بالای صفر به مدت 4، 6، 8 و 10 هفته). نتایج نشان داد جوانه زنی و رشد گیاهچه کرفس کوهی تحت تاثیر تیمارهای شکست خواب بذر قرار گرفت ($p < 0.01$). بیشترین درصد جوانه زنی تحت تاثیر تیمارهای 8 و 10 هفته سرمادهی توام با محلول 500 پی پی ام اسید جیبرلیک (% 86 و % 88) مشاهده شد. همچنین نتایج نشان داد بیشترین طول ساقه چه و ریشه چه کرفس کوهی پس از 40 روز نیز تحت تاثیر این دو تیمار به دست آمد. بیشترین فعالیت آنزیم آلfa آمیلاز بذر کرفس کوهی تحت تاثیر تیمارهای تحت تاثیر تیمارهای 8 و 10 هفته سرمادهی توام با محلول 500 پی پی ام اسید جیبرلیک (به ترتیب 14/2 نانومول بر بذر بر دقیقه و 13/8 نانومول بر بذر بر دقیقه) مشاهده شد. تیمارهای 8 و 10 هفته سرمادهی توام با محلول 500 پی پی ام اسید جیبرلیک بهترین تیمار جهت تحریک جوانه زنی و رشد اولیه گیاهچه کرفس کوهی در این آزمایش بود.

کلمات کلیدی: آلfa آمیلاز، خواب بذر، درصد جوانه زنی، شاخص بنیه بذر.

مقدمه

وسیعی از استان کردستان تا استان فارس با بارندگی بیش از 400 میلی متر که عمدتاً به صورت برف است می روید. (Omidbaigi et al., 2008; Salimi et al., 2010). بذر کرفس مانند بذر بسیاری از گیاهان خانواده چتریان دارای خواب است و جوانه زنی آن به سختی انجام می شود. در واقع بذرهای گیاهان خانواده چتریان اشکال مختلفی از الگوی خواب

گیاه کرفس کوهی با نام علمی (*Kelussia odoratissima*) از خانواده چتریان از گونه های شناخته شده دارویی و علفوفه ای بومی مراتع ایران بوده که تاکنون وجود آن در سایر مناطق جهان گزارش نشده است. این گیاه در مناطق مرتفع زاگرس (2500 متر بالاتر از سطح دریا) در گستره

* نویسنده مسئول: روزبه فرهودی، نشانی: کرج - منطقه پستی ناحیه 5 - صندوق پستی 315851114

E-mail: rfarhoudi@gmail.com

تاریخ دریافت: 93/5/21

تاریخ تصویب: 93/6/26

نمودند اسید جیبرلیک عاملی کلیدی در فعال شدن آنزیم آلفا آمیلاز و آغاز فرایند جوانه زنی در بذر گیاهان مختلف از جمله برنج است. ایشان مشاهده نمودند افزودن اسید جیبرلیک به محیط رشد بذر برنج سبب افزایش رونویسی از ژن های دخیل در سنتز آلفا آمیلاز و تحریک جوانه زنی بذر شد. مطالعه شکست خواب بذر کرفس نشان داد که کاربرد تیمار سرما سبب تحریک جوانه زنی بذر این گیاه شد زیرا سرمادهی سبب تحریک سنتز اسید جیبرلیک می شود. اسید جیبرلیک سبب افزایش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز، تحریک مصرف ذخایر غذایی آندوسپرم و کاهش مقاومت مکانیکی سلول های آندوسپرم می شود (Schimz et al., 2001). لازم است با توجه به اهمیت گیاه کرفس کوهی در مراتع ایران و جهت حفظ و تکثیر ذخایر ژنتیکی این گیاه و زمینه سازی جهت پرورش آن در محیط مصنوعی چگونگی غلبه بر خواب این بذر مورد توجه قرار گیرد. لذا این تحقیق به منظور بررسی روش های پیش تیمار کردن بذر کرفس کوهی و انتخاب بهترین پیش تیمار برای شکستن خواب بذر و آغاز جوانه زنی و رشد گیاهچه کرفس کوهی در آزمایشگاه انجام شد.

مواد و روش ها

این تحقیق در قالب طرح کاملا تصادفی در پنج تکرار و 12 تیمار در سال 1391 در بخش گیاهان دارویی و محصولات فرعی سازمان جنگل ها و مراتع انجام شد. بذر گیاه کرفس کوهی (*Kelussia odoratissima*) در شهریور ماه 1391 از ارتفاعات شهرستان کوهرننگ با ارتفاع 2350 متر از سطح دریا از توابع استان چهارمحال و بختیاری جمع آوری و تا شروع زمان آزمایش در پاکت های پلاستیکی در دمای 20 درجه سانتی گراد نگهداری شدند. بر اساس

فیزیولوژیکی را از خود نشان می دهند و تیمارهای سرمادهی و اسید جیبرلیک تا حد زیادی می تواند به رفع این نوع خواب ها کمک کند (etemadi et al., 2010; Rajabian et al., 2007; Schimz et al., 2001). خواب بذر یک مکانیسم کلیدی جهت بقای گیاهان در شرایط نامساعد محیطی می باشد. عوامل گوناگونی نظیر ضخامت پوسته بذر، عدم تعادل غلظت درونی هورمون های بذر و عدم تکامل ساختار جنین از عوامل ایجاد کننده خواب بذر می باشد (Copeland and McDonald, 2001). تحقیقات نشان داده که خیساندن بذر در محلول اسید جیبرلیک یا سرما دهی بذر نقش به سزایی در شکست خواب ناشی از عوامل درونی دارد (Baskin et al., 1992). رجبیان و همکاران (Rajabian et al., 2007) مشاهده نمودند کاربرد اسید جیبرلیک و سرمادهی سبب تحریک جوانه زنی بذر آنغوزه (*Ferula assa-foetida*) شد. مک کی و همکاران (kay et al., 2001) نیز با بررسی روش های شکست خواب بذر گیاه *Lupinus arboreus* مشاهده نمودند که تیمار سرمادهی نقش به سزایی در افزایش جوانه زنی این بذر دارد زیرا سرمادهی علاوه بر افزایش نفوذپذیری پوسته بذر سبب تحریک تولید اسید جیبرلیک توسط جنین نیز می شود. گارسیا و همکاران (García-Prunus et al., 2004) نیز افزایش جوانه زنی *dulcis* تحت تاثیر تیمار سرمادهی را گزارش نمودند. نتایج این تحقیق نشان داد سرمادهی غلظت درونی اسید جیبرلیک بذر *Prunus dulcis* را افزایش داد و سبب تحریک رشد جنین شد.

آنزیم آلفا آمیلاز از آنزیم های حیاتی در متابولیسم کربوهیدرات ها در فرایند جوانه زنی بذر است که فعالیت آن تحت تاثیر عوامل محیطی قرار می گیرد. کانیکا و همکاران (Kaneka et al., 2002) بیان

4- شاهد: در این تیمار، هیچگونه بیماری بر روی بذرها انجام نشد و بذرهای شاهد به همراه سایر بذرها به دستگاه جوانه زنی منتقل شدند.

بعد از اعمال تیمارهای شکست خواب بذر، بذور تیمار شده در پتری دیش های شیشه ای با قطر 10 سانتی متر و ارتفاع دو سانتی متر روی یک لایه کاغذ صافی واتمن شماره 1 قرار گرفتند و به دستگاه جوانه زنی مدل W.Jackson 618 با شرایط 24 ساعت تاریکی، رطوبت 70٪ و تناوب دمایی 15/25 درجه سانتیگراد در شبانه روز منتقل شدند. در هر پتری دیش 35 عدد بذر قرار گرفت و هفت میلی لیتر آب مقطر به محیط کشت اضافه شد. 10 عدد از این بذور که در سمت راست پتری دیش قرار داشتند برای بررسی فعالیت آنزیم آلfa آمیلاز و 25 بذر دیگر برای محاسبات جوانه زنی استفاده شد. مدت زمان آزمایش 40 روز بود و در پایان آزمایش صفات درصد جوانه زنی، میانگین زمان جوانه زنی، طول ریشه چه و ساقه چه، فعالیت آنزیم آلfa آمیلاز، شاخص بنیه بذر و زمان لازم برای 50٪ جوانه زنی بررسی شد. میانگین زمان جوانه زنی و درصد جوانه زنی بر اساس رابطه های زیر بررسی شد (Scott et al., 1984):

رابطه (1) - درصد جوانه زنی

$$GP = (N_g / N_t) \times 100$$

N_g : تعداد بذور جوانه زده تا روز i ام، N_t : تعداد کل بذر

رابطه (2) - میانگین زمان جوانه زنی

$$MGT = \frac{\sum f_i x_i}{N}$$

f_i : روز شمارش

x_i : تعداد بذر جوانه زده در روز i

N : کل بذرهای جوانه زده

شاخص بنیه بذر بر اساس رابطه زیر محاسبه شد

(Abdul-Baki and Anderson, 1970)

میانگین آمار هواشناسی 25 ساله منتهی به سال 1391 میانگین حداقل دمای روزانه، میانگین حداکثر دمای روزانه و میانگین بارش سالیانه به ترتیب 2/5 درجه سانتیگراد بالای صفر، 16/5 درجه سانتیگراد بالای صفر و 1386/6 میلیمتر می باشد (آمار هواشناسی ایستگاه سینوپتیک کوه رنگ، 1392)

تیمارهای شکست خواب بذر عبارت بودند از:

1- سرمادهی: در این تیمار بذرها به مدت 12 ساعت در 500 میلی لیتر آب مقطر در دمای اتاق خیسانده شدند و سپس در ظروف پلاستیکی بین دو لایه ماسه مرطوب به ضخامت هر لایه 5 سانتی متر قرار گرفته و به دمای 4 درجه سانتیگراد بالای صفر به مدت 4، 6، 8 و 10 هفته منتقل شدند. برای ایجاد دمای 4 درجه سانتیگراد بالای صفر، بذرها در دستگاه جوانه زنی مدل W.Jackson 618 با رطوبت 60 درصد و تاریکی کامل قرار گرفتند.

2- اسید جیبرلیک: در این تیمار بذر ها به مدت 12 ساعت در 500 میلی لیتر محلول 250، 500 و 1000 پی پی ام اسید جیبرلیک در دمای اتاق خیسانده شدند و بعد از این مدت به پتری دیش منتقل شدند. اسید جیبرلیک به کار رفته در این تحقیق از شرکت مرک (آلمان) تهیه شد و برای استحصال محلول های ذکر شده به ترتیب 125، 250 و 500 میلی گرم اسید جیبرلیک در نیم لیتر آب مقطر در دمای اتاق حل شد.

3- ترکیب تیمارهای سرما و اسید جیبرلیک: در این تیمار بذرها به مدت 12 ساعت در محلول 500 پی پی ام اسید جیبرلیک در دمای اتاق خیسانده شده و سپس جهت سرمادهی به ظروف پلاستیکی بین دو لایه ماسه مرطوب به ضخامت هر لایه 5 سانتی متر قرار گرفته و به دمای 4 درجه سانتیگراد بالای صفر به مدت 4، 6، 8 و 10 هفته منتقل شدند.

رابطه (3)

$$SVI = (GP \times SH) / 100$$

SVI: شاخص بنيه بذر

GP: درصد جوانه زنی

SH: طول گیاهچه (مجموع طول ساقچه و ریشه چه)

یک بذر وقتی جوانه زده محسوب می شد که ریشه چه قابل تشخیص بود. طول ریشه چه و طول ساقه چه بر حسب میلی متر اندازه گیری شد. به این منظور خمیدگی گیاهچه باز و طول ریشه چه و طول ساقه چه از انتها تا محل اتصال به بذر اندازه گیری شد.

ده روز پس از قرار دادن بذرها در پتری دیش، از یک گرم بافت بذری جهت اندازه گیری فعالیت آلفا آمیلاز استفاده شد. برای تهیه عصاره بافت بذر ابتدا پنج میلی لیتر محلول 60 میلی مولار بافر فسفات (pH) 6.8 به نمونه بذر اضافه شد و سپس این مخلوط به مدت 15 دقیقه سانترفیوژ شدند (با دور 12000 دور در دقیقه). جهت اندازه گیری آنزیم α -آمیلاز ابتدا 0/5 میلی لیتر محلول نشاسته به داخل لوله آزمایش منتقل شد سپس 0/5 میلی لیتر از عصاره تهیه شده در بالا به آن اضافه شده و بعد از 30 دقیقه انکوباسیون در 37 درجه سانتی گراد بوسیله 1 میلی لیتر اسید هیدروکلریدریک 0/1 نرمال واکنش را متوقف کرده و در ادامه یک میلی لیتر از معرف ید به آن اضافه

شد. پس از آن حجم محتوی لوله را با آب مقطر به حدود 10 میلی لیتر رسانده و میزان جذب رنگ را با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج 620 نانومتر خوانده و با نمونه شاهد مقایسه شد (Xiao et al., 2006).

محاسبات آماری داده های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم افزار آماری MSTATC انجام شد و برای مقایسه میانگین ها از آزمون چند دامنه ای دانکن استفاده شد.

نتایج و بحث

درصد جوانه زنی و فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز

نتایج تجزیه واریانس نشان داد تاثیر تیمارهای شکست خواب بذر بر درصد جوانه زنی و فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز بذر کرفس کوهی در سطح یک درصد آماری معنی دار بود (جدول 1). بیشترین درصد جوانه زنی بذر کرفس کوهی تحت تاثیر تیمارهای 8 و 10 هفته سرمادهی توام با محلول 500 پی پی ام اسید جیبرلیک به ترتیب به میزان 86% و 88% به دست آمد در حالیکه کاربرد غلظت های 250، 500 پی پی ام اسید جیبرلیک به تنهایی تاثیری بر جوانه زنی بذر کرفس کوهی در مقایسه با شاهد (7%) نداشت.

جدول 1- تجزیه واریانس تاثیر تیمارهای شکست خواب بذر بر جوانه زنی و رشد گیاهچه کرفس کوهی

Table 1. Analysis of variance of the effect of dormancy breaking on *Kelussia odoratissima* seed germination and seedling growth

	Df	Germination percentage	α -amylase activity	Mean germination time	50% germination	Radicle length	Shoot length	Vigor index
treatment	11	3518.8**	281.4**	2568.5**	9302.0**	1845.7**	1281.1**	21144.3**
error	48	212.5	15.2	349.3	291.8	161.0	105.9	2184.8
CV%		9.4	5.1	8.5	6.7	10.2	7.3	8.4

** : Significant at the 0.01 level of probability

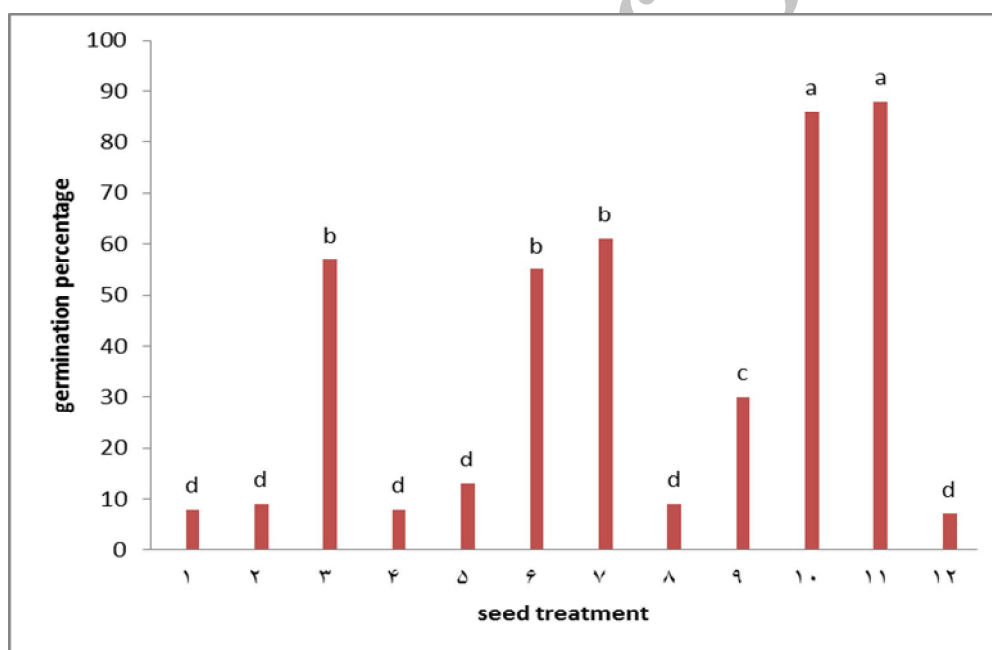
** : معنی دار در سطح یک درصد آماری

سرمادهی سبب افزایش معنی دار درصد جوانه بذر کرفس در مقایسه با شاهد شدند (به ترتیب 55% و 61%) که این میزان به طور معنی داری کمتر از هنگامی بود که تیمار سرما و اسید جیبرلیک توام با یکدیگر به کار رفتند (شکل

کاربرد 1000 پی پی ام اسید جیبرلیک سبب تحریک جوانه زنی بذر و افزایش درصد جوانه زنی بذر کرفس کوهی به بیش از 50% در مقایسه با تیمار شاهد شد (شکل 1). در میان تیمارهای سرمادهی بذر تنها 8 و 10 هفته

تحریک جوانه زنی و افزایش درصد بذرهای جوانه زده *Ferula assa-foetida* شد (Rajabian et al., 2007). بیشترین فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در بذر کرفس کوهی تحت تاثیر تیمارهای 8 هفته سرمادهی توام با کاربرد 500 پی پی ام اسید جیبرلیک (14/2) نانومول بر بذر بر دقیقه، 10 هفته سرمادهی توام با کاربرد محلول 500 پی پی ام اسید جیبرلیک (13/8) نانومول بر بذر بر دقیقه و 6 هفته سرمادهی توام با کاربرد محلول 500 پی پی ام اسید جیبرلیک (11/6) نانومول بر بذر بر دقیقه به دست آمد (شکل 2).

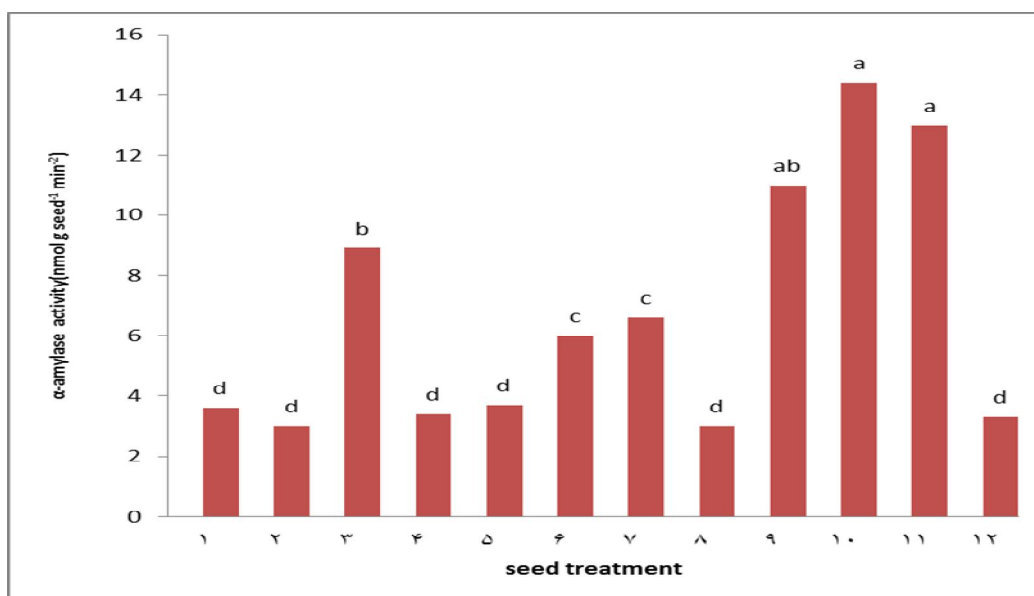
1. تحقیقات نشان داد سرمادهی بذر کرفس کوهی به مدت 45 روز در دمای 4 درجه سانتی گراد در مقایسه با کاربرد اسید جیبرلیک یا شستشوی بذر با آب روان سبب افزایش جوانه زنی بذر شد (Etemadi et al., 2010). ترکیب تیمار سرما و اسید جیبرلیک سبب تحریک بیشتر جوانه زنی بذر *Pedicularis olympica* در مقایسه با کاربرد سرما یا اسید جیبرلیک به تنهایی شد زیرا ترکیب شدن سرما بر شکاف پوسته بذر و فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و اسید جیبرلیک بر فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز تاثیر دارد (Kirmizi et al., 2010). ترکیب تیمارهای سرمادهی و محلول اسید جیبرلیک سبب



شکل 1- تاثیر تیمارهای شکست خواب بذر بر درصد جوانه زنی بذر کرفس کوهی

1: غلظت 250 پی پی ام اسید جیبرلیک، 2: غلظت 500 پی پی ام اسید جیبرلیک، 3: غلظت 1000 پی پی ام اسید جیبرلیک، 4: هفته سرمادهی، 5: 6 هفته سرمادهی، 6: 7 هفته سرمادهی، 7: 8 هفته سرمادهی، 8: 10 هفته سرمادهی، 9: 4 هفته سرمادهی + اسید جیبرلیک 500 پی پی ام، 10: 6 هفته سرمادهی + اسید جیبرلیک 500 پی پی ام، 11: 6 هفته سرمادهی + اسید جیبرلیک 500 پی پی ام، 12: شاهد

Figure 1- Effect of seed dormancy bracking on *Kelussia odoratissima* seed germination percentage
1: GA 250 ppm; 2: GA 500 ppm; 3: GA 1000 ppm; 4: Stratification 4 week; 5: Stratification 6 week; 6: GA 500ppm; 9: Stratification 6 +Stratification 8 week; 7: Stratification 10 week, 8: Stratification 4 week GA 500ppm; 12: +GA 500ppm; 11: Stratification 10 week+GA 500ppm; 10: Stratification 8 week+week control



شکل 2- تاثیر تیمارهای شکست خواب بذر بر فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز بذر کرفس کوهی

1: غلظت 250 پی پی ام اسید جیبرلیک، 2: غلظت 500 پی پی ام اسید جیبرلیک، 3: غلظت 1000 پی پی ام اسید جیبرلیک، 4: هفته سرمادهی، 5: 6 هفته سرمادهی، 6: 7 هفته سرمادهی، 7: 8 هفته سرمادهی، 8: 10 هفته سرمادهی، 9: 4 هفته سرمادهی + اسید جیبرلیک 500 پی پی ام، 10: 6 هفته سرمادهی + اسید جیبرلیک 500 پی پی ام، 11: 6 هفته سرمادهی + اسید جیبرلیک 500 پی پی ام، 12: شاهد

Figure 2- Effect of seed dormancy bracking on *Kelussia odoratissima* α-amylase activity

1: GA 250 ppm; 2: GA 500 ppm; 3: GA 1000 ppm; 4: Stratification 4 week; 5: Stratification 6 week; 6: GA 500ppm; 9: Stratification 6 +Stratification 8 week; 7: Stratification 10 week, 8: Stratification 4 week GA 500ppm; 12: +GA 500ppm; 11: Stratification 10 week+GA 500ppm; 10: Stratification 8 week+week control

آمیلاز در بذر برنج و جوانه زنی سریعتر این گیاه شد. ایشان در این تحقیق افزایش رونویسی از دو ژن دخیل در فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز که وابسته به غلظت اسید جیبرلیک بود را مشاهده نمودند. نتایج تحقیق حاضر نیز نشان داد تیمار سرما به مدت 8 و 10 هفته یا کاربرد 500 پی پی ام اسید جیبرلیک سبب تحریک جوانه زنی بذر کرفس کوهی شد اما تلفیق سرمادهی به مدت طولانی و اسید جیبرلیک بیشترین نقش را در تحریک جوانه زنی بذر کرفس کوهی داشت.

میانگین زمان جوانه زنی و زمان لازم برای 50٪ زمان جوانه زنی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد تاثیر تیمارهای شکست خواب بذر بر میانگین زمان جوانه زنی و زمان لازم برای 50٪ زمان جوانه زنی بذر کرفس

تنها تیمار کاربرد اسید جیبرلیک به میزان 1000 پی پی ام سبب تحریک فعالیت آلفا آمیلاز بذر کرفس کوهی (8/9 نانومول بر بذر بر دقیقه) در مقایسه با سایر سطوح اسید جیبرلیک شد. تیمارهای سرمادهی به مدت 8 و 10 هفته نیز سبب افزایش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز به 6 نانومول بر بذر بر دقیقه و 6/6 نانومول بر بذر بر دقیقه در مقایسه با شاهد شد (شکل 2). تحقیقات نشان داد سرمادهی پیازچه های سنبل (*Hyacinthus orientalis*) سبب افزایش غلظت اسید جیبرلیک درونی، افزایش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و افزایش بیان ژن های دخیل در ساخت این آنزیم شد (Sato and Okubo *et al.*, 2006). کانیکا و همکاران (Kaneka *et al.*, 2002) گزارش نمودند اسید جیبرلیک سبب تحریک فعالیت آنزیم آلفا

جیبرلیک (به ترتیب 12/2 روز و 10 روز) مشاهده شد (جدول 2). کاربرد توام اسید جیبرلیک و سرمادهی (مدت زمان بین 8 و 10 هفته) سبب تسریع در جوانه زنی و ظهور گیاهچه کرفس کوهی شد که بیانگر سودمند بودن این تیمار جهت شکست خواب بذر کرفس کوهی می باشد (جدول 2). دلایل متعددی پیرامون دلایل تاثیر مثبت سرمادهی بر تحریک جوانه زنی بذر گیاهان ذکر شده است که از این میان می توان به تحریک رشد جنین (*Rajabian et al., 2007*)، تحریک تولید اسید جیبرلیک در بذر و نفوذپذیر شدن سلول های بذر به اسید جیبرلیک (*Fang et al., 2006*) اشاره کرد. تحقیقات نشان داده کاهش غلظت آبسزیک اسید درونی بذر کرفس تحت تاثیر سرما و کاربرد اسید جیبرلیک موجب تحریک جوانه زنی بذر شد (*Schimizit et al., 2001*).

کوهی در سطح یک درصد آماری معنی دار بود (جدول 1). کمترین میانگین زمان جوانه زنی در بذرهایی دیده شد که تحت تاثیر تیمار 8 و 10 هفته سرمادهی توام با کاربرد محلول 500 پی پی ام اسید جیبرلیک قرار داشتند (به ترتیب 10/1 روز و 7/2 روز). پس از این تیمارها، تیمار 10 هفته سرمادهی (14/3 روز)، 1000 پی پی ام اسید جیبرلیک (16 روز)، 4 هفته سرمادهی توام با کاربرد 500 پی پی ام اسید جیبرلیک (16 روز) و 6 هفته سرمادهی توام با 500 پی پی ام اسید جیبرلیک (15/2 روز) قرار داشت که موجب کاهش معنی دار میانگین زمان جوانه زنی بذر کرفس کوهی در مقایسه با شاهد شد (28 روز) شد. در همین حال نتایج نشان داد کمترین فاصله تا جوانه زنی 50٪ بذرها تحت تاثیر تیمارهای 8 و 10 هفته سرمادهی توام با محلول 500 پی پی ام اسید

جدول 2- تاثیر تیمارهای شکست خواب بذر بر جوانه زنی و رشد گیاهچه کرفس کوهی

Table 2- Effect of seed dormancy breaking treatment on *Kelussia odoratissima* seed germination and seedling growth

Seed treatments	Mean germination time (day)	50% germination (day)	Radicle length (mm)	Shoot length (mm)	Vigor index
GA 250 ppm	23.1 d	33.4 c	8 d	6 c	1.12 e
GA 500 ppm	22.7 d	35.0 c	9 d	5 c	1.26 e
GA 1000 ppm	16.0 b	24.0 b	11 d	7 c	10.26 c
Stratification 4 week	27.9 e	34.9 c	9 d	5 c	1.12 e
Stratification 6 week	25.3 de	36.0 c	9 d	6 c	1.95 e
Stratification 8 week	18.1 c	23.2 b	10 d	9 bc	10.45 c
Stratification 10 week	14.3 b	22.3 b	21 b	14 b	21.35 b
Stratification 4 week+ GA 500ppm	16.0 b	25.1 b	10 d	6 c	1.53 e
Stratification 4 week+ GA 500ppm	15.2 b	26.0 b	11 d	6 c	5.10 d
Stratification 8 week+ GA 500ppm	10.1 a	12.2 a	35 a	22 a	49.02 a
Stratification 10 week+ GA 500ppm	7.2 a	10.0 a	34 a	24 a	51.04 a
Control	28.0 e	34.0 c	8 d	5 c	0.91 e

میانگین هایی، در هر ستون که دارای حروف مشابه هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال 1% اختلاف معنی داری ندارند.

Means followed by the same letter(s) are not significantly different at $P = 0.01$ according to Duncan's test

شاخص بذر در مقایسه با شاهد در تیمارهای 8 و 10 هفته سرمادهی توام با کاربرد 500 پی پی ام اسید جیبرلیک به میزان 49/02 و 51/04 مشاهده شد در حالیکه شاخص بذر در بذور تیمار نشده 0/91 بود. شاخص بذر گیاهچه تحت تاثیر 10 هفته

شاخص بذر، طول ریشه چه و طول ساقه چه نتایج تجزیه واریانس نشان داد تاثیر تیمارهای شکست خواب بذر بر شاخص بذر، طول ریشه چه و طول ساقه چه کرفس کوهی در سطح یک درصد آماری معنی دار بود (جدول 1). بیشترین

این تحقیق ناشی از این موضوع است. مطالعات نشان داده سرمادهی بذر گیاهان خانواده چتریان موجب شکست خواب بذر این گیاهان می شود زیرا سرمادهی به ویژه هنگامی که با کاربرد اسید جیبرلیک توام باشد احتمالا با تاثیر گذاری بر رشد جنین و غلظت اسید جیبرلیک درونی بذر سبب تحریک رشد گیاهچه می شود (Rajabian et al., 2001; Schimz et al., 2007) که با نتایج آزمایش حاضر همخوانی دارد. ترکیب تیمار سرما و اسید جیبرلیک سبب تحریک رشد گیاهچه *Pedicularis olympica* شد. توام شدن سرمادهی و کاربرد اسید جیبرلیک سبب افزایش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و نفوذپذیر شدن پوسته بذر و در نتیجه شکست خواب بذر و تحریک رشد گیاهچه *Pedicularis olympica* گردید (Kirmizi et al., 2010). سرمادهی بذر آراییدوبسیس سبب افزایش رونویسی از ژن های دخیل در فعالیت اسید جیبرلیک شد و این نشان دهنده نقش سرما در شکست خواب بذر گیاهانی است که غلظت درونی اسید جیبرلیک در بذر آنها برای آغاز فرایند جوانه زنی کم است (Yamauchi et al., 2004).

نتیجه گیری

به طور کلی نتایج آزمایش حاضر نشان داد بذر کرفس کوهی مانند اکثر گیاهان خانواده چتریان به سختی جوانه می زند بطوریکه در شرایط معمول بعد از 40 روز تنها حدود 7٪ بذرها جوانه زدند. تیمار سرمادهی به مدت 8 و 10 هفته یا کاربرد اسید جیبرلیک به میزان 1000 پی پی ام هرچند موجب تحریک جوانه زنی بذر در مقایسه با شاهد شد اما بنیه بذر و رشد گیاهچه در این تیمارها نسبت به کاربرد توام اسید جیبرلیک و مدت طولانی سرمادهی کمتر

سرمادهی (21/35) بیش از سایر تیمارهای سرمادهی و تیمارهای کاربرد اسید جیبرلیک به تنهایی بود. بیشترین طول ریشه چه گیاهچه کرفس کوهی تحت تاثیر تیمار 8 و 10 هفته سرمادهی توام با محلول 500 پی پی ام اسید جیبرلیک (به ترتیب 35 میلی متر و 34 میلی متر) به دست آمد (جدول 2). بعد از این تیمارها، 10 هفته سرمادهی سبب افزایش معنی دار طول ریشه چه در مقایسه با شاهد و سایر تیمارهای شکست خواب بذر شد (21 میلی متر). سایر تیمارهای شکست خواب بذر تاثیر معنی داری بر طول ریشه چه کرفس کوهی در مقایسه با شاهد نداشتند. تاثیر تیمارهای آزمایش بر طول ساقه چه کرفس کوهی نشان داد بیشترین طول ساقه چه تحت تاثیر تیمار 10 هفته سرمادهی توام با محلول 500 پی پی ام اسید جیبرلیک (24 میلی متر) و تیمار 8 هفته سرمادهی توام با محلول 500 پی پی ام اسید جیبرلیک (22 میلی متر) به دست آمد. نتایج آزمایش حاضر نشان داد علاوه بر جوانه زنی رشد اولیه گیاهچه نیز باید توجه قرار گیرد. عدم پاسخ مناسب رشد ریشه چه و ساقه چه کرفس وحشی به کاربرد اسید جیبرلیک به تنهایی (حتی در غلظت 1000 پی پی ام)، بیانگر عدم کارایی این هورمون در تحریک رشد گیاهچه کرفس کوهی علی رغم تحریک جوانه زنی است در حالیکه 10 هفته سرمادهی به تنهایی سبب تحریک رشد گیاهچه کرفس کوهی (افزایش طول ریشه چه و ساقه چه به میزان 21 و 14 میلی متر) در مقایسه با شاهد شد. سرمادهی بذر خانواده چتریان علاوه بر اینکه سبب تحریک تولید اسید جیبرلیک در این بذور می گردد (Nadjafi et al., 2006). احتمالا اثر بخشی سرمای 10 هفته در مقایسه با کاربرد اسید جیبرلیک 1000 پی پی ام در

رشد گیاهچه کرفس کوهی بود زیرا بیشترین درصد جوانه زنی، شاخص بنیه بذر، فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و رشد گیاهچه کرفس کوهی تحت تاثیر این دو تیمار مشاهده شد.

بود و این نشان می دهد علاوه بر درصد جوانه زنی، رشد اولیه گیاهچه نیز در مطالعات شکست خواب بذر باید مورد توجه قرار گیرد. تیمار 8 و 10 هفته سرمادهی توام با کاربرد محلول 500 پی پی ام اسید جیبرلیک بهترین تیمار جهت تحریک جوانه زنی و

REFERENCES

منابع

آمار نامه هواشناسی ایستگاه سینوپتیک کوهرنگ، 1392، قابل دسترسی در آدرس الکترونیکی :

- <http://www.chaharmahalmet.ir/dataarchive.asp>
- Abdul-Baki, A. A. and J. D. Anderson. 1970.** Viability and leaching of sugars from germinating barley. *Crop Science*. 10: 31-34.
- Baskin, C.C., J.M. Baskin, and G.R. Hoffman.1992.** Seed dormancy in the prairie forb *Echinacea angustifolia* (Asteraceae): afterripening pattern during cold stratification. *International Journal of Plant Science*. 153(2): 239-243.
- Copeland L.O and M.B. McDonald. 2001.** Principles of Seed Science and Technology. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Etemadi, N. M. Haghghi, A. Nikbakht and Z. Zamani. 2010.** Methods to promote germination of *Kelussia odoratissima* Mozaff., an Iranian endemic medicinal plant. *Herba polonica*, 56 (2):21-28.
- Fangs., J. Wang, Z.Wei and Z. Zhu. 2006.** Methods to break seed dormancy in *Cyclocarya paliurus* (Batal) Iljinskaja, *Scientia Horticulture*. 110: 305-309.
- García-Gusano, M., P. Martínez-Goómez and F. Dicenta. 2004.** Breaking seed dormancy in almond (*Prunus dulcis*). *Scientia Horticulture*. 99: 363-370.
- Kaneko, M., H. Itoh, M. Ueguchi-Tanaka, M. Ashikari and M. Matsuoka. 2002.** The α -Amylase Induction in Endosperm during Rice Seed Germination Is Caused by Gibberellin Synthesized in Epithelium. *Plant Physiology*, 128(4): 1264-1270.
- Kirmizi, S., G. Guleruz and H. Arsalan. 2010.** Effects of moist chilling, gibberellic acid, and scarification on seed dormancy in the rare endemic *Pedicularis olympica*. *Turkish Journal of Botany*. 34:235-242.
- Mackay, W.A., T.D. Davis and D. Sankhala. 2001.** Influence of scarification and temperature on seed germination of *Lupinus arboreus*. *Seed Science and Technology*. 29:543-548.
- Nadiafi, F., M. Bannayan, L. Tabrizi, and M. Rastgoo. 2006.** Seed germination and dormancy breaking techniques for *Ferula gummosa* and *Teucrium polium*. *Journal of Arid Environments*. 64: 542-547.
- Omidbaigi, R., F. Sefidkon and K. Saeedi. 2008.** Essential oil content and composition of *Kelussia odoratissima* Mozaff. as an Iranian endemic plant. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 11:594-7.
- Rajabian, T., A. Saboori, B. Hassani and H. Fallah Hosseini. 2007.** Effects of GA₃ and chilling on seed germination of *Ferula assa-foetida*, as a medicinal plant. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 23(3):396-403.
- Salimi M., A. Ebrahimi, Z. Shojaee Asadi and S.S. Saei Dehkordi. 2010.** Essential oil composition of *Kelussia odoratissima* Mozaff. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 26(2): 148-156.
- Sato, A. and Okubo, H. 2006.** Increase in the expression of an alpha amylase gene and sugar accumulation induced during cold period in Hyacinth bulb. *Journal of American society in Horticulture Science*. 131(2):185-191.
- Schimizit, N., J.H. Xia and A.R. Kermode. 2001.** Dormancy of yellow Cedar seed is terminated by GA in combination with fluridone or with osmotic priming and moist chilling. *Seed Science and Technology*. 29:331-346.
- Scott, S.J., R.A. Jones and W.A. Williams. 1984.** Review of data analysis methods for seed germination. *Crop Science*. 24:1192-1199.
- Xiao, Z., R. Storms and A. Tsang. 2006.** A quantitative starch-iodine method for measuring alpha-amylase and glucoamylase activities. *Analytical Biochemistry*. 351: 146-148.
- Yamauchi, Y., M. Ogawa, A. Kuwahara, A. Hanada, Y. Kamiya and S. Yamaguchi. 2004.** Activation of gibberellin biosynthesis and response pathways by low temperature during imbibition of *Arabidopsis thaliana* seeds. *Plant Cell*. 16: 367-378.