

تأثیر تیمارهای شکست خواب بذر بر جوانه‌زنی کرفس کوهی توده کوهرننگ (*Kelussia odoratissima* Mozaff)

جواد طباطبائی^{۱*} و اعظم کدخدایی^۲

۱. استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)، گروه زراعت، اصفهان، ایران

۲. هیأت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردستان، گروه زراعت، اصفهان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۰/۰۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۳/۲۳)

چکیده

کرفس کوهی با نام علمی *Kelussia odoratissima* Mozaff از گیاهان مرتعی و دارویی بومی ایران است که به علت برداشت غیر مجاز در معرض انقراض می‌باشد. تحقیق حاضر به بررسی تیمار مناسب برای تحریک جوانه‌زنی بذرهای این گیاه می‌پردازد. این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی بصورت آزمایش فاکتوریل در چهار تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل سرمادهی مرطوب (دمای چهار درجه سانتی‌گراد به مدت صفر، چهار و هشت هفته)، هورمون‌های جیبرلین (GA)، بنزیل آدنسین (BA)، نفتالین استیک اسید (NAA)، ایندول بوتیریک اسید (IBA) (محلول‌های ۵۰۰ پی پی ام) و ترکیبی از ۴ هورمون (GA+IBA)، (GA+NAA)، (GA+BA)، (IBA+NAA)، (IBA+BA)، (NAA+BA)، (GA+IBA+NAA)، (GA+IBA+BA)، (GA+NAA+BA)، (IBA+NAA+BA)، (GA+IBA+NAA+BA) بودند. نتایج نشان داد که تیمارهای هورمونی و سرمادهی هر یک به تنهایی پارامترهای جوانه‌زنی را افزایش دادند، هر چند تیمار ۸ هفته سرمادهی و اسید جیبرلیک مؤثرترین تیمارها بودند. بیشترین درصد جوانه‌زنی در GA، BA، GA+IBA+IBA و IBA بعد از ۸ هفته سرمادهی در دمای ۴ درجه مشاهده شد. نتایج نشان داد کرفس کوهی دارای خواب فیزیولوژیک بوده و تیمارهای با بیشترین اثر در شکستن خواب بذر GA، BA، GA+IBA+BA و IBA در شرایط ۸ هفته سرمادهی بودند.

کلمات کلیدی: سرمادهی مرطوب، خواب بذر، کرفس کوهی و هورمون‌ها

The effect of dormancy breaking treatments on seed germination of *Kelussia odoratissima* Mozaff (kohrang)

J. Tabatabaeian^{1*} and A. Kadkhodae²

1. Corresponding author, Assist. Prof., Department of Agronomy, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Iran.

2. Ph.D., Department of Agronomy, Isfahan (Ardestan) Branch, Islamic Azad University, Iran:

(Received: Dec. 28, 2017 – Accepted: Jun. 13, 2018)

Abstract

Mountain celery with scientific name of *Kelussia odoratissima* Mozaff is one of native medicinal plants of Iran that is an endangered species due to illegal removal. Present study was carried out to find the suitable treatment for stimulating germination of seeds this plant. A factorial experiment based on a completely randomized design with four replications was used. Stratification (4 °C for 0, 4, and 8 weeks), 500 ppm solutions of Gibberellin (GA), Benzyl adenine (BA), Naphthalene acetic acid (NAA), Indole butyric acid (IBA) and combinations of these hormones as follows: (GA+IBA), (GA+ NAA), (GA+BA), (IBA+NAA), (IBA+BA), (NAA+BA), (GA+ IBA+NAA), (GA+ IBA+BA), (GA+NAA+BA), (IBA+NAA+BA), (GA+ IBA +NAA+BA) were the treatments. The results showed that Stratification or hormonal treatments alone increased germination parameters, however, 8 weeks stratification and GA were the most effective treatments. The highest germination percent and duration were obtained in GA, BA, GA+IBA+IBA and IBA after eight weeks of stratification at 4 °C due to treatments interaction suggesting that seeds of this species has physiological dormancy. There was no synergic effect between hormonal treatments. The results showed that mountain celery had physiological dormancy and treatments with the greatest degree of success in breaking dormancy were GA, BA, GA+IBA+BA, BA and IBA under 8 weeks stratification.

Key words: Stratification, Seed dormancy, *Kelussia odoratissima* and Hormones.

* Email: taba805@gmail.com

استفاده می شود. از این مواد می توان به سرمادهی مرطوب، نیترات پتاسیم و هورمون های اکسین، جیبرلین و سیتوکینین اشاره کرد (Bahadori and Javanbakht, 2006).

نتایج مطالعات انجام شده روی گونه های خانوادگی چتریان، مواد بازدارنده ی شیمیایی را بعنوان عامل اصلی در عدم جوانه زنی و یکنواختی جوانه زنی بذر دانستند (Amooaghaie and Valivand, 2011). کاتو و همکاران (Kato et al., 1978) گزارش کردند مواد بازدارنده ی درونی در خواب بذرهایی که احتیاج به سرما دارند نقش مهمی ایفا می کنند. در پژوهشی که بر روی چند گونه از خانوادگی چتریان بومی ایران انجام شد، از میان تیمارهای اعمال شده جهت شکستن خواب، تیمار سرمادهی پس از شستشو و خیساندن بذر بسیار موثر بود (Bahadori, 2006; Sasani et al., 2007 and Javanbakht et al., 2001). اسپریمزیت و همکاران (Schimizit et al., 2001) با مطالعه جوانه زنی بذر کرفس مشاهده نمودند 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 گردد (Schimizit et al., 2001).

بهداری و جوانبخت (Bahadori and Javanbakht, 2006) نیز با مطالعه جوانه زنی زیره سیاه مشاهده نمودند کاربرد اسید جیبرلیک روی بذرهایی که در معرض سرما قرار گرفته بودند سبب تحریک جوانه زنی بذر زیره سیاه شد. نتایج آزمایشی که نبئی و همکاران همکاران (Nabae et al., 2011) روی شکستن خواب ریواس انجام دادند، نشان داد که با افزایش مدت زمان سرما از ۵ روز به ۲۵ روز، مرتباً به طور صعودی بر میزان جوانه زنی افزوده شده است، به طوری که بیشترین درصد جوانه زنی (۸۹٪) در سرمادهی ۲۵ روز مشاهده شد، که در ترکیب با هورمون جیبرلین این میزان تا ۹۶٪ افزایش داشت. همچنین هورمون بنزین آدنین فسفات (نوعی هورمون سیتوکینین) باعث افزایش معنی دار در درصد و سرعت

مقدمه

کرفس کوهی (کلوس) با نام علمی *Kelussia odoratissima* Mozaff. که از دیدگاه اکولوژیک، اقتصادی و تنوع زیستی دارای اهمیت فراوان بوده و متأسفانه به علت برداشت غیرمجاز در معرض انقراض می باشد (Mozaffarian, 2003). این گیاه از تیره چتریان بوده و ارتفاع آن به ۱۲۰ تا ۲۰۰ سانتی متر می رسد. دارای ریشه راست و دوکی شکل است و برگ ها دارای بریدگی های پنجه ای شکل و در قاعده دارای دم برگ بلند و بدون غلاف می باشد. گل آذین چتر و گل ها به رنگ زرد می باشد. مهم ترین رویشگاه های این گیاه در جنوب غربی ایران و در ارتفاعات بختیاری است. کرفس کوهی به طور کلی در مناطقی با حداقل ارتفاع ۲۵۰۰ متر از سطح دریا و متوسط بارندگی سالانه بیش از ۴۵۰ میلی متر به خوبی رشد می کند (Iravani and Jaber-Alansar, 2006). حداکثر دما در طول رشد رویشی گیاه به ندرت از ۲۰ درجه سانتی گراد تجاوز می کند. در حال حاضر رویشگاه های طبیعی کلوس به نواحی کوچکی در استان های اصفهان (شهرستان فریدونشهر)، لرستان، چهارمحال و بختیاری (کوهرنگ، شیخ علی خان)، کهکلیوه و بویراحمد (بخش دیشموک) و خوزستان (منگشت) محدود می شود. از اثرات دارویی این گیاه می توان به ضد درد، ضد التهاب، آرام بخش و ضدسرفه اشاره کرد (Iravani and Jaber-Alansar, 2006).

خواب بذر یک مکانیسم کلیدی جهت بقا گیاهان در شرایط نامساعد محیطی می باشد. عوامل گوناگونی نظیر ضخامت پوسته بذر و عوامل درونی نظیر عدم تعادل هورمون های بذر و عدم تکامل ساختار جنین از عوامل ایجادکننده خواب بذر می باشد. از برخی ترکیبات بعنوان پیش تیمار به منظور تحریک جوانه زنی بذر، کاهش زمان بین کشت بذر و سبز شدن آن و وادار کردن بذرها به همزمانی در سبز شدن و امکان جوانه زنی در شرایط نامساعد محیطی

پلاستیکی نگهداری شدند. آزمایش در بهمن سال ۱۳۹۴ انجام شد. این منطقه دارای موقعیت جغرافیایی ۵۰ درجه و ۱۲ دقیقه طول شرقی، ۳۲ درجه و ۹۴ دقیقه عرض شمالی و ارتفاع ۲۵۳۰ متر از سطح دریای آزاد می‌باشد. این آزمایش به منظور بررسی تیمارهای شکست خواب بذر بر خصوصیات جوانه‌زنی گیاه دارویی کرفس کوهی در آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان انجام شد.

آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل سه دوره سرمادهی مرطوب و ۱۵ ترکیب هورمون‌ها بودند. سه دوره سرمادهی مرطوب شامل (S_۰)، ۴ (S_۴) و ۸ (S_۸) هفته سرمادهی مرطوب در دمای چهار درجه سانتی‌گراد به عنوان فاکتور اول و چهار هورمون محرک جوانه‌زنی جیبرلین (GA)، بنزیل آدنین (BA)، نفتالین استیک اسید (NAA) و ایندول بوتیریک اسید (IBA) با غلظت ۵۰۰ پی پی ام و ترکیبی از این چهار هورمون شامل (GA+NAA)، (GA+IBA)، (NAA+BA)، (IBA+BA)، (IBA+NAA)، (GA+BA)، (GA+IBA+NAA)، (GA+IBA+BA)، (IBA+NAA+BA) بعنوان فاکتور دوم بودند.

بر اساس آزمون حیات بذر (ترازولیوم کلراید) توده بذرها کرفس کوهی زنده و دارای قوه نامیه (۹۲٪) بودند. برای انجام کار ابتدا تعدادی بذر سالم و خالص به طور تصادفی از توده بذری کرفس کوهی انتخاب شد و سپس با هدف شستشوی مواد بازدارنده، بذور به مدت ۲۴ ساعت در برابر جریان آب قرار داده شدند. به منظور ضد عفونی بذور از یک روش سه مرحله‌ای شامل، قرار دادن بذور به مدت یک دقیقه در اتانول ۷۰ درصد، انتقال آن‌ها به هیپوکلرید سدیم ده درصد به مدت ده دقیقه همراه با تکان شدید دست و شستشو با آب مقطر استریل پنج بار و هر بار به مدت پنج دقیقه بود (Forozandeh Shahraki, 2007).

برای اعمال تیمار ابتدا بذرها به منظور سرمادهی

جوانه‌زنی بذر ریواس شد. به این ترتیب سیتوکینین‌ها برای تکمیل القای جوانه‌زنی توسط GA لازم و بطور غیرمستقیم موجب کاهش اثرات مواد بازدارنده رشد (مانند آبسزیک اسید) می‌شوند (Nabae et al., 2011). همچنین مشاهده شد که طول ریشه‌چه در گیاه ریواس با هورمون جیبرلین افزایش اما هورمون بنزین آدنین فسفات تأثیر معنی‌داری بر طول ریشه‌چه نداشت.

بذرها کرفس کوهی بعنوان یکی از گونه‌های تیره چتریان، دارای خواب بوده و دانش کنونی ما درباره شکست خواب بذر این گیاه برای بازسازی عرصه‌های طبیعی آن بسیار ناچیز می‌باشد. به همین منظور لازم است جهت حفظ و تکثیر ذخایر ژنتیکی این گیاه و زمینه‌سازی جهت پرورش آن در محیط مصنوعی چگونگی غلبه بر خواب این بذر مورد توجه قرار گیرد. پژوهش‌های قبلی نشان داده است که شکست خواب بذر کرفس کوهی نیازمند دوره سرمادهی طولانی (استریتیفیکاسیون) است و جیبرلین اثری بر آن ندارد (Amooaghaie and Valivand, 2011). بنابراین در این تحقیق علاوه بر بررسی اثر سرمادهی مرطوب، اثر هورمون‌های مختلف شامل جیبرلین، اکسین (نفتالین اسید استیک و ایندول بوتیریک اسید) و سیتوکینین (بنزیل آدنین) به تنهایی و در ترکیب با یکدیگر و در ترکیب با تیمار سرمادهی مرطوب بر شکست خواب و میزان جوانه‌زنی بذر کرفس کوهی بررسی شد. با توجه به این که مهم‌ترین دلیل کاهش پراکنش کرفس کوهی طول دوره خواب بذر می‌باشد، لذا استفاده از نتایج این تحقیق به کوتاه کردن جوانه‌زنی و در نتیجه اهلی کردن این گیاه دارویی کمک خواهد نمود.

مواد و روش‌ها

مواد ژنتیکی مورد مطالعه در این پژوهش شامل توده بذور کرفس کوهی (توده کوه‌رنگ) از فریدونشهر اصفهان (منطقه سراقاسید) در شهریور سال ۱۳۹۴ جمع‌آوری گردید و تا زمان آزمایش در پاکت‌های

MGT، میانگین زمان جوانه‌زنی، d تعداد روز از شروع آزمایش، n تعداد بذور جوانه زده در روز i و N کل بذورهای جوانه زده بود.

جوانه‌زنی زمانی در نظر گرفته شد که ریشه‌چه دو میلی متر طول داشت. بذور جوانه زده هر ۲۴ ساعت به مدت ۳۰ روز ثبت شدند. گیاهچه‌ها با هیپوکوتیل کوتاه، ضخیم و فنی شکل و ریشه اولیه بازداشته شده از رشد به عنوان گیاهچه غیرعادی در نظر گرفته شدند (Scott et al., 1984; Makizade Tafti and Farhodi, 2013). طول ریشه‌چه به کمک خط کش و بر اساس واحد میلی‌متر اندازه‌گیری شد. به این منظور خمیدگی گیاهچه باز شده و طول ریشه از انتها تا محل اتصال به بذور اندازه‌گیری شد.

داده‌ها با استفاده از نرم افزار کامپیوتری SAS (9.1) (2006) تجزیه واریانس شدند و برای رسم نمودارها از نرم افزار اکسل استفاده شد. در صورت معنی دار بودن اثر عوامل آزمایشی، از آزمون حداقل تفاوت معنی دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد برای مقایسه میانگین تیمارها استفاده شد. همچنین به منظور بررسی روابط بین صفات اندازه‌گیری شده، ضرائب همبستگی محاسبه گردید.

نتایج و بحث

سرمادهی باعث بهبود پارامترهای جوانه‌زنی شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر تیمار سرمادهی مرطوب بر درصد و سرعت جوانه‌زنی، متوسط زمان جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه توده کرفس کوهی در سطح یک درصد معنی دار بود (جدول ۱). با افزایش مدت زمان سرمادهی از چهار به هشت هفته بر درصد و سرعت جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه افزوده شد. سرمادهی ۸ هفته بیشترین تیمار بدون سرمادهی کمترین درصد و سرعت جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه را داشت. میانگین زمان جوانه‌زنی در بذرها در تیمار سرمادهی از ۴ به ۸ هفته کاهش داشت. مطابق با نتایج مانجفی و همکاران

مرطوب به مدت ۱۲ ساعت در ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر در دمای اتاق خیسانده شدند و سپس در ظروف پلاستیکی (۱۰×۱۵ سانتی متر) بین دو لایه ماسه مرطوب به ضخامت هر لایه پنج سانتی‌متر قرار داده شده و به دمای چهار درجه در مدت صفر، چهار و هشت هفته درون یخچال منتقل شدند. سپس به مدت ۱۲ ساعت در محلول ۵۰۰ پی پی ام چهار هورمون و ترکیبی از آنها در دمای اتاق خیسانده شدند (2013 Makizade Tafti and Farhodi). بعد از این مدت به پتری منتقل شدند. در تیمار شاهد بذرها بدون اعمال تیمار در پتری قرار گرفتند.

سپس بذور تیمار شده در بهمن ۱۳۹۴ در در پتری‌های با قطر ده سانتی متر روی یک لایه کاغذ صافی قرار رفتند و به اتاقک رشد با شرایط ۱۲ ساعت نور (۶۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه) و ۱۲ ساعت تاریکی، رطوبت ۷۰ درصد و دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد در شبانه روز منتقل شدند (AOSA, 1983). در هر پتری ۲۰ عدد بذور قرار گرفت و در موقع لزوم هفت میلی لیتر آب مقطر به محیط کشت اضافه شد. مدت زمان آزمایش ۲۱ روز بود و در پایان درصد و سرعت جوانه‌زنی، میانگین زمان جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه محاسبه شد. درصد و سرعت جوانه‌زنی و میانگین زمان جوانه‌زنی به ترتیب براساس رابطه‌های زیر بررسی شد (Scott et al., 1984; Copeland and Mc Donald, 2001; Copeland and Mc Donald, 1995).

$$GP = \frac{\sum G}{N} * 100 \quad (1)$$

GP، درصد جوانه‌زنی، G تعداد بذور جوانه زده در دوره آزمایش و N تعداد کل بذور بود.

$$GR = \frac{\sum n}{\sum (Dn)} \quad (2)$$

GR، سرعت جوانه‌زنی، n تعداد بذور جوانه زده در روز D و D تعداد روز از شروع آزمایش بود.

$$MGT = \sum \frac{nd}{N} \quad (3)$$

نوکلئیک می‌شود که این امر در راه اندازی تقسیم سلولی در محور جنینی مؤثر است (El-Nabawy et al., 1980).
 الدنگاوی (L-Dengawy, 2005) دریافت که میزان فسفر محلول غیر آلی همبستگی منفی، اما غلظت فسفر محلول آلی همبستگی مثبتی با درصد جوانه‌زنی بذر دارد و سرمادهی ایجاد ترکیبات فسفر آلی را تحریک می‌نماید.
 در طی تیمار سرمادهی افزایش معنی داری در سطح آنزیم‌های مسیر پنتوز فسفات رخ می‌دهد. همچنین سرمادهی مرطوب سطح فسفات‌های آلی نظیر فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات و نوکلئوتیدها را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Bewley and Black, 1994). افزایش سطوح آنزیم‌های کاتالاز، فسفاتاز، لیپاز و پراکسیداز در بذرهای سرمادیده و تشکیل اسیدهای آمینه برای تغذیه جنین در طول رشد نیز از جمله تغییراتی هستند که به دنبال تیمار سرما در بذرهای سرما دیده روی می‌دهند (Karam and Al-Salem, 2001).

Ferula gummosa در (Nadjafia et al., 2006) رزمجو و همکاران (Razmjoo et al., 2009) در *Clematis ispahonica* و زو و همکاران (Zhou et al., 2009) در *Rosa multibracteata* افزایش پارامترهای جوانه زنی در تیمار سرمادهی را گزارش کردند. سرمادهی یک روش استاندارد است که نقش مهمی در فراهم کردن عوامل محرک برای غلبه بر خواب بذور دارد. عمل دمای پایین در خواب دمایی ممکن است بعلت تحریک در کاهش سطح بازدارنده‌ها و یا افزایش توانایی بذر در تولید سطح بالایی از هورمون‌های محرک رشد باشد (Tipirdamaz and Gomurgen, 2000; Vandelook et al., 2007). سرمادهی مرطوب موجب تغییرات فیزیولوژیکی متعددی در بذرها می‌گردد. سرمادهی مرطوب روی بذرها موجب افزایش سطح ورود نوکلئوتیدها و نوکلئوتیدها به مسیر سنتز اسیدهای

جدول ۱- تجزیه واریانس درصد (GP) و سرعت جوانه‌زنی (GR)، طول ریشه چه (RL) و میانگین زمان جوانه‌زنی (MGT)

کرفس کوهی تحت سرمادهی مرطوب و هورمون‌های گیاهی

Table 1- Analysis of variance percentage and rate of germination, root length and mean germination time of *Kelussia odoratissima* Mozaff under Stratification and plant hormones

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	طول ریشه چه Root length	میانگین زمان جوانه زنی Mean germination time
سرمادهی مرطوب Stratification	2	54950.7**	7.96**	4867.2**	453.3**
هورمون Hormone	14	553.2**	0.250**	268.3**	36.0**
سرمادهی × هورمون S*H	28	221.5**	0.108**	202.2**	55.7**
خطا Error	135	22.6	0.012	9.4	0.64
ضریب تغییرات CV		13.08	24.61	25.60	12.90

** معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

** Significant at 0.01 levels of probability

کرفس کوهی بطور معنی داری اثر داشت ($P < 0/01$) (جدول ۱). همه هورمون‌ها درصد و سرعت جوانه‌زنی،

تیمار هورمون‌های مختلف نیز بر درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و میانگین زمان جوانه‌زنی در

می‌شود (Karssen *et al.*, 1989) که سرانجام باعث جوانه‌زنی خواهد شد. بعبارت دیگر سرما و اسید جیبرلیک باعث تشکیل، رهاسازی و فعالیت پروتئین‌ها و افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده نشاسته برای تغذیه جنین می‌شوند (Olmez *et al.*, 2004).

در مطالعه اسپچیمزیت (Schimizit, 2001) روی بذور کرفس، بیشترین جوانه‌زنی در تیمار سرمادهی و کاربرد هورمون‌هایی مانند جیبرلین مشاهده شد. شاید استفاده همزمان از این تیمارها رشد جنین را تحت اثر قرار داده و همچنین غلظت آبسزیک اسید را کاهش می‌دهد.

اترشی و همکاران (Otroshy, 2010) در مطالعه بررسی اثر تنظیم‌کننده‌های رشد کیتین، بنزیل آمینو پورین (BAP) و اسید جیبرلیک بر شکستن خواب *Ferula assafoetida* L. گزارش کردند BAP از هورمون‌های سیتوکینین بیشترین میزان جوانه‌زنی را داشت. گزارش شده است سیتوکینین‌ها اثر GA₃ را در سیستم جوانه‌زنی بذر کرفس افزایش می‌دهند و جوانه‌زنی سریع‌تر را موجب می‌شوند (Biddington and Thomas, 1978; Thomas and Van Staden, 1995). به هر حال در این مطالعه ترکیبی از GA و BAP اثر هم‌افزایی بر روی جوانه‌زنی کرفس کوهی نداشت.

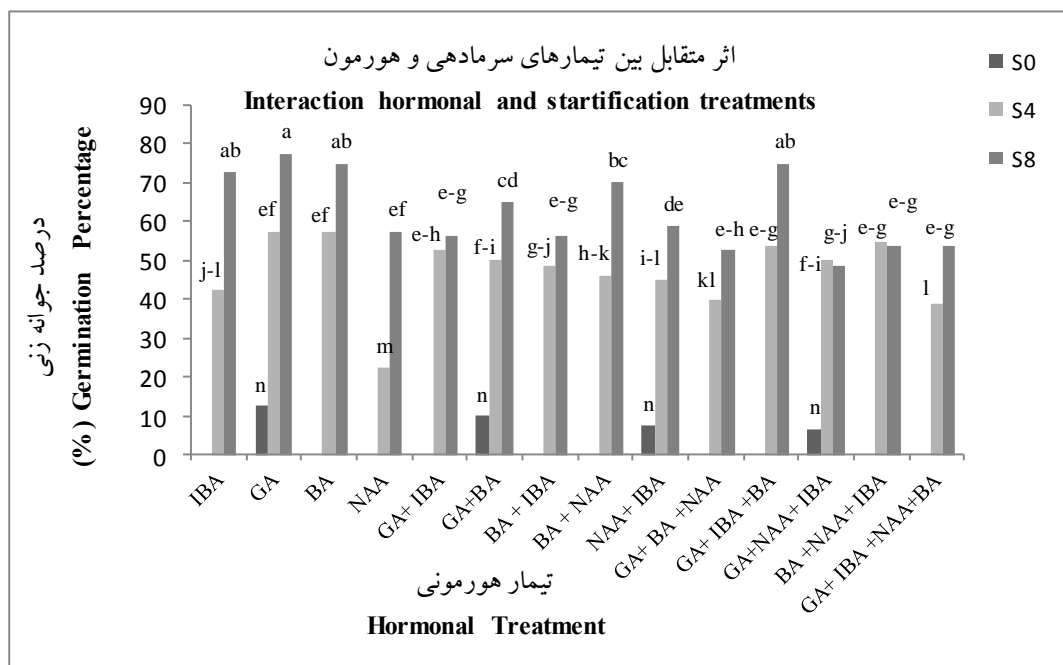
نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که بنزیل آدنین (سیتوکینین) درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه را افزایش داد. سیتوکینین‌ها با تحریک سنتز DNA و RNA در دانه‌ها، رشد و تقسیم سلولی جنین را تسهیل نموده و به جوانه‌زنی کمک می‌کنند و یا با افزایش آلfa آمیلاز و هیدرولیز نشاسته و یا با افزایش نفوذپذیری غشا سیتوپلاسمی و در نتیجه انتقال سریع‌تر مواد بر روی جوانه‌زنی اثرگذار هستند (Li, 2000). مطالعات نشان می‌دهد که سیتوکینین‌ها باعث افزایش فعالیت جیبرلین در سیستم بذر کرفس زراعی شده و منجر به تسریع خواب‌شکنی آن می‌شود (Biddington and Thomas, 1978). ایندول بوتیریک اسید (نوعی هورمون اکسین) اثر مثبت معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه داشت.

طول ریشه‌چه و میانگین زمان جوانه‌زنی را افزایش داد. تیمار اسید جیبرلیک (GA) خصوصیات جوانه‌زنی را افزایش داد. در تطابق با نتایج این آزمایش نجفی و همکاران (Nadjafi *et al.*, 2006) در *Teucrium polium*، رزمجو و همکاران (Razmjoo *et al.*, 2009) در *Clematis ispanhica* افزایش خصوصیات جوانه‌زنی در اثر تیمار GA را گزارش کردند. میزان بهبود بستگی به غلظت GA داشت. در مقابل نتایج ما، اعتمادی و همکاران (Etemadi *et al.*, 2010) و عمو آقایی و ولی‌وند (Amooaghaie and Valivand, 2011) گزارش کردند کاربرد GA اثر قابل‌توجهی بر جوانه‌زنی کرفس کوهی نداشت. کاربرد خارجی اسید جیبرلیک می‌تواند بعنوان جایگزین سرما به کار رود. گزارش شده است که اسید جیبرلیک در شکستن خواب بذوری که به سرما، نور و ذخیره غذایی پس از رسیدگی نیاز دارند نقش زیادی دارد (Gupta, 2003). در نتیجه، کاربرد GA در این مطالعه ممکن است همچنین جایگزین مناسبی برای نور یا نیازهای غذایی بذور این گونه‌ها باشد. در واقع جیبرلین‌ها رشد سلول را با افزایش ضریب کشسانی دیواره سلول تأمین می‌کنند. جیبرلین باعث هیدرولیز نشاسته و تبدیل آن به قند می‌شود. این امر باعث کاهش پتانسیل آب سلول و در نتیجه تسهیل ورود آب به درون سلول می‌شود. به دنبال این فرآیند طویل شدن سلول رخ می‌دهد (Schimizit *et al.*, 2001; Nabae *et al.*, 2013).

زمانی که بذور تحت تیمار سرما و اسید جیبرلیک بیشترین درصد جوانه‌زنی را داشته باشند، که نوعی جایگزین سرما است، ممکن است نشان دهد که خواب این گونه‌ها از نوع فیزیولوژیک باشد (Baskin *et al.*, 1995; Walck *et al.*, 2002). فاکتورهای مؤثر در این نوع از خواب، جنین نارس، وجود فاکتورهای بازدارنده جوانه‌زنی یا هر دو می‌باشد. به نظر می‌رسد سرما ترشح جیبرلین را در بذور افزایش می‌دهد. افزایش جیبرلین باعث افزایش فعالیت آنزیم‌ها و شکستن قندها می‌شود. همچنین نشاسته به مواد قابل استفاده برای جنین تجزیه

بطوریکه بیشترین درصد جوانه زنی به ترتیب در GA، IBA، BA، GA+IBA+BA و BA+NAA در شرایط ۸ هفته سرمادهی بود (شکل ۱). بیشترین سرعت جوانه زنی به ترتیب در GA، BA، BA+NAA، IBA و GA+IBA+BA در شرایط ۸ هفته سرمادهی بود (شکل ۲). بیشترین طول ریشه چه در BA و ۸ هفته سرمادهی مشاهده شد و سپس به ترتیب در GA+IBA+BA، IBA+BA در ۸ هفته سرمادهی بود (شکل ۳). در مورد میانگین زمان جوانه زنی بیشترین میزان در شرایط بدون سرمادهی به ترتیب در تیمارهای هورمونی NAA+IBA، GA+NAA+IBA، GA+NAA+IBA و GA+BA بود (شکل ۴).

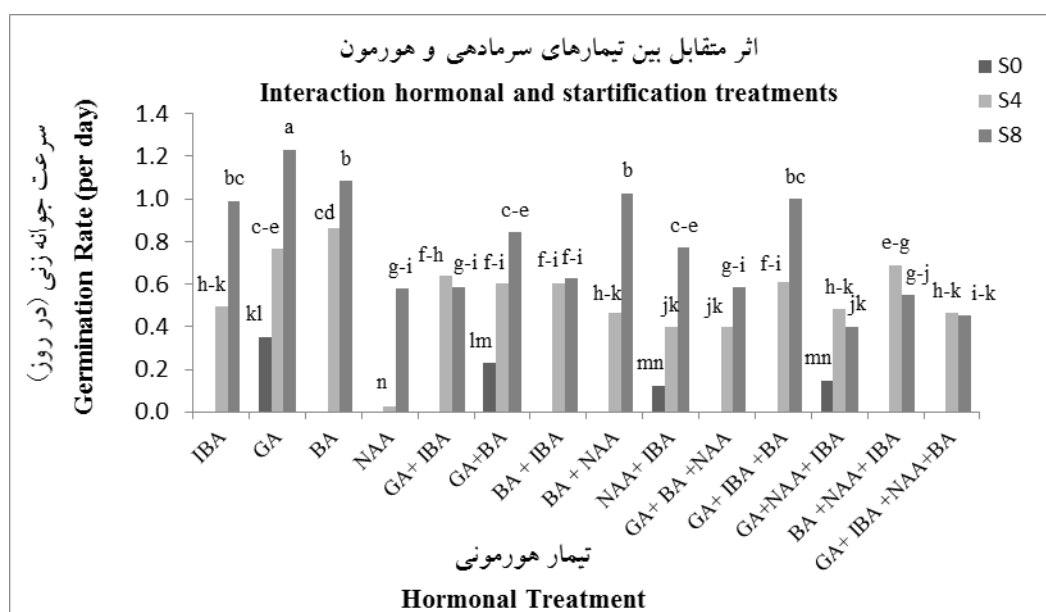
بعضی از بررسی ها مشخص کرده است که اکسین ها اثرات افزایشی کمی بر جوانه زنی بذر دارند. اکسین، با کمک در طول نمودن غلاف ساقه چه و ریشه چه و به وسیله فعال نمودن زمین گرایی و نورگرایی رشد ریشه چه و ساقه چه را تنظیم می کند (Bialek et al., 1992; Singh, 1990; Nabae, 2011). در این مطالعه نفتالین استیک اسید (NAA) پارامترهای جوانه زنی کرفس کوهی را افزایش داد. این یافته ها با نتایج گوداده و دهوران (Gudadhe and Dhoran, 2012) مشابه است. ایشان گزارش کردند NAA جوانه زنی *Asparagus sprengeri* را افزایش می دهد. اثر متقابل سرمادهی (۰، ۴ و ۸ هفته) و هورمون ها (۵۰۰ PPM) بر درصد و سرعت جوانه زنی، طول ریشه چه و میانگین زمان جوانه زنی معنی دار بود (جدول ۱)،



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل بین سرمادهی مرطوب و هورمون ها بر روی درصد جوانه زنی کرفس کوهی.

ستون هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ اختلاف معنی داری ندارند.

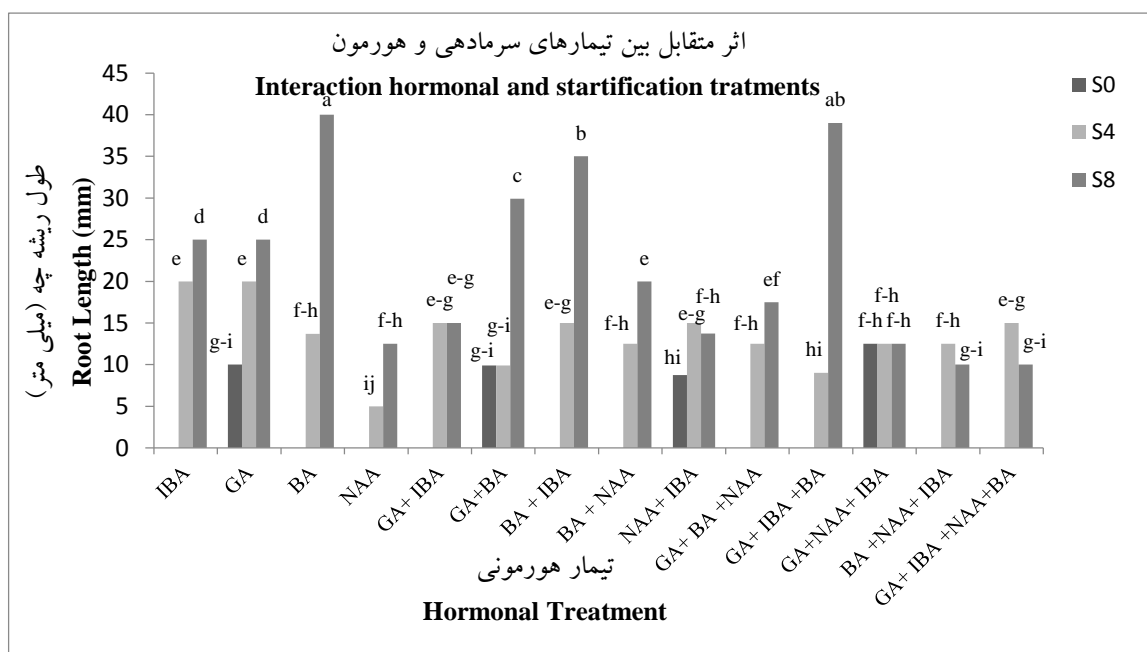
Figure 1- Means comparison of the interaction between stratification (S) and hormones (H) on germination percentage of *Kelussia odoratissima* (columns with minimum a same letter don't have significant difference, using LSD method, p=0.05)



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل بین سرمادهی مرطوب و هورمون‌ها بر روی سرعت جوانه‌زنی کرفس کوهی.

ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ اختلاف معنی داری ندارند.

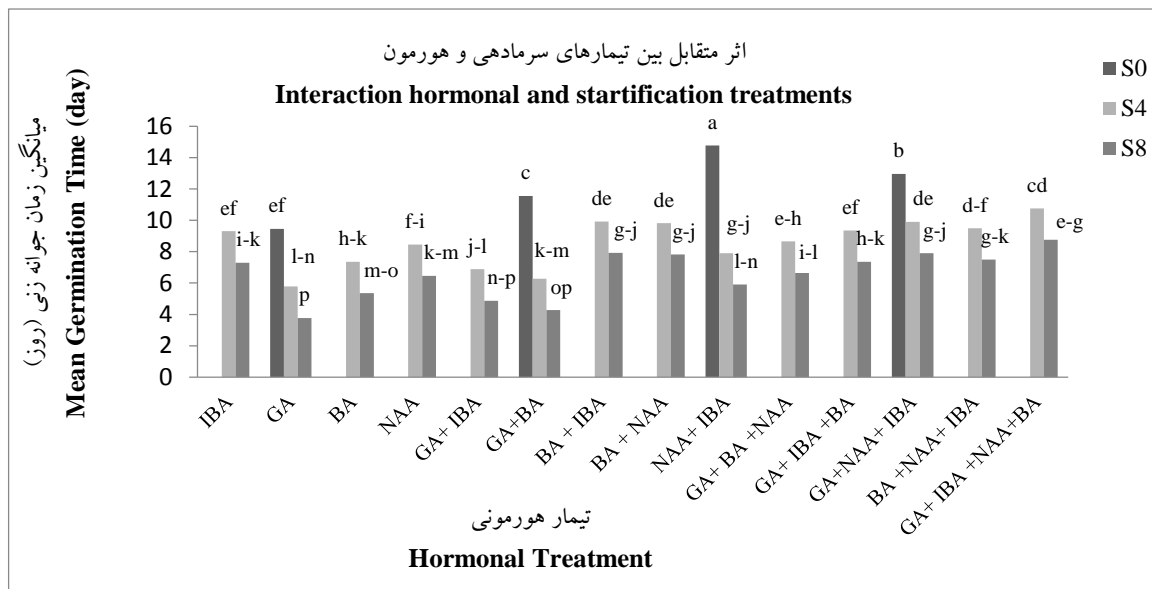
Figure 2- Means comparison of the interaction between stratification (S) and hormones (H) on germination rate of *Kelussia odoratissima* (columns with minimum a same letter don't have significant difference, using LSD method, p=0.05)



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل بین سرمادهی مرطوب و هورمون‌ها بر روی صفت طول ریشه‌چه (میلی‌متر) کرفس کوهی.

ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ اختلاف معنی داری ندارند.

Figure 3- Means comparison of the interaction between stratification (S) and hormones (H) on root length (mm) of *Kelussia odoratissima* (columns with minimum a same letter don't have significant difference, using LSD method, p=0.05)



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل بین سرمادهی مرطوب و هورمون‌ها بر روی صفت متوسط زمان جوانه‌زنی (روز) کرفس کوهی.

ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ اختلاف معنی داری ندارند.

Figure 4- Means comparison of the interaction between stratification (S) and hormones (H) on mean germination time (day) of *Kelussia odoratissima* (columns with minimum a same letter don't have significant difference, using LSD method, p=0.05)

مؤثرترین هورمون در جوانه‌زنی کرفس کوهی بود. این نتایج با یافته‌های گوداده و دهوران (Gudadhe and Dhoran, 2012) در *Asparagus sprengeri* و رویچاوداری و همکاران (Roychowdhury et al., 2012) در *Dianthus caryophyllus* در توافق است.

در این مجموع آزمایش‌ها (صرفه نظر از نوع تیمار) اکثراً همبستگی مثبت و معنی داری بین درصد و سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه و سرعت جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه (جدول ۲) بذرها کرفس کوهی مشاهده شد. بنابراین جوانه‌زنی سریع با درصد جوانه‌زنی بالاتر همگام بوده است، در نتیجه رشد بهتر گیاه و افزایش طول ریشه چه مشاهده می‌شود.

به طور کلی نتایج آزمایش حاضر نشان داد بذور کرفس کوهی دارای خواب فیزیولوژیک هستند. تیمار سرمادهی پارامترهای جوانه‌زنی را افزایش داد. همچنین تیمارهای هورمونی باعث افزایش پارامترهای جوانه‌زنی شد. به هر جهت میزان افزایش در خصوصیات جوانه‌زنی

همچنین در همه تیمارهای هورمونی میانگین زمان جوانه‌زنی در شرایط ۸ هفته سرمادهی کاهش داشت. ترکیبی از هورمون‌ها پارامترهای جوانه‌زنی را در مقایسه با هر یک از هورمون‌ها به تنهایی بهبود نداد. اثرات ترکیبی سرمادهی و هورمون‌ها، اثرات هم افزایی بر روی پارامترهای جوانه‌زنی داشت. در هر صورت چنین اثراتی بستگی به دوره سرمادهی و ترکیب هورمون‌ها دارد. در ارتباط با نتایج این آزمایش حسن شیخی و همکاران (Hassan Shaykhi et al., 2015) نشان دادند ترکیب GA_3 ۵۰۰ ppm و سرمادهی بهترین تیمار برای شکستن خواب بذور کرفس کوهی بود. ترکیب هورمون‌ها اثر هم افزایی بر جوانه‌زنی پارامترهای گونه‌های مورد مطالعه نداشت. در مقابل ظفریان و هوشمند (Houshmand, 2013 and Zafarian) گزارش کردند ترکیب BAP ۰/۷۵ mg/L و GA_3 ۵۰۰ mg/L اثر هم افزایی بر روی جوانه‌زنی کرفس کوهی داشت.

در بین هورمون‌های مورد آزمایش، هورمون جیبرلین

در شرایط ترکیب هر دو تیمار بیشتر بود. ترکیب هورمون‌ها با یکدیگر اثر افزایشی نداشت. تیمارهای با بیشترین اثر در شکستن خواب بذور کرفس کوهی شامل

جدول ۲- ضریب همبستگی بین صفات اندازه‌گیری شده جوانه‌زنی در کرفس کوهی در متوسط زمان ۰، ۴ و ۸ هفته سرمادهی مرطوب و تیمارهای هورمونی.

Table 2- Correlation coefficients among measured germination traits in *Kelussia odoratissima* in time mean of 0, 4 and 8 weeks stratification and hormonal treatments.

صفات Traits	درصد جوانه‌زنی GP	سرعت جوانه‌زنی GR	طول ریشه چه RL	میانگین زمان جوانه‌زنی MGT
درصد جوانه‌زنی GP	1.0			
سرعت جوانه‌زنی GR	0.74**	1.0		
طول ریشه چه RL	0.87**	0.60**	1.0	
میانگین زمان جوانه‌زنی MGT	-0.05 ^{ns}	-0.10 ^{ns}	0.06 ^{ns}	1.0

^{ns} بدون معنی و ** معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد.

^{ns} and **, not Significant and Significant at the 0.01 probability level

تحقیق مساعدت کافی را داشته‌اند، تقدیر و تشکر می‌گردد.

تشکر و قدردانی

از مسئولین محترم دانشکده آزاد اسلامی واحد خوراسگان که در تأمین منابع مالی مورد نیاز انجام این

Reference

منابع

- Amooghaie, R., and M. Valivand. 2011.** The combined effect of gibberellic acid and long time osmopriming on seed germination and subsequent seedling growth of *Klussia odoratissima* Mozaff. Am. J. Bot. 10:14873-14880.
- AOSA. 1983.** Seed vigor testing handbook. Contribution No. 32. Association of official seed analysis. In:Valdiva CB, Sanchez-Urdaneta AB, Aguirre JR, Trejo C, Cardenas E, Villegasm A. Temperature and mechanical scarification on seed germination of maguey (*Agave salmiana* ex Salm-Dyck). Seed Sci. Technol. 34:47-56.
- Bahadori, F., and A. Javanbakht. 2006.** Effect of pre-treatments on seed germination and seedling growth of *Bunium persicum* of Semnan. IJRFPGR (Iran). 14(3):163-169. (In Persian)
- Baskin, C.C., V. Mayer, and J.M. Baskin. 1995.** Two type of morpho physiological dormancy in seeds of two genera (*Erythorium* and *Osmorhiza*) with an Arcto-Tertiary distribution pattern. Am. J. Bot. 82:293-298.
- Bewley, J.D., and M. Black. 1994.** Seeds: Physiology of development and germination. 2nd ed. New York, Plenum Press.

- Bialek, K., L. Michalczuk, and J.D. Cohen. 1992.** Auxin biosynthesis during seed germination in *Phaseolus vulgaris*. Plant Physiol. 100:509-517.
- Biddington, N.L., and T.H. Thomas. 1978.** Thermo dormancy in celery seed and its removal by cytokinins and gibberellins. Physiol. Plant. 42:401-405.
- Copeland, L.O., and M.B. Mc Donald. 1995.** Principals of seed science and Technology. Third Edition. Chapman and Hall, New York, 236p.
- Copeland, L.O., and M.B. Mc Donald. 2001.** Principles of Seed Science and Technology. Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Dhoran, V.S., and S.P. Gudadhe. 2012.** Effect of plant growth regulators on seed germination and seedling vigor in *Asparagus sprengeri* regelin. Int. Res. J. Biol. Sci. 1(7):6-10.
- El-Dengawy, E.F.A. 2005.** Promotion of seed germination and subsequent seedling growth of loaquat (*Eriobotrya japonica*) by moist-chilling and GA3 applications. Sci. Hortic. 105(3):331-342.
- El-Nabawy, S., M. Abou-Rawash, A.M. El-Hamady, I. Desouky, and F. Khalil. 1980.** Effect of stratification and GA3 on germination of pecan seeds and subsequent seedling growth. Ann. Agric. Sci, Ain Shams University, 25(1/2):323-338.
- Etemadi, N., M. Haghghi, A. Nikbakht, and Z. Zamani. 2010.** Methods to promote germination of *Klussia odoratissima* Mozaff., an Iranian endemic medicinal plant. Herba polonica. 56 (2):21-28.
- Forozandeh Shahraki, A. 2007.** Review production application methods and crop cultivation of *Klussia odoratissima* (Klaus). MPO (Iran). (In Persian)
- Gupta, V. 2003.** Seed germination and dormancy breaking techniques for indigenous medicinal and aromatic plants. J. Med. Arom. Plant Sci. 25: 402-407.
- Hassan Shaykhi, A., B. Majd NAssiry, and M. Ataei kachouei. 2015.** Effect of some treatments on seed dormancy, germination and antioxidant enzymes of *kelussia odoratissima* mozaff. Seeds. Cercetari Agronomice in Moldova. 2(162):81-90.
- Iravani, M., and Z. Jaber-Alansar. 2006.** *Klussia odoratissima* plant specious endangered, in the central Zagros region, College of Education promote the message of green, Isfahan University of Technology. (In Persian).
- Karam, N.S., and M.M. Al-Salem. 2001.** Breaking dormancy in *Arbutus andrachna* L. seeds by stratification and gibberellic acid. Seed Sci. Technol. 29:51-56.
- Kato, T., M. Kobayashi, N. Sasaki, Y. Kitahara, and N. Takahashi. 1978.** The coumarin hereclenol as a growth inhibitor in parsley seed. Phytochemistry. 17:158-159.
- Karssen, C.M., S. Zagoreski, J. Kepczynski, and S.P.C. Groot. 1989.** Key role for endogenous gibberellins in the control of seed germination. Ann. Bot. 63:71-80.
- Li, M. 2000.** Leung starch accumulation is associated with adventitious root formation in hypocotyls cutting of *Pinus radiate*. J. Plant Growth Regul. 19:423-428.
- Makizade Tafti, M., and R. Farhodi. 2013.** evaluation of influence dormancy breaking treatments on germination and growth of *Kelussia odoratissima* Mozaff. Scientific-Research Periodical of Plant and Ecosystem. 37: 53-61. (In Persian)
- Mozaffarian, V. 2003.** Two new genera of Iranian Umbelliferae. Res. Inst. Forest and Rangelands. 88: 88-94. (In Persian)
- Nabae, M., P. Roshandel, and A. Mohammad Khani. 2011.** Effective techniques to break seed dormancy and stimulate seed germination in *Rheum ribes* L. IJMAP. 27(2):212-223. (In Persian)
- Nabae, M., P. Roshandel, and A. Mohammad Khani. 2013.** The effects of plant growth regulators on breaking seed dormancy in *Silybum marianum* L. J. Cell and Tissue. 4(1):45-54. (In Persian)
- Nadjafia, F., M. Bannayan, L. Tabrizi, and M. Rastgoo. 2006.** Seed germination and dormancy breaking techniques for *Ferula gummosa* and *Teucrium polium*. J. Arid. Environ. 64:542-547.
- Olmez, Z., Z. Yahyaoglu, and A.O. Ucler. 2004.** Effects of H₂SO₄, KNO₃ and GA3 treatments on germination of caper (*Capparis ovate* Desf.) seeds. Pakistan. J. Biol. Sci. 7 (6):879-882.

- Otroshy, M., A. Zamani, M. Khodambashi, M. Ebrahimi, and P.C. Struik. 2010. Effect of exogenous hormones and chilling on dormancy breaking of seeds of *Asafoetida* (*Ferula assafoetida* L.). Res. J. Seed Sci. 3(4):242-248.
- Razmjoo, K., A. Razzazi, N. khodaeian, and E. Askari. 2009. Breaking seed dormancy of *Prangos uloptera* DC., a medicinal plant of the Iran. Seed Sci. Technol. 37(3):771-775.
- Roychowdhury, R., A. Mamgain, S. Ray, and J. Tah. 2012. Effect of gibberellic acid, kinetin and indole 3-acetic acid on seed germination performance of *Dianthus caryophyllus* (carnation). Agric. Conspectus Sci. 77(3):157-160.
- SAS Institute Inc. 2006. Base SAS 9.1.3 procedures guide (2nd ed.), volumes 1, 2, 3, and 4. Author.
- Sasani, S.h., R. Tavakol Afshar, K. Poostiny, and F. Sharifzadeh. 2007. Impact Assessment Moist, hormonal treatments and storage of dormancy and induce germination of seeds of *Bunium persicum*. Iranian J. Agric. Sci. 38(2):287-294. (In Persian)
- Schimizit, N., J.H. Xia, and A.R. Kermod. 2001. Dormancy of yellow Cedar seed is terminated by GA in combination with fluridone or with osmotic priming and moist chilling. Seed Sci. Technol. 29:331-346.
- Scott, S.J., R.A. Jones, and W.A. Williams. 1984. Review of data analysis methods for seed germination. Crop Sci. 24:1192-1198.
- Singh, V. 1990. Influence of indole acetic acid (IAA) and indole butyric acid (IBA) on seed germination of spruce. The Indian For. 116(6):450-455.
- Thomas, T.H., and J. Van Staden. 1995. Dormancy break of celery (*Apiumgraveolens* L.) seeds by plant derived smoke extract. Plant Growth Regul. 17:195-198.
- Tipirdamaz, R., and A.N. Gomurgen. 2000. The Effects of Temperature and Gibberellic Acid on Germination of *Eranthishyemalis* (L.) Salisb seeds. Turk J Bot. 24:143-145.
- Vandelook, F., N. Bolle, and J.A. Van Assche. 2007. Seed Dormancy and Germination of the European *Chaerophyllumtemulum* (Apiaceae), a Member of a Trans-Atlantic Genus. Ann. Bot. 100(2):233-239.
- Walck, J.L., S.N., Hidayati, and N. Okagami. 2002. Seed germination echophysiology of Asian species *Osmorhizaaristata* (Apiaceae): Comparison with its North American cogenera and implications for evolution of type of dormancy. Am. J. Bot. 89:829-835.
- Zafarian, Z., and S. Houshmand. 2013. Study of effects of time, quantity and application method of benzylaminopurine and gibberellic acid growth regulators on breaking seed dormancy of *Kelussia odoratissima* M. JCPP. 3(8):165-176.
- Zhou, Z-Q., W-K. Bao, and N. Wu. 2009. Dormancy and germination in *Rosa multibracteata* Hemsl. & E. H. Wilson. Sci. Hortic. 119:434-441.