بررسی اثر زمان، میزان و نحوه اعمال تنظیم‌کننده‌های رشد بنزیل آمینو پورین و اسید جیبرلیک بر شکستن خواب بذر گیاه کرفس کوهی

ساره ظفریان* و سعدالله هوشمند[۱]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۲/۱۶ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۱/۱۸)

چکیده

کرفس کوهی (*Kelussia odoratissima* M.) یکی از گیاهان دارویی مهم خانواده چتریان و بومی دامنه رشته کوه‌های زاگرس است که به‌علت برداشت‌های غیرمجاز در معرض انقراض می‌باشد. به منظور تسریع در شکستن خواب بذر این گیاه، آزمایشی در دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی به اجرا در آمد. بذر کرفس کوهی منطقه سرآقاسید، تحت تأثیر سه عامل مدت زمان (۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ روز پس از کشت)، ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد بنزیل آمینو پورین (BAP) (با غلظت صفر، ۰/۷۵ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) و اسید جیبرلیک (GA_3) (با غلظت صفر، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و نحوه اعمال تنظیم‌کننده‌های رشد (به دو صورت خیساندن بذرها در محلول هورمونی و اعمال هورمون به‌طور مستقیم در محیط کشت) قرار گرفت. در این آزمایش، ویژگی‌های درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و طول محور زیر لپه بررسی شد. نتایج نشان داد که مدت زمان ۱۰۰ روز پس از کشت به‌طور معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۱) در هر سه صفت بیشترین میزان را داشت. به‌طوری‌که میزان جوانه‌زنی ۸۶/۹۴ درصد، طول ریشه‌چه ۹/۴۳ سانتی‌متر و طول محور زیر لپه ۱۱/۶۴ سانتی‌متر بود. ضمن این‌که اثر متقابل عوامل معنی‌دار نبودند. بهترین ترکیب تیماری برای افزایش صفات درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و سرعت جوانه‌زنی، ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد BAP با غلظت ۰/۷۵ mg/L و GA_3 با غلظت ۵۰۰ mg/L و اعمال تنظیم‌کننده‌های رشد به‌طور مستقیم در محیط کشت است. برای افزایش صفت طول محور زیر لپه نیز تنها ترکیب GA_3 با غلظت ۵۰۰ mg/L توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول محور زیر لپه

۱. گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

* : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: sare_zafarian@yahoo.com

مقدمه

کرفس کوهی با نام علمی *Kelussia odoratissima* M. و نام محلی کلوس، گیاهی چند ساله، از خانواده چتریان است. این گیاه مرتعی و بومی ایران در دامنه رشته کوه‌های زاگرس می‌روید، از دیدگاه اقتصادی، اکولوژیک و تنوع زیستی دارای اهمیت فراوان است و آثار درمانی فراوانی برای آن گزارش شده است. این گیاه دارویی، دارای اثر ضد درد، ضد التهاب، آرام‌بخش و ضد سرفه می‌باشد (۸) و در درمان سرماخوردگی، رماتیسم، چربی خون، فشار خون و ناراحتی‌های قلبی و عروقی استفاده می‌شود (۱). هم‌چنین به‌علت عطر و اسانس خوبی که کرفس کوهی دارد، می‌توان از آن در صنایع غذایی و بهداشتی استفاده کرد. از دیدگاه اکولوژیک، این گیاه با ایجاد تاج، پوشش وسیع و ریشه ضخیم خود باعث حفاظت خاک شده و از فرسایش خاک جلوگیری می‌کند. بنابراین، می‌تواند تأثیر به‌سزایی در حفظ آب و خاک نیز ایفا کند (۸). اما متأسفانه به علت برداشت غیرمجاز، در معرض انقراض می‌باشد. به‌طوری‌که گزارش شده که بیش از ۹۰٪ از رویشگاه‌های گیاه مزبور از بین رفته است (۱۳).

یکی از جنبه‌های مورد بررسی در جلوگیری از انقراض، شرایط مورد نیاز برای جوانه‌زنی و تعیین نیازهای اکولوژیک گیاه است (۹). به منظور سرعت بخشیدن به جوانه‌زنی می‌توان بذرها را تحت تیمارهای مختلف قرار داد و مناسب‌ترین شرایط را برای شکستن خواب بذر در هر گونه مشخص کرد (۱۸). مطالعات انجام شده روی گونه‌های خانواده چتریان، مواد بازدارنده شیمیایی را به‌عنوان عامل اصلی در عدم جوانه‌زنی و یکنواختی بذر دانستند (۱۲). مواد بازدارنده درونی در خواب بذرهایی که احتیاج به سرما دارند نقش مهمی ایفا می‌کنند (۲۸). در بسیاری از بذرهای نیازمند سرما، سرمادهی باعث افزایش میزان تولید هورمون‌های محرک رشد می‌شود (۱۶)، به‌طوری‌که به کاهش مقادیر آبسیزیک اسید و افزایش GA_3 در بذر منجر شده و جوانه‌زنی را تحریک می‌کند. به همین دلیل، کاربرد جیبرلین خارجی، طول دوره سرمای مورد نیاز این بذرها را کاهش می‌دهد (۵). استفاده از اسید جیبرلیک (GA_3) برای کنترل خواب اولیه بذرها پیشنهاد شده و از آن به‌عنوان محرک جوانه‌زنی یاد می‌شود (۶). استفاده از GA_3 جوانه‌زنی دانه‌های تیره چتریان و سایر تیره‌های گیاهی که در جوانه‌زنی به نور و سرما احتیاج دارند را تسهیل می‌نماید (۶، ۱۰ و ۱۱). محققین دیگر نیز بر تأثیر اسید جیبرلیک بر جوانه‌زنی بذرهای گونه‌های مختلف از سایر تیره‌های گیاهی تأکید نموده‌اند (۶، ۷، ۱۰، ۱۱ و ۳۰). سایتوکینین‌ها نیز در برطرف نمودن خواب بذرها مؤثرند (۲۱). مثلاً، سایتوکینین‌ها باعث تسریع خواب‌شکنی بذر کرفس زراعی می‌شوند (۳ و ۲۵). نبئی و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که این هورمون‌ها در افزایش درصد جوانه زنی بذر ریواس مؤثرند (۲۰). در بررسی زمانی (۳۱) به منظور شکستن خواب بذر آنغوزه، تیمار ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون BAP به همراه ۲۸ روز سرمادهی، بهترین تیمار تشخیص داده شد. پژوهش حاضر به منظور بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد بنزیل آمینو پورین و اسید جیبرلیک و نحوه اعمال این هورمون‌های گیاهی در شکست خواب بذر گیاه کرفس کوهی اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در آذر ماه سال ۱۳۸۹ در دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد، به منظور شکستن خواب بذر گیاه کرفس کوهی، از توده سرآقاسید، از توابع استان چهارمحال و بختیاری، جمع‌آوری شده در سال ۱۳۸۸ (تهیه شده از منابع طبیعی فارسان) انجام شد. به منظور آماده‌سازی بذرها، پس از حذف ناخالصی‌ها، جهت حذف بذرهای پوک، بذرها به‌مدت ۳۰ دقیقه در بشر حاوی آب مقطر ریخته و هر ۱۰ دقیقه هم زده شدند و نهایتاً بذرهایی که پس از ۳۰ دقیقه در سطح آب باقی ماندند، حذف گردیدند. جهت حذف آلودگی‌های سطحی، بذرها چند مرتبه با آب معمولی شسته شده و به‌مدت ۱۰ دقیقه روی همزن مغناطیسی قرار داده شدند. به منظور شستشوی مواد بازدارنده و کاهش مقاومت پوسته بذر، بذرها به‌مدت ۲۴ ساعت در برابر

جریان آب قرار گرفتند. پس از آن، مجدداً به‌مدت ۱۰ دقیقه روی همزن مغناطیسی حاوی آب مقطر قرار داده شدند. جهت ضدعفونی بذرها از یک روش سه مرحله‌ای شامل: ۱) قرار دادن بذرها به‌مدت یک دقیقه در اتانول ۷۰٪، ۲) انتقال آنها به محلول هیپوکلرید سدیم ۱۰٪ به‌مدت ۱۰ دقیقه همراه با تکان شدید دستی و ۳) پنج مرتبه شستشو با آب مقطر استریل، هر بار به‌مدت ۵ دقیقه، در زیر هود لامینار استفاده شد (۸). پس از آن بذرهای ضدعفونی شده، با گاز استریل خشک گردیدند. در این آزمایش، به بررسی اثر فاکتورهای زمان (چهار دوره زمانی ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ روز پس از کشت)، دو هورمون BAP در سه غلظت (صفر، ۰/۷۵ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) و GA_3 در سه غلظت (صفر، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و نحوه اعمال هورمون (به دو صورت خیساندن بذرها پس از ضدعفونی به‌مدت ۲۴ ساعت در محلول هورمونی و اعمال هورمون به‌طور مستقیم در محیط کشت)، پرداخته شد.

آزمایش به‌صورت فاکتوریل، در قالب طرح کاملاً تصادفی، با ۴ تکرار اجرا شد. هر واحد آزمایشی شامل یک پتری‌دیش استریل با قطر ۹ و ارتفاع ۱/۵ سانتی‌متر بود. به‌دلیل حساسیت بذرهای کرفس کوهی به قارچ‌کش و عدم استفاده از آن، سعی گردید با ایجاد فاصله بین بذرها از انتقال آلودگی احتمالی تا حد زیادی جلوگیری گردد و لذا تعداد ۱۵ بذر در هر پتری‌دیش کشت شد.

به‌علت طولانی بودن زمان شکسته شدن خواب بذر، تهیه بستر مناسب مهم است، چرا که نیاز به دفعات مکرر آبیاری و باز شدن درب پتری‌ها باعث بالا رفتن میزان آلودگی می‌شود. بنابراین، از محیط کشت اتوکلاو شده حاوی آب مقطر و آگار به میزان ۶ گرم در لیتر استفاده شد. از آنجا که هورمون GA_3 جزو هورمون‌هایی است که قابلیت اتوکلاو شدن ندارد (۳۱)، در اعمال تیمارهای هورمون به‌صورت خیساندن و به‌طور مستقیم، پس از اتوکلاو نمودن محیط کشت حاوی آب مقطر، آگار و هورمون BAP، زمانی‌که دمای محلول به ۴۰ درجه سلسیوس رسید هورمون GA_3 با استفاده از فیلتراسیون و در زیر هود لامینار به محلول اضافه شد. نهایتاً، پس از کشت، درب پتری‌ها با پارافیلم مسدود و به یخچال با دمای ۴ درجه سلسیوس منتقل و نگهداری شدند.

درصد جوانه‌زنی و خروج ریشه‌چه به طول یک میلی‌متر معیار جوانه‌زنی قرار گرفت و درصد جوانه‌زنی بر مبنای نسبت تعداد بذر جوانه‌زده به تعداد کل بذرها به‌دست آمد (۲۴). سرعت جوانه‌زنی براساس فرمول $[\sum(n/t)]/N$ اندازه‌گیری شد (۱۷)، که در آن n = تعداد بذرهایی که جدیداً در زمان t جوانه زده‌اند، t= تعداد روز پس از کاشت و N = تعداد کل بذر. طول ریشه‌چه (فاصله انتهای ریشه‌چه تا ابتدای محور زیر لپه) و طول محور زیر لپه (فاصله انتهای محور زیر لپه تا ابتدای دمبرگ) با استفاده از کولیس دیجیتال و برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری گردیدند.

داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS 9.0 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. جهت رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel 2007 استفاده شد و مقایسه میانگین‌ها با آزمون فیشر، LSD انجام‌گردید.

نتایج و بحث

در این بررسی، هیچ یک از بذرها در زمان ۲۵ روز پس از کشت جوانه نزدند. لذا از تجزیه و تحلیل آماری کنار گذاشته شدند. نتایج حاصل برای صفات درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول محور زیر لپه در ۴ دوره زمانی و سرعت جوانه‌زنی پس از طی ۱۰۰ روز پس از کشت در زیر شرح داده خواهند شد.

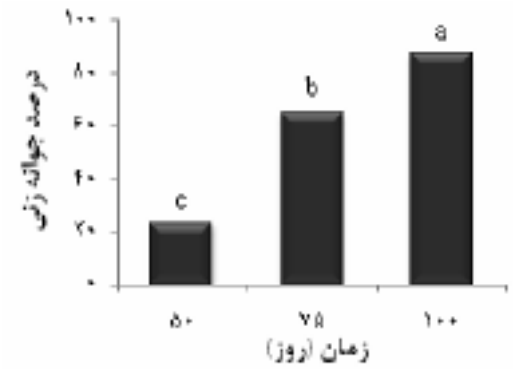
درصد جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان می‌دهد که درصد جوانه‌زنی به‌طور معنی‌داری ($P<0/01$) تحت تأثیر عوامل زمان، هورمون و نحوه اعمال هورمون قرار گرفت ولی هیچ یک از اثرهای متقابل این عوامل بر درصد جوانه‌زنی معنی‌دار نشدند.

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس عوامل مورد بررسی بر صفات درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و طول محور زیرلپه

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		درصد جوانه‌زنی	طول ریشه‌چه	طول محور زیر لپه
زمان (A)	۲	۷۴۶۵۸/۳۲ **	۱۱۴۷/۶۲ **	۲۴۸۳/۸۴ **
هورمون (B)	۸	۶۲۲/۷۹ **	۳/۹۳ *	۲/۸۷ *
نحوه اعمال هورمون (C)	۱	۱۱۲۶/۸۲ **	۸/۴۳ *	۳/۶۷ ns
A* B	۱۶	۱۴۴/۳۵ ns	۰/۹۱ ns	۰/۸۴ ns
A* C	۲	۱۵/۰۲ ns	۰/۲۹ ns	۰/۴۶ ns
B* C	۸	۴۹/۹۰ ns	۰/۱۷ ns	۰/۴۷ ns
A* B*C	۱۶	۹ ns	۰/۱۷ ns	۰/۳۹ ns
خطا	۱۶۲	۱۲۵/۷۸	۱/۶۷	۱/۲
Cv		۱۹/۱۸	۲۶/۳۱	۲۱/۷۷

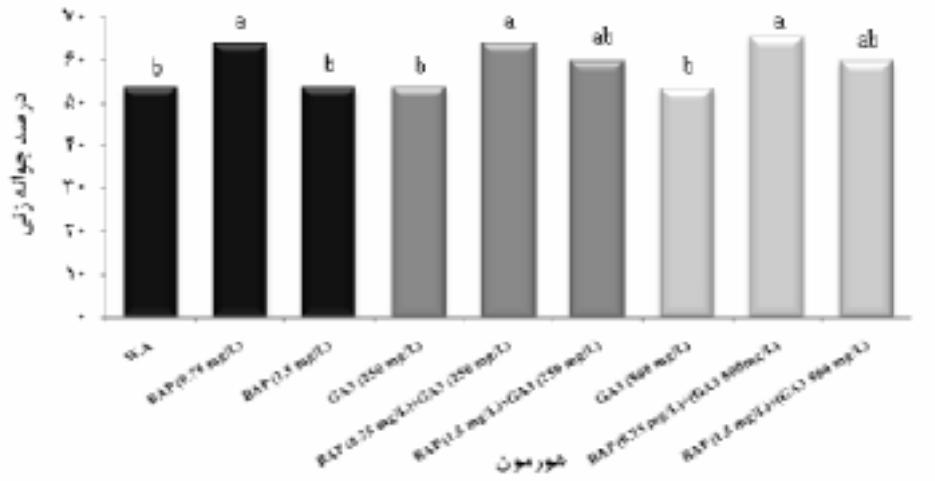
**، * و ns: به‌ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۱٪ و ۵٪ و بدون اختلاف معنی‌دار



شکل ۱. تأثیر زمان بر میانگین درصد جوانه‌زنی بذر. حروف غیریکسان بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار در آزمون ($LSD_{0.01}$= ۴/۸۷) است.

مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی در زمان‌های مختلف (شکل ۱) بیانگر روند افزایشی و معنی‌دار گذشت زمان بر درصد جوانه‌زنی است. کمترین درصد جوانه‌زنی (۲۳/۵۱ درصد) مربوط به ۵۰ روز پس از کشت است و با گذشت زمان به ۱۰۰ روز، درصد جوانه‌زنی به حداکثر مقدار (۸۶/۹۴ درصد) رسید. در گونه *Chaerophyllum temulum* که هم‌خانواده کرفس کوهی است نیز رشد جنین فقط در یک دوره سرمادهی طولانی در دمای ۵ درجه سلسیوس اتفاق می‌افتد و استفاده از GA_3 در دمای ۲۳ درجه سلسیوس نمی‌تواند نیاز سرمایی بذر برای جوانه‌زدن را برطرف نماید (۲۷).

مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی در ترکیبات مختلف هورمونی در شکل ۲ آورده شده است. هورمون BAP با غلظت ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر در ترکیب با هر سه غلظت هورمون GA_3 (صفر، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بیشترین میزان جوانه‌زنی را دارد و بیشترین این مقدار را هورمون BAP با غلظت ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر در ترکیب با GA_3 در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر و با ۶۵/۲۷ درصد داراست. هورمون BAP با غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر نیز در شرایط ترکیب با هورمون

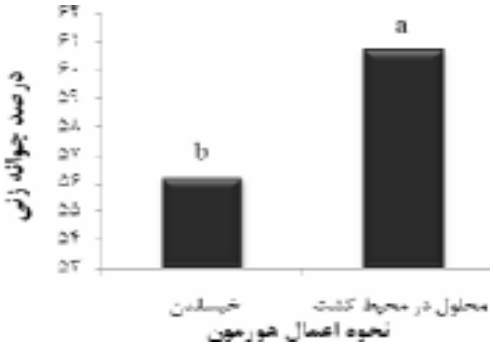


شکل ۲. تأثیر هورمون بر میانگین درصد جوانه‌زنی بذر. حروف غیریکسان بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار در آزمون ($LSD_{0.01}$= ۸/۴۳) است.

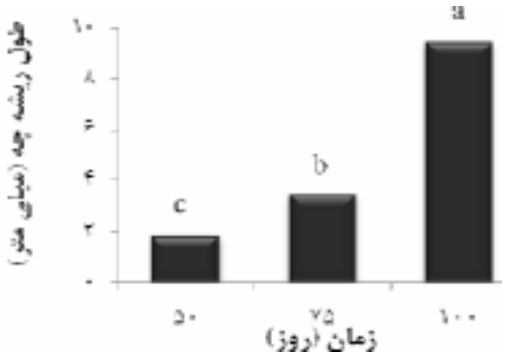
GA_3 (با غلظت ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) باعث افزایش درصد جوانه‌زنی گردید و به تنهایی میزان جوانه‌زنی کمتری دارد. کمترین درصد جوانه‌زنی ۵۳/۳۳ درصد است که مربوط به هورمون GA_3 در هر دو غلظت ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر است، و نشان‌دهنده عدم تأثیر این هورمون بر افزایش جوانه‌زنی بذرهای کرفس کوهی است. در آزمایشی که نبئی و همکاران (۲۰) روی شکستن خواب بذر ریواس انجام دادند، اشاره شده که با افزایش مدت زمان سرما، مرتباً به‌طور صعودی بر میزان جوانه‌زنی افزوده شده است. هم‌چنین، در این آزمایش، هورمون کینتین که نوعی سایتوکینین است باعث افزایش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی شد. تأثیر تلفیقی اسید جیبرلیک و سرمادهی مرطوب بر شکستن خواب بذر این گیاه نیز افزایش معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی نشان داد (۲۰). در حالی‌که این هورمون تأثیر معنی‌داری بر افزایش جوانه‌زنی بذر کرفس کوهی نشان نداده است (۲۶). مطالعات نشان می‌دهد که سایتوکینین‌ها باعث افزایش فعالیت جیبرلین در سیستم بذر کرفس زراعی شده و منجر به تسریع خواب‌شکنی آن می‌شود (۳ و ۲۵). والک و هدایتی (۲۹) در مطالعات خود دریافتند که حضور GA_3 جانشین مناسبی برای سرما در خواب بذرهای گونه *Osmorhiza depauperata* نمی‌باشد. برای جوانه‌دار کردن بذرهای گلپر نیز GA_3 محرک خوبی برای جوانه‌زنی بذرها نیست (۱۹). اگر تنها اثر سرما، افزایش میزان GA_3 در بذر بود، استفاده از GA_3 خارجی باید باعث سرعت بخشیدن به خواب‌شکنی بذر می‌گردید. ولی همان‌گونه که توضیح داده شد، در مورد کرفس کوهی، استفاده از این هورمون هیچ تأثیر مثبتی بر جوانه‌زنی بذر نداشته است. بنابراین، سرما علاوه بر افزایش GA_3 درون‌زاد و تحریک رشد جنین تکامل نیافته، نقش مهمی در تهیه محرک‌های لازم برای برطرف نمودن خواب بذر ایفا می‌کند که هنوز برای ما آشکار نشده است (۴).

همان‌طورکه در شکل ۳ مشاهده می‌شود، میزان جوانه‌زنی در دو حالت نحوه اعمال هورمون مورد بررسی تفاوت معنی‌داری نشان می‌دهد. به‌طوری‌که بذرهای خیسانده شده در هورمون به‌مدت ۲۴ ساعت، میزان جوانه‌زنی کمتر (۵۶/۱۷ درصد) و بذرهای کشت شده در محیط کشت حاوی هورمون با ۶۰/۷۳ درصد، میزان جوانه‌زنی بیشتری را نشان می‌دهند. این نتیجه می‌تواند به‌دلیل وجود مستقیم هورمون در محیط کشت و استفاده از آن توسط بذرها طی مدت آزمایش باشد.

زمانی (۲۰۰۸) برای شکستن خواب بذر گیاه آنغوزه از ترکیب هورمونی BAP و GA_3 به‌صورت محلول در محیط کشت (۳۱) و ولی وند (۲۶) برای شکستن خواب بذر کرفس کوهی از هورمون GA_3 به‌صورت خیساندن بذرها در محلول به‌مدت ۲۴ ساعت استفاده کردند.



شکل ۳. تأثیر نحوه اعمال هورمون بر میانگین درصد جوانه‌زنی بذر. حروف غیریکسان بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار در آزمون ($LSD_{0.01}$=۳/۹۷) است.



شکل ۴. تأثیر زمان بر میانگین طول ریشه‌چه بذر. حروف غیریکسان بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار در آزمون ($LSD_{0.01}$=۰/۵۶) است.

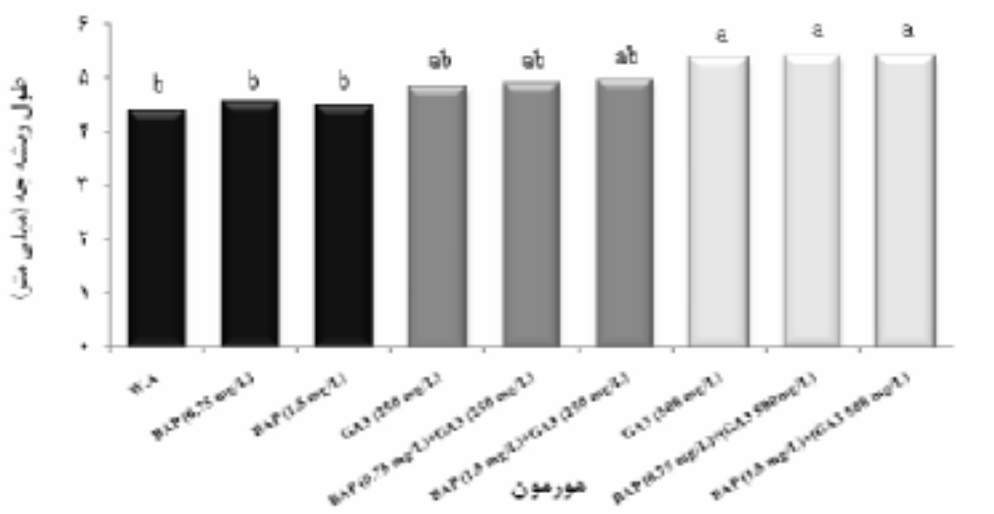
طول ریشه‌چه

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) بیانگر تأثیر معنی‌دار عوامل زمان ($P<$۰/۰۱)، هورمون و نحوه اعمال هورمون ($P<$۰/۰۵) بر طول ریشه‌چه می‌باشد. مقایسه میانگین مدت زمان بر طول ریشه‌چه حاکی از تأثیر معنی‌دار این تیمار بر این صفت است (شکل ۴).

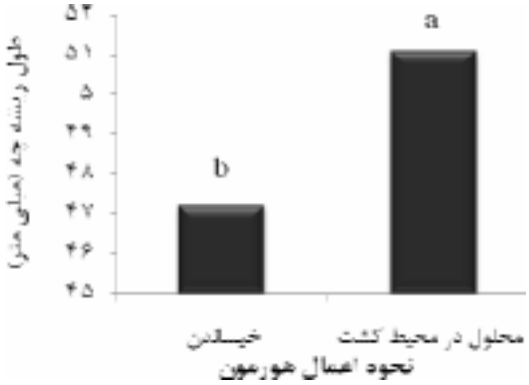
در این مقایسه، میانگین کوتاه‌ترین طول ریشه‌چه مربوط به زمان ۵۰ روز پس از کشت و بلندترین طول ریشه‌چه مربوط به ۱۰۰ روز پس از کشت است که به‌ترتیب ۱/۸۳ و ۹/۴۳ میلی‌متر می‌باشند. افزایش طول دوره سرمادهی مرطوب به‌عنوان عاملی محرک باعث افزایش سنتز GA_3 در بذرها می‌شود (۲۲). لذا افزایش طول دوره سرمادهی بذرها باعث افزایش طول ریشه‌چه می‌گردد.

تأثیر هورمون GA_3 بر افزایش طول ریشه‌چه در نمودار مقایسه میانگین ۵ کاملاً مشهود است. به‌طوری‌که با افزایش غلظت این هورمون، طول ریشه‌چه روند افزایشی نشان می‌دهد. در حالی‌که هورمون BAP تأثیر معنی‌داری بر طول ریشه‌چه ندارد. به‌طورکلی، کوتاه‌ترین طول ریشه‌چه مربوط به شاهد و بلندترین طول مربوط به ترکیب GA_3 با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر و BAP با غلظت ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد که به‌ترتیب برابر ۴/۳۸ و ۵/۴۳ میلی‌متر است. GA_3 هورمونی است که به سرعت تقسیم سلولی را به‌صورت طولی افزایش می‌دهد (۱۴). در بررسی ولی وند (۲۶) نیز هورمون GA_3 به تنهایی باعث افزایش طول ریشه‌چه گیاه کرفس کوهی شد.

شکل ۶ مربوط به مقایسه میانگین نحوه اعمال هورمون بر طول ریشه‌چه است که نشان‌دهنده برتری اعمال هورمون



شکل ۵. تأثیر هورمون بر میانگین طول ریشه‌چه بذر. حروف غیریکسان بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار در آزمون ($LSD_{0.05}$=۰/۷۳) است.



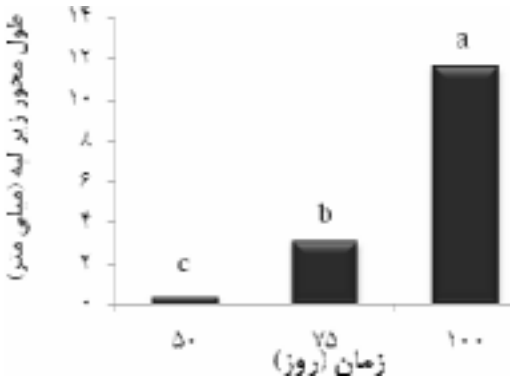
شکل ۶. تأثیر نحوه اعمال هورمون بر میانگین طول ریشه‌چه بذر. حروف غیریکسان بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار در آزمون ($LSD_{0.05}$=۰/۳۴) است.

به‌صورت محلول در محیط کشت است. به‌طوری‌که ریشه‌چه‌های بلندتر با میانگین ۵/۱۱ میلی‌متر مربوط به این تیمار است و تیمار خیساندن بذر در هورمون ریشه‌چه‌های کوتاه‌تری با میانگین طولی ۴/۷۲ میلی‌متر تولید کردند، که می‌توان گفت دسترسی مداوم بذر به هورمون می‌تواند علت آن باشد.

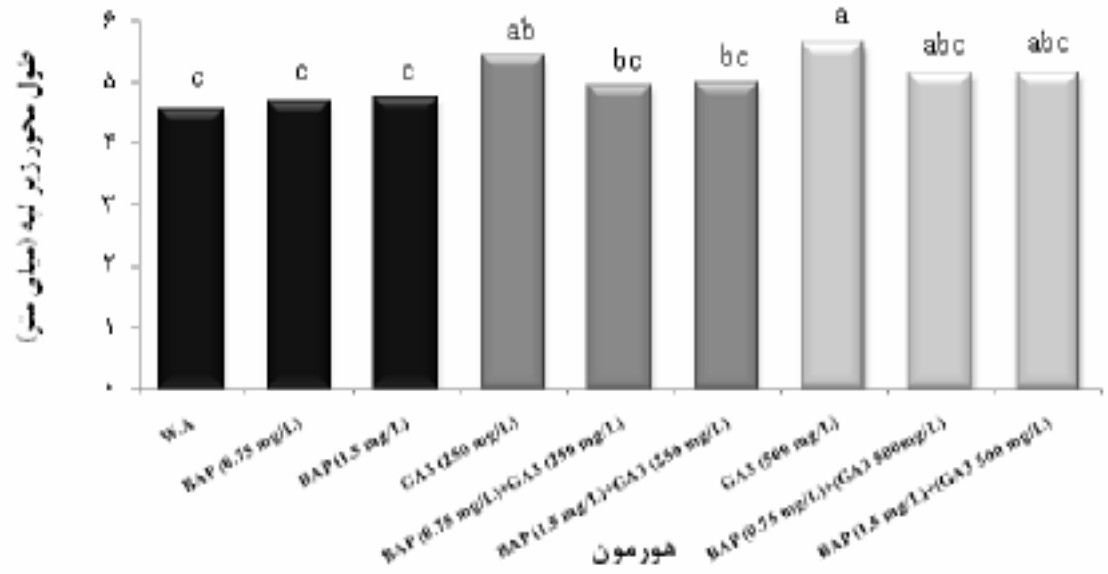
طول محور زیر لپه

نتایج تجزیه واریانس طول محور زیر لپه (جدول ۱) نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار زمان در سطح ۱٪ و هورمون در سطح ۵٪ بر این صفت می‌باشد. مقایسه میانگین زمان بر طول محور زیر لپه (شکل ۷) نشان می‌دهد که افزایش مدت زمان، بلند شدن طول محور زیر لپه را در پی دارد.

در این مقایسه، میانگین کمترین و بیشترین طول محور زیر لپه به‌ترتیب مربوط به‌مدت زمان ۵۰ روز پس از کشت با میانگین ۰/۳۸ میلی‌متر و ۱۰۰ روز پس از کشت با میانگین ۱۱/۶۴ میلی‌متر می‌باشند. افزایش طول دوره سرمادهی به‌دلیل افزایش میزان تولید هورمون‌های محرک رشد نظیر اسید جیبرلیک و سایتوکینین‌ها (۱۶) و هم‌چنین وجود این دو هورمون در این آزمایش، باعث افزایش رشد محور زیر لپه گردیده است.



شکل ۷. تأثیر زمان بر میانگین طول محور زیر لپه بذر. حروف غیریکسان بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار در آزمون ($LSD_{0.01}$=۰/۴۷) است.



شکل ۸. تأثیر هورمون بر میانگین طول محور زیر لپه بذر. حروف غیریکسان بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار در آزمون ($LSD_{0.05}$=۰/۶۲) است.

با مقایسه میانگین هورمون بر طول محور زیر لپه (شکل ۸) نیز کمترین و بیشترین طول محور زیر لپه مشخص شده است که به‌ترتیب مربوط به تیمار شاهد (۴/۵۶ میلی‌متر) و تیمار هورمونی GA_3 با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر (۵/۶۳ میلی‌متر) می‌باشند. نکته‌ای که در اینجا مشهود است، برتری هورمون GA_3 در هر دو غلظت ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به‌حالت ترکیبی این هورمون با همین غلظت‌ها با هورمون BAP است. به‌طورکلی، هورمون BAP تأثیر معنی‌داری بر طول محور زیر لپه ندارد. ولی افزایش غلظت هورمون GA_3 باعث افزایش طول محور زیر لپه گیاه کرفس کوهی می‌شود. این نتیجه با بررسی ولی‌وند (۲۶) روی همین گیاه هم‌خوانی دارد. GA_3 منجر به افزایش تقسیمات سلولی و طویل‌تر شدن سلول می‌گردد. این هورمون هم‌چنین باعث افزایش انعطاف‌پذیری دیواره سلولی شده (۲) و اثر مثبتی بر افزایش طول گیاه دارد (۱۵ و ۲۳).

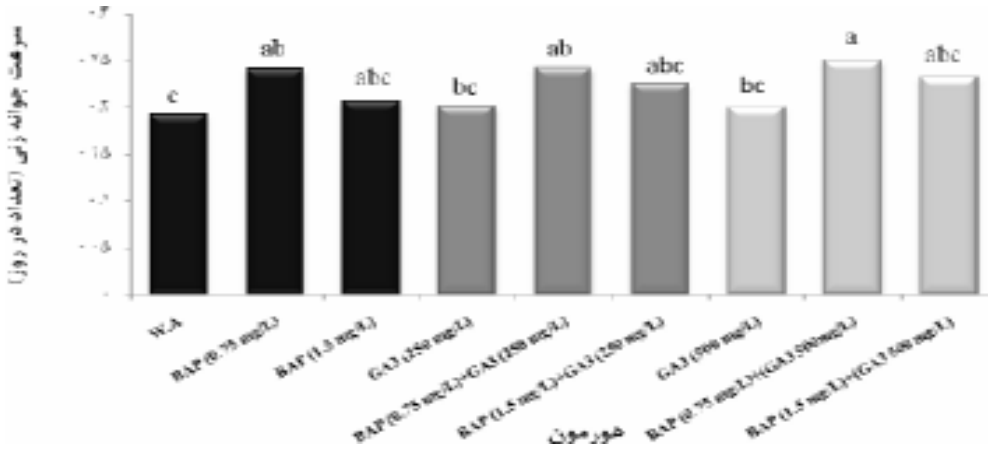
سرعت جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) تأثیر معنی‌دار هورمون

جدول ۲. تجزیه واریانس عوامل مورد بررسی بر سرعت جوانه‌زنی

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
هورمون	۸	۰/۰۰۳۷**
نحوه اعمال هورمون	۱	۰/۰۰۷۷*
هورمون× نحوه اعمال هورمون	۸	۰/۰۰۰۲^{ns}
خطا	۵۴	۰/۰۰۱۲
Cv		۱۵/۷۴

**، * و ns: به‌ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۱٪ و ۵٪ و بدون اختلاف معنی‌دار



شکل ۹. تأثیر هورمون بر میانگین سرعت جوانه‌زنی بذر. حروف غیریکسان بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار در آزمون ($LSD_{0.01}$=۰/۰۴۶) است.

($P <$۰/۰۱) و نحوه اعمال هورمون (۰/۰۵> P) را بر سرعت جوانه‌زنی نشان می‌دهد.

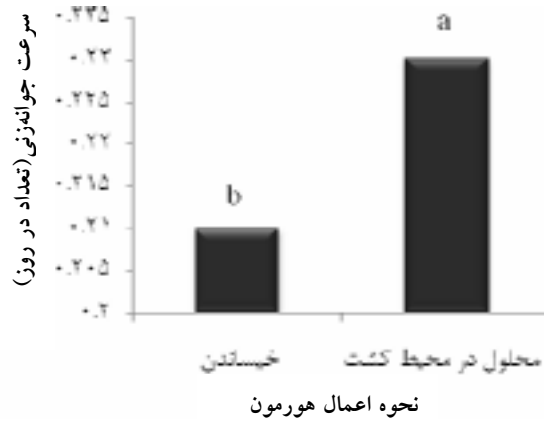
مقایسه میانگین تأثیر هورمون بر سرعت جوانه‌زنی (شکل ۹) نشان می‌دهد که وجود هورمون BAP باعث افزایش معنی‌داری در سرعت جوانه‌زنی می‌شود و به‌طور کلی این هورمون با غلظت ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر برتری دارد.

هورمون GA_3 به تنهایی تأثیر معنی‌داری بر این صفت نشان نمی‌دهد. در این شکل، تیمار شاهد با سرعت جوانه‌زنی ۰/۱۹۲ عدد در روز کمترین و هورمون BAP با غلظت ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر در ترکیب با هورمون GA_3 با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر و با ۰/۲۵ عدد در روز بیشترین سرعت جوانه‌زنی را دارد. تیمار بذر با سایتوکنین باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی در بذر ریواس شده است (۲۰).

تأثیر معنی‌دار نحوه اعمال هورمون بر سرعت جوانه‌زنی در شکل ۱۰ مشخص است. طبق این نمودار، خیساندن بذرها در هورمون نسبت به محلول در محیط کشت سرعت جوانه‌زنی کمتری دارد و برابر ۰/۲۱ عدد در روز است. در حالی‌که در شرایط محلول در محیط کشت ۰/۲۳ عدد در روز می‌باشد.

نتیجه‌گیری

در این آزمایش، کلیه صفات در زمان ۱۰۰ روز پس از کشت بهترین عملکرد را داشتند. در حضور ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر BAP، درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی میزان بیشتری نشان دادند و اعمال هورمون GA_3 با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش طول ریشه‌چه و محور زیر لپه شد. هم‌چنین، در شرایط هورمون محلول در محیط کشت، درصد جوانه‌زنی،



شکل ۱۰. تأثیر نحوه اعمال هورمون بر میانگین سرعت جوانه‌زنی بذر. حروف غیریکسان بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار در آزمون ($LSD_{0.05}$=۰/۰۱۶) است.

سرعت جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه به‌طور معنی‌داری عملکرد بهتری داشتند. به‌طورکلی، بهترین ترکیب تیماری توصیه شده برای بهبود و افزایش کلیه صفات مربوط به ترکیب هورمون BAP با غلظت 0.75 mg/L، هورمون GA3 با غلظت 500 mg/L و اعمال هورمون به‌طور مستقیم در محیط کشت است که با افزایش زمان این صفات روند صعودی داشتند.

منابع مورد استفاده

1. Ahmadi, F. 1384. The effect of antioxidant *Kelussia odoratissima* on the several model systems in sunflower oil with the identification of aromatic compounds. MSc. Thesis, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran. (In Farsi).
2. Bagheri, H. and P. Azadi. 2002. Plant Tissue Culture, Techniques and Experiments. Jihad-e- Mashhad University. (In Farsi).
3. Biddington, N. L. and T. H. Thomas. 1978. Thermodormancy in celery seed and its removal by cytokinins and gibberellins. *Physiologia Plantarum* 42(4): 401-405.
4. Bretzloff, L.V. and N. E. Pellett. 1979. Effect of stratification and gibberellic acid on the germination of *Carpinus caroliniana* Walt. *Scientia Horticulturae* 14(5): 621-622.
5. Chiwocha, S. D., A. J. Cutler, S. R. Abrams, S. J. Ambrose, J. Yang, A. R. Ross and A. R. Kermode. 2005. The mutation in *Arabidopsis thaliana* affects the abscisic acid, auxin, cytokinin and gibberellin metabolic pathways during maintenance of seed dormancy, moist chilling and germination. *Plant Journal* 42: 35-48.
6. Eastmond, P. J. and R. Jones. 2005. Hormonal regulation of gluconeogenesis in cereal aleurone is strongly cultivar-dependent and gibberellins action involves SLENDER1 but not GAMYB. *Plant Journal* 44: 483-493.
7. El-Dengawy, E. F.A. 2005. Promotion of seed germination and subsequent seedling growth of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl) by moist-chilling and GA3 applications. *Scientia Horticulturae* 105: 331-342.
8. Forozandeh, A. 1386. The study practical methods of production and crop cultivation of *Kelussia odoratissima* M. (Klose). Management and Planning Organization of Chahar Mahal & Bakhtiyari. (In Farsi).
9. Jaberolansar, Z. 2005. Evaluation of genetic diversity of the KOM using chromosomal characteristics and traits of seed germination. MSc Thesis, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.
10. Gupta, V. 2003. Seed germination and dormancy breaking techniques for indigenous medicinal and aromatic plants. *Journal of Medicinal and Aromatic Plants Science* 25: 402-407.
11. Hairong, W., G. Dongsheng and L. Xianli. 2005. Effects of plant growth regulators on content of phenolics in sweet cherry dormant flower buds and seed dormancy. *Acta Horticulturae* 32: 584-588.
12. 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.
13. Khademi, K. 1387. Klose. http://kelussia.blogfa.com/.
14. Khoshkhoi, M., B. Sheibani, A. Rohani and A. A. Tafazoli. 2004. Principles of Horticulture. Shiraz University Publications.

15. Lahouti, M., M. Zare Hassan Abadi and R. Ahmadiyan. 2003. Biochemistry and Physiology of Plant Hormones. Ferdowsi University Publications.
16. Madam, B., M. Rahemi, A. Mousavi and P. Martinez-Gómez. 2011. Evaluation of the behavior of native Iranian almond species as rootstocks. *International Journal of Nuts and Related Sciences* 2(3): 29-34.
17. Maguire, J. D. 1962. Speed of germination in selection and evolution for seeding vigor. *Crop Science* 2: 176-177.
18. Mahmoodzadeh, A., M. V. Nojavan and Z. Bagheri. 1382. The effect of different treatments on seeds dormancy and germination of wild pigweed seeds. *Shahid Chamran University of Ahvaz* 25: 13-26.
19. Moravcova, L., I. Perglova, P. Pysek, V. Jarosik and J. Pergl. 2005. Effects of fruit position on fruit mass and seed germination in the alien species *Heracleum mantegazzianum* (Apiaceae) and the implications for its invasion. *Acta Oecologica* 28:1-10.
20. Nabaei, M., P. Roshandel and A. Mohammadkhani. 2011. Effective techniques to break seed dormancy and stimulate seed germination in *Rheum ribes* L. *Iranian Journal of Medical and Aromatic Plants* 27 (2): 212-223.
21. Naidu, C. V. and G. Rajendrudu. 2001. Influence of kinetin and nitrogenous salts on seed germination of red sanders (*Pterocarpus santalinus*). *Seed Science and Technology* 29: 669-672.
22. Powell, L.E. 1987. Hormonal aspects of bud and seed dormancy in temperate-zone woody plants. *HortScience* 22: 845-850.
23. Salehi Eskandari, B. and M. Kharati kawaii. 2002. Review of Plant Physiology. Hayat Nasir Institute.
24. Scott, S. J., R. A. Jones and W. A. Williams. 1984. Review of data analysis methods for seed germination. *Crop Science* 24: 1192-1199.
25. Thomas, T. H. and J. Y. Staden. 1995. Dormancy break of celery (*Apium graveolens* L.) seeds by plant derived smoke extract. *Plant Growth Regulation* 17: 195-198.
26. Valivand, M. 2009. Steady seed dormancy and effect of priming on germination seeds of *Kelussia odoratissima* M. MSc. Thesis, Shahrekord University, Shahrekord, Iran. (In Farsi).
27. Vandelook, F., N. Bolle and J. A. Van Assche. 2007. Seed dormancy and germination of the. European *Chaerophyllum temulum* (Apiaceae), a member of a Trans-Atlantic Genus. *Annals of Botany* 100(2): 233-239.
28. Villiers, T. A. 1978. Dormancy and the Survival of Plants. Edward Arnold Publisher, Ltd., London.
29. Walck, J. L. and S. N. Hidayati. 2004. Germination ecophysiology of the Western North American species *Osmorhiza deuperata* (Apiaceae): Implications of preadaptation and phylogenetic niche conservatism in seed dormancy evolution. *Seed Sciences Research* 14: 387-394.
30. Walck, J. L., S. N. Hidayati and N. Okagami. 2002. Seed germination ecophysiology of the Asian species *Osmorhiza aristata* (Apiaceae): Composition with its North America congeners and implication for evolution of type of dormancy. *American Journal of Botany* 89: 829-835.
31. Zamani, A. 2008. Mass production of medicinal plants of *Ferula gommusa* using tissue culture techniques. MSc. Thesis, Shahrekord University, Shahrekord, Iran. (In Farsi).