Iranian Journal of
Seed Science and Technology
Vol.: 6, No.: 2, Autumn and Winter 2018
(pp: 257-266)
DOI: 10.22034/ijsst.2018.116810

"نشریه علوم و فناوری بذر ایران"
جلد ششم، شماره ۲، پاییز و زمستان ۹۶
(ص ۲۶۶-۲۵۷)

بررسی برهمکنش سرمادهی مرطوب و اسید جیبرلیک بر شکست خواب و جوانه‌زنی بذر لاله واژگون *Fritillaria imperialis*

زینب آقابابانژاد[۱]، علی عباسی سورکی[۲*]، پژمان طهماسبی[۲]

۱- کارشناس ارشد مرتعداری دانشگاه شهرکرد
۲- اعضای هیات علمی دانشگاه شهرکرد
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۸/۱۹ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۲/۲۶)

چکیده

با توجه به محدودیت‌های تکثیر گیاه لاله واژگون به روش کشت بافت، فلس‌برداری و تقسیم سوخ، تکثیر به‌وسیله‌ی بذر می‌تواند گزینه مناسبی در برنامه‌های حفاظتی آن باشد. در این مطالعه به منظور شکست خواب و بهبود جوانه‌زنی گیاه لاله واژگون آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار در آزمایشگاه کشت و تکثیر بذر دانشکده منابع طبیعی دانشگاه شهرکرد در سال ۱۳۹۲، برای ارزیابی مدت زمان سرمادهی (۰، ۴ و ۸ هفته)، غلظت GA_3 (۵۰۰ppm و ۲۵۰، ۰) و زمان اعمال GA_3 در سه مرحله (قبل، حین و بعد از سرمادهی) انجام شد. نتایج نشان داد سرمادهی به مدت ۸ هفته بیشترین تأثیر را بر افزایش جوانه‌زنی دارد واین تیمار به همراه اعمال اسید جیبرلیک۵۰۰ppm قبل از سرمادهی به‌طور معنی‌داری درصد و سرعت جوانه‌زنی، شاخص بنیهI، طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه و وزن خشک گیاهچه را افزیش داد و موجب کاهش زمان رسیدن به ۵۰٪ جوانه‌زنی گردید. همچنین افزایش غلظت GA_3 از ۲۵۰ppm به ۵۰۰ ppm بر تمام صفات تأثیر معنی‌داری داشت. لذا تیمار ۸ هفته سرمادهی مرطوب بذرهای آبنوشیده در غلظت ۵۰۰ ppm بهترین تیمار پیشنهادی برای شکست خواب و بهبود جوانه‌زنی بذر لاله واژگون است.

کلمات کلیدی: لاله واژگون، خواب بذر، مدت سرمادهی، اسید جیبرلیک.

Studying interaction of Moist-Chilling and gibberellic acid on germination of *Fritillaria imperialis*

Z. Aghababanejad [1], A. Abbasi Surki[2*], P. Tahmasebi[2]

1- MSc. Of seed science and technology
2- Faculty members of Shahrekord University
(Received: Nov. 09, 2016 – Accepted: May. 16, 2017)

Abstract

There are several limitations in reproduction of *Fritilaria imperilais* using tissue tissue culture, lamination and bulb division. In this study, we designed a factorial experiment in a randomized complete block for evaluating the effects of several treatments such as cold duration (0, 4 and 8 weeks), concentrations of GA_3 (0, 250 and 500 ppm) and application time in three steps (before, during and after stratification). The results showed that the seeds were highly germinated using 8 weeks stratification compares to others. Moreover, 500ppm gibberllin before stratifications significantly increased percentage of germination, Vigor Index I, length of radical, plumule, seedling and seedling dry weight, however significantly decreased E50. The results also showed that increasing the GA3 from 250 to 500ppm had significantly positive effect on all the traits. This study indicates that 8 weeks stratification along with 500ppm is more likely to increase the germination index of *Fritilaria imperilais*.

Key words: *Fritillaria imperialis*, germination,gibberellic acid,stratification period.

* Email: aabasi59@yahoo.com

مقدمه

لاله واژگون با نام علمی *Fritillaria imperialis* و نام انگلیسی Crownimperial، گیاهی چندساله، علفی و پیازدار است. این گیاه متعلق به تیره Liliaceae بوده و به صورت خودرو در مناطق مرتفع و کوهستانی رشته‌کوه‌های زاگرس از آذربایجان تا استان چهارمحال و بختیاری رویش دارد. رویشگاه طبیعی ملی لاله واژگون با وسعتی بالغ بر ۳۷۹ هکتار در شهرستان کوهرنگ از توابع استان چهارمحال و بختیاری و در ارتفاعات ۲۸۰۰- ۲۵۰۰ متری از سطح دریا در دامنه کوه میلی و مختصات جغرافیایی طول شرقی '۱۲°۵۰ و عرض شمالی '۹°۳۲ واقع گردیده است (Karimi, 2009). لاله واژگون از لحاظ زینتی و دارویی دارایاهمیت می‌باشد. به‌طوری‌که ترکیبات آلکالوئیدی و غیر آلکالوئیدی موجود در این گیاه در درمان بیماری‌های فشار خون، بهبود عملکرد کلیه، تسکین سرفه، آسم، برونشیت، سل، گواتر، تومورهای هیپوفیز، از بین بردن خلط و کاهش تب مورد استفاده قرار می‌گیرند (Gao *et al*., 1999; Lin *et al*., 2001; Rahman *et al*., 2002; Nalawade *et al*.,2003; Wang *et al*., 2004; Ronsted, 2005). علاوه بر این لاله واژگون از لحاظ زیبایی طبیعت و جذب اکوتوریسم قابلیت زیادی دارد و دارای خصوصیاتی نظیر ساقه های بلند و قوی، شکل، رنگ و اندازه گل مناسب است. هم‌چنین لاله واژگون می‌تواند به عنوان گل شاخه بریده و گیاه گلدانی نیز مورد استفاده قرار گیرد (De Hertogh, 1990; De Hertogh and Le Nard, 1993; Kleynhan and Spies, 2011). متأسفانه هیچ‌گونه حفاظتی از این گونه در کشور صورت نمی‌گیرد و طی چند سال اخیر رویشگاه‌های لاله واژگون به دلایل مختلفی از جمله وقوع خشک‌سالی، توسعه صنعتی، توسعه شهری و روستایی، حضور گردشگران، طغیان آفات و بیماری‌ها و هم‌چنین چرای غیراصولی دام تخریب گردیده و این گونه با ارزش در معرض تهدید جدی قرار گرفته است (Mohammadi-Dehcheshmeh *et al*., 2008).

این گیاه ارزشمند را می‌توان توسط پیاز، بذر و کشت بافت تکثیر نمود (Karimi, 2009). تحقیقات پیشین نشان می‌دهد با توجه به آلودگی شدید داخلی باکتریایی و محدودیت تعداد فلس و سلول‌های فعال مریستمی، تکثیر این گیاه به روش کشت بافت، فلسبرداری و تقسیم سوخ با مشکل جدی روبرو است (Meamr Moshrefi, 1998; Rahimi *et al*., 2013). با در نظر گرفتن مسائل فوق ضروری است در زمینه‌ی تکثیر جنسی این گیاه مطالعات بیشتری صورت گیرد. تکثیر این گیاه توسط بذر، به واسطه‌ی تعداد زیاد، نگهداری آسان‌تر و پراکنش بیش‌تر نسبت به پیاز دارای پتانسیل خوبی است که مهم ترین مسأله پیش روی آن غلبه بر خواب و بهینه کردن جوانه زنی است.

اصطلاح خواب به توقف موقتی در رشد و نمو همه یا اندامی از گیاه نظیر بذر، پیاز، غده و جوانه اشاره دارد (Bradford and Nonogaki, 2007). در بذر بسیاری از نهاندانگان درجات مختلفی از خواب مشاهده می‌شود. به‌طور کلی خواب بذر، در کشت و زرع بسیاری از محصولات یک ویژگی نامطلوب به شمار می‌آید، چرا که همواره جوانه‌زنی و رشد سریع و یکنواخت گیاه مورد نیاز می‌باشد. با این حال، خواب در طول نمو بذر برای گیاهان سودمند است، زیرا خواب مانع جوانه زنی بذر بر روی گیاه مادری می شود و در این شرایط بذرها فرصت کافی برای پراکنش دارند (Bewley, 1997; Bentsink and Koornneef, 2002)، از طرف دیگر بذر در این حالت غیرفعال است و توانایی تحمل شرایط نامطلوب محیطی نظیر سرما و خشکی را دارد (Bradford and Nonogaki, 2007).

بر اساس زمان وقوع، خواب بذر به دو دسته خواب اولیه و ثانویه تقسیم می‌شود (Bradford and Nonogaki, 2007). خواب اولیه یکی از شایع ترین انواع خواب به شمار می آید که در طول نمو بذر و قبل از پراکنش بذر القا می شود و به دو دسته خواب درونی و بیرونی تقسیم می‌شود (Bewley 1997; Copeland and Mcdonald, 2001; Bradford and Nonogaki, 2007). در خواب بیرونی پوسته بذر دخیل می باشد. پوسته بذر با مکانیزم های متفاوتی

DOI: 10.22034/ijsst.2018.116810

نظیر فیزیکی، شیمیایی، محدودیت مکانیکی و یا ترکیب این موارد مانع جوانه‌زنی بذر می‌شود (Bradford and Nonogaki, 2007). در حالی که خواب دورنی به ویژگی های ذاتی و درونی جنین بذر مربوط می شود و معمولاً به سه شکل مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و مورفوفیزیولوژیکی در بذرها مشاهده می‌شود (Copeland and Mcdonald, 2001). دراقیسی و آبرودان (DraghiciandAbrudan, 2010) و باسکین و همکاران (Baskin *et al.*, 1999) وجود خواب فیزیولوژیکی و مورفوفیزیولوژیکی را در خانواده Liliaceae گزارش کردند.

مانکوسو و همکاران (Mancuso *et al.*, 2012) شکست خواب بذر *Fritillaria montana* را مورد مطالعه قرار دادند. آن‌ها گزارش نمودند بذرهای این گونه برای شکست خواب به یک دوره سرمادهی نیاز دارند و تحت این شرایط درصد جوانه‌زنی نهایی ۷۷/۵٪ گزارش‌شده است. روحی و همکاران (Rouhi *et al.*, 2010) با اعمال تیمارهای مختلف بر شکست خواب بذر *Tulipa kaufmanniana* اظهار داشتند تیمار سرمادهی در مقایسه با تیمار اسید جیبرلیک و نیترات پتاسیم بهترین تیمار جهت شکست خواب بذر لاله است. هم چنین کاربرد اسید جیبرلیک ۵۰۰ ppm و نیترات پتاسیم ۱٪ بعد از سرمادهی موجب دستیابی به جوانه‌زنی بالاتر می شود. ابراهیمی و همکاران (Ebrahimi *et al.*, 2014) با آزمایشی بر بذرهای *Allium hirtifolium* Boiss، اعمال تیمارهای خراش‌دهی، سرمادهی، نیترات پتاسیم و اسید جیبرلیک را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج آزمایش نشان داد اعمال تیمارهای خراش‌دهی، سرمادهی و کاربرد اسید جیبرلیک (۵۰۰ ppm) در شکست خواب بذر و افزایش طول گیاهچه بذر موسیر مؤثر می‌باشند. دوران و گوداده (Dhoran and Gudadhe, 2012) تأثیر تنظیم کننده‌های مختلف رشد را در بذور *Asparagus sprengeri* مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد تیمار اسید جیبرلیک در مقایسه با سایر تیمارها تأثیر معنی داری بر سرعت جوانه زنی داشته است. آن ها همچنین گزارش کردند که افزایش غلظت بیشتر از ۶۰ ppm به سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه را کاهش داده است.در این آزمایش کاربرد اسید جیبرلیک به تنهایی تأثیری در شکست خواب بذر لاله نداشت. به همین منظور با توجه به نقش سرما و اسید جیبرلیک در فیزیولوژی جوانه زنی بذر، تأثیرطول مدت سرمادهی و تأثیر غلظت های مختلف اسید جیبرلیک در سه سطح زمانی بر شکست خواب لاله واژگون در این آزمایش مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر سرمادهی مرطوب و اسید جیبرلیک بر جوانه‌زنی بذر لاله واژگون‌آزمایشی در سال ۱۳۹۲، در آزمایشگاه کشت و تکثیر بذر دانشکده منابع طبیعی دانشگاه شهرکرد به اجرا در آمد. بذر های لاله واژگون از منطقه دشت لاله بنواستکی و توف سفید کوهرنگ در سال ۱۳۹۰ جمع آوری گردید. این منطقه بین مختصات جغرافیایی "۴۲ ′۱۴ °۵۰ تا "۵۵ ′۲۳ °۵۰ طول شرقی و "۱۷ ′۲۳ °۳۲ تا "۴ ′۳۴ °۳۲ عرض شمالی واقع شده است. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل مدت زمان سرمادهی (۰، ۴ و ۸ هفته)، غلظت اسید جیبرلیک در سه سطح (۵۰۰ ppm و ۲۵۰، ۰) و زمان افزودن اسیدجیبرلیک در سه سطح (قبل از سرمادهی، حین مدت سرمادهی و بعد از سرمادهی) بود. به منظور اعمال تیمارها، بذرها قبل از شروع آزمایش با قارچ کش کاربندازیم (۳ در هزار) ضدعفونی شدند. برای تیمار اسید جیبرلیک قبل از سرمادهی، بذرها به مدت ۲۴ ساعت در دمای (۵ °C) در محلول‌های GA_3 قرار داده شدند و سپس روز بعد درحالی که محلول‌های GA_3 با آب مقطر جایگزین شد، به یخچال منتقل گردیدند تا مدت زمان سرمای مورد نظر را تجربه کنند. برای گروه دوم بذرها در حین مدت سرمادهی ۲۴ ساعت در محلول های GA_3 قرار داده شدند و پس از آن

برای هر تیمار در مدت باقی مانده سرمادهی از آب مقطر به جای جیبرلین استفاده شد. در گروه سوم بذرها پس از اتمام دوره سرمادهی به مدت ۲۴ ساعت به پتری های حاوی محلول های GA_3 منتقل شدند. سپس بذرها از هورمون خارج و برای جوانه‌زنی تعداد ۲۵ بذر در هر تیمار برای جوانه زنی در پتری دیش های ۹ سانتی متری استریل شده قرار گرفتند. برای جوانه زنی از بستر دو لایه کاغذ صافی به صورت بین کاغذ (Between paper) در پتری دیش استفاده شد. میزان دمای پایه یا صفر فیزیولوژیک این گیاه برابر با ۰ °C در نظر گرفته شد. مقدار GA_3 و آب مقطر به کابرده شده برای هر تیمار ۱۰ میلی لیتر بود و در نهایت پتری دیش ها به ژرمیناتور با دمای ۵ درجه سانتی گراد، رطوبت ۸۰ درصد و تناوب نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی منتقل شدند. شمارش تعداد بذر های جوانه زده هر ۲۴ ساعت به مدت ۳۰ روز ادامه یافت. مبنای جوانه‌زنی خروج ریشه‌چه به اندازه ۲ میلی متر در نظر گرفته شد. در خاتمه طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن خشک گیاهچه‌های حاصل اندازه‌گیری شد. به منظور محاسبه شاخص‌های درصد جوانه‌زنی (Germination Percent)، سرعت جوانه‌زنی (Germination Rate)، زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی (T_{50}) و شاخص بنیه I (Vigor Index I) به ترتیب از روابط (۴-۱) زیر استفاده شد.

$$GP = \frac{\sum n}{N} \times 100 \qquad \text{(رابطه ۱)}$$

در این رابطه n: تعداد بذر جوانه زده در هر روز و N: مجموع بذرها در هر تیمار می‌باشد.

$$GR = \sum \left(\frac{G_t}{D_t}\right) \qquad \text{(رابطه ۲)}$$

در رابطه بالا G_t: تعداد بذر جوانه زده در tروز و D_t: تعداد روزها پس از شروع جوانه‌زنی می‌باشد.

$$\text{Vigor I} = (RL + SL) \times GP \qquad \text{(رابطه ۳)}$$

در این رابطه GP: درصد جوانه‌زنی، RL: طول ریشه‌چه (cm) و SL: طول ساقه‌چه (cm) می‌باشد.

$$T_{50} = t_i + \frac{\left[\left(\frac{N}{2}\right) - n_j\right]\left[t_j - t_i\right]}{n_j - n_i} \qquad \text{(رابطه ۴)}$$

در این رابطه N: تعداد نهایی بذور سبز شده، nj و ni: تعداد تجمعی بذور سبز شده در زمان‌های t_j و t_i می‌باشد.

داده‌های حاصل از آزمایش با نرم‌افزار آماری SAS و MSTAT-C آنالیز و مقایسه میانگین عوامل آزمایشی با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال۵ درصد ارزیابی شدندو نمودارها و جداول مربوطه با استفاده از نرم افزار Excel ترسیم شدند.

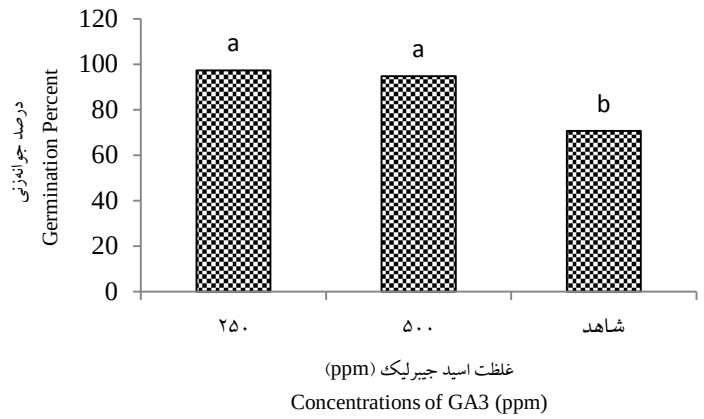
نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس داده‌های این آزمایش نشان داد که افزودن اسید جیبرلیک (GA_3) در سطح احتمال ۱٪ تأثیر مثبت و معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی بذر لاله واژگون داشت (P<٪۱) (جدول ۱). به طوری‌که میانگین درصد جوانه‌زنی از ۷۴ درصد در نمونه بدون استفاده ازGA_3 به ۹۷ درصد در تیمار با غلظت ۲۵۰ ppm افزایش یافته است. همچنین مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که افزایش غلظت اسید جیبرلیک از۲۵۰ ppm به۵۰۰ ppm تأثیر معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی نداشت (شکل ۱). لازم به ذکر است تمام تیمارهای اسید جیبرلیک در سه غلظت (۵۰۰ ppm و ۲۵۰، ۰) و اعمال آن در سه سطح (قبل از سرمادهی، حین مدت سرمادهی و بعد از سرمادهی) در طی مدت ۰ و ۴ هفته به دلیل عدم جوانه‌زنی بذور از بین تیمارها حذف گردید.در این پژوهش برتری سرمادهی ۸ هفته نسبت به سرمادهی ۴ هفته ثابت شد. عدم وجود تفاوت بین سرمادهی ۰ و ۴ هفته بیانگر این موضوع است که این مدت سرمادهی هیچ تأثیری بر شکست خواب و افزایش درصد جوانه‌زنی بذر لاله واژگون ندارد و بیشترین تغییرات از ۴ هفته تا ۸ هفته اتفاق می‌افتد. این امر می‌تواند بدین دلیل باشد که رشد جنین کمی بعد از برطرف شدن نیاز سرمایی اتفاق می‌افتد

DOI: 10.22034/ijsst.2018.116810

(Vandelook *et al.*, 2007). بنت سینک و کورنیف (Bentsink and Koornneef, 2002) اظهار نمودند که تیمارهای سرمادهی به طور نسبی حساسیت بافت بذر را به اسید جیبرلیک افزایش می‌دهند. تحقیقات نشان داده که اعمال سرمادهی مرطوب برای تعدادی از گونه‌ها نظیر *Allium hirtifolium* (Dashti *et al.*, 2012)؛ *Tulipa kaufmanniana* (Rouhi *et al.*, 2010) و *Chaerophyllum temulum* (Vandelook *et al.*, 2007) موفقیت‌آمیز بوده است.



شکل ۱- مقایسه میانگین تأثیر غلظت اسید جیبرلیک بر درصد جوانه‌زنی بذر لاله واژگون
(حروف کوچک بیانگر سطح معنی‌دار در آزمون LSD هستند.)

Fig 1- Mean comparisons of concentration and application time of gibberllin interaction on germination percentage of *Fritillaria imperialis* seed (Lower case letters show significant level of LSD test.)

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تأثیرغلظت و زمان کاربرد اسیدجیبرلیک برصفات جوانه‌زنی بذرلاله واژگون

Table1- Results of variance analysis of concentration effect and application time of GA_3 on germination parameters of *Fritillariaimperialis*

منابع تغییرات SOV	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares					
		درصد جوانه‌زنی GP	سرعت جوانه‌زنی (۱/روز) GR (1/day)	زمان رسیدن به ۵۰٪ جوانه‌زنی (ساعت) E_{50} (h)	طول گیاهچه (سانتی‌متر) Length Seedling (cm)	وزن خشک گیاهچه (میلی‌گرم) Seedling Dry Weight (mg)	شاخص بنیهI Vigor Index I
بلوک block	2	108.444^{ns}	4.178^{ns}	1346.208^{ns}	0.364^{ns}	0.443*	0.963^{ns}
غلظت اسیدجیبرلیک (A) Concentrations of GA_3 (A)	2	1941.333**	57.369**	15519.107**	7.181**	2.608**	24.640**
زمان کاربرد اسید جیبرلیک (B) Application time of GA_3 (B)	2	21.333^{ns}	33.770**	14739.394**	11.378**	1.801**	12.632**
(A)×(B)	4	10.667^{ns}	**10.062	3914.654**	3.033**	0.756**	3.404**
خطا Error	16	35.111	1.490	712.765	0.266	0.078	0.458
ضریب تغییرات CV		6.768	15.263	18.121	7.366	5.872	10.859

*در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار، ** در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار و nsغیر معنی‌دار

*،** Significant at the 5 and 1% levels of probability respectively and ns: not significant

سرعت جوانه‌زنی

سرعت جوانه‌زنی بذر لاله واژگون در سطح احتمال ۱٪ تحت تأثیر غلظت GA_3، زمان کاربرد GA_3 و اثر متقابل غلظت و زمان کاربرد آن قرار گرفت (P<۱٪) (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در هردو غلظت، اعمال GA_3 قبل از سرمادهی مؤثرتر بوده است، به‌طوری‌که این اختلاف در غلظت ۵۰۰ ppm کاملاً مشهود است و تفاوت سرعت جوانه‌زنی در زمان اعمال GA_3 قبل از سرمادهی در غلظت ۵۰۰ ppm به حداکثر خود رسیده است. بیشترین سرعت جوانه‌زنی (۱۳/۷۸) در این تیمار به‌دست آمد و کمترین آن در تیمار شاهد مشاهده شد. البته تیمار شاهد و غلظت ۲۵۰ ppm و ۵۰۰ ppm در حین سرمادهی نیز در یک گروه آماری قرار گرفتند و از لحاظ آماری فاقد تفاوت معنی‌دار بودند (جدول۲). اسید جیبرلیک با افزایش سنتز RNA پلی مراز، القای آنزیم‌های هیدرولیتکی نظیر آلفا آمیلاز، تضعیف پوسته بذر یا سرپوش جنین و تحریک انبساط جنین، جوانه‌زنی بذر را تحریک می‌کند. احتمالاً این هورمون آنزیم‌های هیدرولیتیکی مورد نیاز برای حل کردن سلول‌های ذخیره‌ای اطراف ریشه‌چه را القا می‌کند و در نتیجه موجب سرعت بخشیدن به جوانه‌زنی می‌شود (Rood *et.al.*,1990; Bradford and Nonogaki, 2007). در مجموع، اعمال هورمون جیبرلین قبل از سرمادهی کارایی بیشتری را از نظر سرعت جوانه‌زنی نشان داد. دوران و گوداره (Dhoran and Gudadhe, 2012) عنوان نمودند تیمار اسید جیبرلیک در مقایسه با سایر تیمارها تأثیر معنی‌داری بر سرعت جوانه‌زنی داشته است.

زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد، این صفت در سطح احتمال ۱٪ تحت تأثیر غلظت GA_3، زمان کاربرد GA_3 و اثر متقابل غلظت و زمان کاربرد آن قرار گرفت (P<۱٪) (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد، کمترین زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی مربوط به غلظت ۵۰۰ ppm قبل از سرمادهی بود که از نظر آماری با تیمار ۲۵۰ ppm قبل از سرمادهی اختلاف معنی‌داری نداشت. همچنین تیمار شاهد و غلظت‌های ۲۵۰ ppm و ۵۰۰ ppm در زمان حین سرمادهی در یک گروه قرار گرفتند و بیشترین زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی را به خود اختصاص دادند (جدول ۲). اسید جیبرلیک سبب افزایش سرعت جوانه‌زنی در تیمار ۵۰۰ ppm قبل از سرمادهی گردید در نتیجه مدت زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی کاهش یافت. نتایج این آزمایش نشان داد، ترکیب تیمار سرمادهی و اسید جیبرلیک به طور معنی‌داری زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی را تحت تأثیر قرار داده است اما در کاهش نیاز سرمایی لاله واژگون مؤثر نبود. عموآقایی (Amooaghaie, 2007) به نتایجی خلاف نتایج حاضر دست یافت. عموآقایی گزارش نمود کاربرد اسید جیبرلیک زمان رسیدن به حداکثر درصد جوانه‌زنی و حداقل زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی را از ۷ هفته سرمادهی به ۳ هفته کاهش داد.

وزن خشک گیاهچه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که وزن خشک گیاهچه در سطح احتمال ۱٪ تحت تأثیر غلظت GA_3، زمان کاربرد GA_3 و اثر متقابل غلظت و زمان کاربرد GA_3 قرار گرفت (P<۱٪) (جدول ۱). بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها تیمار ۵۰۰ ppm قبل از سرمادهی بیشترین وزن خشک گیاهچه را به خود اختصاص داد که این مقدار برابر ۶/۲۳ میلی‌گرم بود و کمترین آن در تیمار ۲۵۰ ppm حین سرمادهی به‌دست آمد که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت. تیمارهای ۲۵۰ ppm قبل و بعد از سرمادهی و تیمار ۵۰۰ ppm بعد از سرمادهی از نظر آماری در یک گروه قرار گرفتند و نسبت به شاهد از وزن خشک بیش‌تری برخوردار بودند (جدول ۲). پایین بودن وزن خشک گیاهچه در تیمار ۲۵۰ppm قبل از سرمادهی ناشی از کم بودن همزمان طول ریشه‌چه و ساقه‌چه است.

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای بذر لاله واژگون تحت تأثیر غلظت اسید جیبرلیک و زمان کاربرد اسید جیبرلیک

Table 2- Mean comparison of germination and seedling traits of *Fritillaria imperialis* under concentration and application time of gibberllin.

غلظت اسید جیبرلیک Concentrations of GA_3	زمان کاربرد اسید جیبرلیک Application time of GA_3	سرعت جوانه‌زنی (۱/روز) GR (1/day)	زمان رسیدن به ۵۰٪ جوانه‌زنی (ساعت) E_{50} (h)	طول گیاهچه (سانتی‌متر) Length Seedling (cm)	وزن خشک گیاهچه (میلی‌گرم) Seedling Dry Weight (mg)	شاخص بنیه I Vigor Index I
۲۵۰ppm	قبل از سرمادهی	11.44^{b}	8.20^{bc}	8.08^{b}	4.93^{bc}	7.87^{b}
	حین سرمادهی	6.86^{de}	187.45^{a}	4.98^{d}	3.87^{c}	4.78^{c}
	بعد از سرمادهی	9.03^{c}	125.32^{b}	7.78^{b}	5.13^{bc}	7.67^{b}
۵۰۰ppm	قبل از سرمادهی	13.78^{a}	45.86^{c}	9.48^{a}	6.23^{a}	9.23^{a}
	حین سرمادهی	6.95^{cde}	182.40^{a}	6.11^{c}	4.67^{cd}	5.53^{c}
	بعد از سرمادهی	8.60^{cd}	120.30^{b}	8.20^{b}	5.17^{b}	7.91^{b}
شاهد		5.11^{e}	194.47^{a}	6.15^{c}	4.30^{de}	4.37^{c}

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون، فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ می‌باشند.

Means with the same letters have no significant difference at 5% probability.

کاربرد اسید جیبرلیک برای تعدادی از گیاهان نظیر *Tulipa kaufmanniana* (Rouhi*et al.*, 2010)، *Ferula gummosa* (Rahnama-Ghahfarokhi and Tavakol-afshari, 2007) و *Ferula ovina* (Amooaghaie, 2007) به کار برده شده است. نتایج نشان داد صفات جوانی‌زنی و گیاهچه‌ای این گیاهان مطابق نتیجه این تحقیق بهبود یافته است.

طول گیاهچه

نتایج این آزمایش نشان داد، طول گیاهچه در سطح احتمال ۱٪ تحت تأثیر غلظت، زمان کاربرد اسید جیبرلیک و اثر متقابل آن‌ها قرار گرفت (P<۱٪) (جدول ۱). بیشترین طول گیاهچه در تیمار ۵۰۰ ppm قبل از سرمادهی مشاهده شد که نسبت افزایش این تیمار به شاهد ۳۵/۱۷ درصد می‌باشد. کمترین طول گیاهچه در تیمار ۲۵۰ ppm حین سرمادهی به‌دست آمد که کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد داشت. همچنین غلظت ۲۵۰ ppm قبل و بعد از سرمادهی و غلظت ۵۰۰ ppm در زمان بعد از سرمادهی از نظر آماری در یک گروه قرار گرفتند و طول گیاهچه بیش‌تری را در مقایسه با شاهد به خود اختصاص دادند. (شکل ۶). بالا بودن طول گیاهچه در تیمار ۵۰۰ppm قبل از سرمادهی به دلیل بالا بودن طول ساقه‌چه و طول ریشه‌چه در این سطح تیماری است. همچنین پایین بودن طول گیاهچه در تیمار ۲۵۰ppm حین سرمادهی ناشی از کاهش طول ساقه‌چه و ریشه‌چه است. ابراهیمی و همکاران (Ebrahimi *et al.*, 2014) به نتایج مشابهی در بذر موسیر دست یافتند. این محققین بیان نمودند کاربرد تیمارهای خراش‌دهی، سرمادهی و اسید جیبرلیک موجب شکست خواب بذر و افزایش طول گیاهچه بذر موسیر می‌شود.

شاخص بنیه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد، تأثیر تیمارهای مورد بررسی بر شاخص بنیه I در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (P<۱٪) (جدول ۱). بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها بیشترین شاخص بنیه I مربوط به تیمار ۵۰۰ ppm قبل از سرمادهی بود که نسبت افزایش بنیهI این تیمار در مقایسه با شاهد ۵۲/۶۵ درصد به‌دست آمد و تیمار شاهد با غلظت‌های ۲۵۰ ppm و ۵۰۰ ppm در زمان حین سرمادهی در یک گروه آماری قرار گرفتند و کمترین میزان بنیه I را به خود اختصاص دادند (جدول ۲). رهنما

قهفرخی و توکل افشار (Rahnama-Ghahfarokhi and Tavakol-afshari, 2007) در مطالعه خود بر گیاه باریجه اظهار داشتند که ترکیب تیمار سرمادهی مرطوب و اسید جیبرلیک بیشترین درصد جوانه‌زنی را به خود اختصاص داده است و صفات دیگر مانند طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، سرعت جوانه‌زنی، میانگین مدت جوانه‌زنی و شاخص ویگور را نیز تحت تأثیر قرار داد. لذا تیمار اسید جیبرلیک قبل از سرمادهی می‌تواند کیفیت و بنیه گیاهچه‌های حاصل از بذر گیاه لاله واژگون را افزایش دهد و این بذرها نسبت به عدم استفاده از هورمون کارایی بالاتری را نشان می‌دهند.

نتیجه‌گیری

لاله واژگون (*Fritillaria imperialis*) یکی از گونه‌های با ارزش دارویی و اکوتوریسمی در منطقه زاگرس است. این گیاه در ایران به شدت در معرض انقراض قرار دارد. با توجه به محدودیت‌هایی که در تکثیر این گیاه از طریق کشت بافت، فلس‌برداری و تقسیم سوخ وجود دارد، تکثیر توسط بذر پیشنهاد می‌شود که مهم‌ترین مسأله پیش روی آن شکست خواب و بهینه‌سازی جوانه‌زنی است. پژوهش حاضر به‌منظور تعیین تیمارهای بهینه جوانه‌زنی و استقرار بذر لاله واژگون به اجرا درآمد. در این آزمایش افزایش غلظت از ۲۵۰ ppm به ۵۰۰ ppm تأثیر معنی‌داری بر صفات مورد بررسی داشت که می‌تواند به علت تحریک سنتز آنزیم‌های جوانه‌زنی باشد. ولی این افزایش غلظت نتوانست، جایگزین زمان نامناسب اعمال اسید جیبرلیک شود و بهترین زمان اعمال اسید جیبرلیک قبل از سرمادهی بود که می‌تواند به این دلیل باشد که حضور طولانی‌مدت هورمون، موجب افزایش پاسخ جنین به سرمادهی و تحریک آنزیم‌های مربوط به جوانه‌زنی شده است. لذا کاربرد اسید جیبرلیک برای شکست خواب و بهینه‌سازی جوانه‌زنی گیاه لاله واژگون قبل از سرمادهی توصیه می‌شود که البته در غلظت ۵۰۰ ppm کارایی بالاتری دارد و بذرهای فوق جوانه‌زنی و بنیه بالاتری را نشان می‌دهند، ضمن اینکه پس از قرار دادن بذرها در بستر پیت ماس در گلخانه، وزن پیاز تولیدی نیز بالاتر بوده و می‌تواند تیمار مناسب برای بذرهای لاله واژگون حتی در عرصه باشد.

منابع

References

Amooaghaie, R., 2007. The Effect of Moist-Chilling and GA3 on seed dormancy breaking of *Ferula ovina* Boiss. JWSS. 11(40): 471-481. (In Persian, with English abstract).

Baskin, C.C., J.M. Baskin, and E.W. Chester, 1999. Seed dormancy in the wetland winter annual *Ptilimnium nuttalli* (Apiaceae). The Society of Wetland Scientists, 19(2): 359-364.

Bentsink, L., and M. Koornneef. 2002. Seed dormancy and germination. The Arabidopsis Book 1-18.

Bewley J.D. 1997. Seed Germination and Dormancy. Plant Cell. 9:1055–1066.

Bradford, K.J., and H. Nonogaki. 2007. Seed Development, Dormancy and Germination. Wiley-Blackwell. Oxford.

Copeland, L.O., and M.B. Mcdonald. 2001. Seed Science and Technology. Springer Science+Business Media, Llc, New York.

Dashti, F., H. Ghahremani- Majd, and M. Esna-Ashari. 2012. Overcoming seed dormancy of mooseer (*Allium hirtifolium*) through cold stratification, gibberellic acid, and acid scarification. J. Forestry Res. 23(4):707-710.

De Hertogh, A. 1990. Basic criteria for selecting flower bulbs for North American markets Gardens, Outdoor cut flowers, forced cut flowers and potted plant. North Carolina Horticoltuyal Research series Number 85, Raliegh.

De Hertogh, A., and M. Le Nard. 1993. The Physiology of flower bulbs. Elsevier, the University of Michigan.

Dhoran V.S., and S.P. Gudadhe. 2012. Effect of plant growth regulators on seed germination and seedling vigour in *Asparagus sprengeri* Regelin. Int. Res. J. Biol.1 (7):6-10.

Draghici, C., and I.V. Abrudan. 2010. Dormancy Breaking Of *Acer* and *Fraxinus* Seeds -A Brief Review. Bull. Transilvania Univ. Brasov, 3(52): 29-32.

Ebrahimi R., 1M. Hassandokht, Z. Zamani1, A. Kashi1, I. Roldan-Ruiz, and E.V. Bockstaele. 2014. Seed Morphogenesis and Effect of Pretreatments on Seed Germination of Persian Shallot (*Allium hirtifolium* Boiss.), an Endangered Medicinal plant. Hortic. Environ. Biotechnol. 55(1):19-26.

El-Dengawy, E.F.A. 2005. Promotion of seed germination and subsequent seedling growth of loquat (*Eriobotrya japonica*, Lindl) by moist-chilling and GA_3 applications. Sci. Hortic, 105: 331–342.

Gao, S.L., D.N. Zhu, Z.H. Cai, Y. Jiang, and D.R. Xu. 1999. Organ culture of a precious Chinese medicinal plant – *Fritillaria unibracteata*. Plant Cell Tiss. Org. 59: 197–201.

Kabar, K., 1998. Comparative Effects of Kinetin, Benzyladenine, and Gibberellic Acid on Abscisic Acid Inhibited Seed Germination and Seedling Growth of Red Pine and Arbor Vitae. Turkish J. Bot. 22: 1-6.

Karimi, H. 2009. Atlas of medicinal plants. Abnous Publisher, Tehran. (In Persian).

Kleynhans, R., and J.J. Spies. 2011. Requirements for the development and breeding of new flower bulb crops. Philos. T. Genetics, 1: 80-101.

Lin, G., P. Li, S.L. Li, and S.W. Chan. 2001. Chromatographic analysis of *Fritillaria isosteroidal* alkaloids, the active ingredients of Beimu, the antitussive traditional Chinese medicinal herb. J. Chromatoger. A. 935: 321-328.

Mancuso, E., G. Bedini, and L. Peruzzi. 2012. Morphology, germination, and storage behaviour in seeds of Tuscan populations of *Fritillaria montana* (Liliaceae), a rare perennial geophyte in Italy**.** Turkish J. Bot.36: 161-166.

Meamr-Moshrefi, M. 1998. Effect of plant growth regulators and environmental condition on growth, development, propagation of bulb and scenesence of flower of Fritillria *(Fritillaria imperialis).* Ph.D. Thesis. Univ. of Tarbiat Modares, Tehran. (In Persian).

Mohammadi-Dehcheshmeh, M., A. Khalighi, R. Naderi, M. Sardari, and E. Ebrahimie. 2008. Petal: a reliable explant for direct bulblet regeneration of endangered wild populations of *Fritillaria imperialis* L. Acta Physiol. Plant. 30: 395-399.

Nabaei, M., P. Roshandel, and A. Mohammadkhani. 2011. Effective techniques to break seed dormancy and stimulate seed germination in (*Rheum ribes* L.). Iranian J. Med. Aromat. Plant. 27(2): 212-223.

Nalawade, S.M., A.P. Sagare, Ch.Y. Lee, Ch.L. Kao, and H.Sh. Tsay. 2003. Studies on tissue culture of Chinese medicinal plant resources in Taiwan and their sustainable utilization. Bot. Bull. Acad. Sin, 44: 79-98.

Rahimi, M., M.H. Daneshvarm, M. Heidari, and F. Yari. 2013. In vitro micropropagation of *Fritillaria imperialis* L. through induction of indirect organogenesis. Int. J. Agron. Plant Prod. 4: 418-424.

Rahnama-Ghahfarokhi, A., and R. Tavakol-afshari. 2007. Methods for dormancy breaking and germination of Galbanum seeds (*Ferula gummosa*). Asian J. Plant Sci. 6(4): 611-616.

Rahman, A.U., M.N. Akhtar, M. Choudhary. Y. I.q. Tsuda, B. Sener, A. Khalid, and M. Parvez. 2002. New steroidal alkaloids from *Fritillaria imperialis* and their cholinesterase inhibiting activities. Chem. Pharm. Bull. 50: 1013-1016.

Ronsted, N.S., H. Law Thornton, M.F. Fay, and M.W. Chase. 2005. Molecular phylogenetic evidence for the monophyly of *Fritillaria* and *Lilium* (Liliaceae, Liliales) and the infrageneric classification of Fritillaria. Mol. Phylogenet. Evol. 35: 509-527.

Rood, S.B., R.L. Buzzell, D.J. Major, and R.P. Pharis. 1990. Gibberellins and Heterosis in Maize: Quantitative Relationships. Crop Sci. 30:281-286.

Rouhi, H.R., K. Shakarami, and R. Tavakkol Afshari. 2010. Seed treatments to overcome dormancy of waterlily tulip (*Tulipa kaufmanniana* Regel.). Aust. J. Crop Sci. 4(9): 718-721.

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. Ann. Bot, 100: 233–239.

Wang, sh., W.Gaoa, H. Chena, and P. Xiaob. 2004. New starches from *Fritillaria* species medicinal plants. Carbohydr. Polym. 61(1): 111–114.