"نشریه علوم و فناوری بذر ایران"
جلد هشتم، شماره ۱، بهار و تابستان ۱۳۹۸
(ص ۲۱۲-۲۰۱)
*مقاله پژوهشی*

Iranian Journal of
Seed Science and Technology
Vol.: 8, No.: 1, Spring and Summer 2019
(pp: 201-212)
DOI: 10.22034/ijsst.2018.116895.1156
*Research Article*

# تأثیر تیمارهای شکست خواب بذر بر جوانه‌زنی کرفس کوهی توده کوهرنگ (*Kelussia odoratissma* Mozaff)

**جواد طباطبائیان[1]* و اعظم کدخدایی[2]**

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 odoratissma* 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 آدنین (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، 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. Kadkhodaee[2]**

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 ℃ 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 ℃ 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

## مقدمه

کرفس کوهی (کلوس) با نام علمی *Kelussia odoratissima* Mozaff. گیاهی است چندساله که از دیدگاه اکولوژیک، اقتصادی و تنوع زیستی دارای اهمیت فراوان بوده و متأسفانه به علت برداشت غیرمجاز درمعرض انقراض می‌باشد (Mozaffarian, 2003). این گیاه از تیره چتریان بوده و ارتفاع آن به ۱۲۰ تا ۲۰۰ سانتی متر می‌رسد. دارای ریشه راست و دوکی شکل است و برگ‌ها دارای بریدگی‌های پنجه‌ای شکل و در قاعده دارای دم برگ بلند و بدون غلاف می‌باشد. گل آذین چتر و گل‌ها به رنگ زرد می‌باشد. مهم‌ترین رویشگاه‌های 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 می‌کند (Iravani and Jaber-Alansar, 2006). حداکثر دما در طول رشد رویشی گیاه به ندرت از ۲۰ درجه سانتی‌گراد تجاوز می‌کند. درحال حاضر رویشگاه‌های طبیعی کلوس به نواحی کوچکی در استان‌های اصفهان (شهرستان فریدونشهر)، لرستان، چهارمحال و بختیاری (کوهرنگ، شیخ علی خان)، کهکلویه و بویراحمد (بخش دیشموک) و خوزستان (منگشت) محدود می‌شود. از اثرات دارویی این گیاه می‌توان به ضددرد، ضد التهاب، آرام بخش و ضدسرفه اشاره کرد (Iravani and Jaber-Alansar, 2006).

خواب بذر یک مکانیسم کلیدی جهت بقاء گیاهان در شرایط نامساعد محیطی می‌باشد. عوامل گوناگونی نظیر ضخامت پوسته بذر و عوامل درونی نظیر عدم تعادل هورمون‌های بذر و عدم تکامل ساختار جنین از عوامل ایجادکننده خواب بذر می‌باشد. از برخی ترکیبات بعنوان پیش تیمار به منظور تحریک جوانه‌زنی بذر، کاهش زمان بین کشت بذر و سبزشدن آن و وادارکردن بذرها به هم‌زمانی در سبزشدن و امکان جوانه‌زنی در شرایط نامساعد محیطی استفاده می شود. از این مواد می‌توان به سرمادهی مرطوب، نیترات پتاسیم و هورمون‌های اکسین، جیبرلین و سیتوکنین اشاره کرد (Bahadori and Javanbakht, 2006).

نتایج مطالعات انجام شده روی گونه‌های خانواده‌ی چتریان، مواد بازدارنده‌ی شیمیایی را بعنوان عامل اصلی در عدم جوانه‌زنی و یکنواختی جوانه‌زنی بذر دانستند (Amooaghaie and Valivand, 2011). کاتو و همکاران (Kato *et al*., 1978) گزارش کردند مواد بازدارنده‌ی درونی در خواب بذرهایی که احتیاج به سرما دارند نقش مهمی ایفا می‌کنند. در پژوهشی که بر روی چند گونه از خانواده‌ی 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). اسچیمزیت و همکاران (Schimizit *et al*., 2001) با مطالعه جوانه‌زنی بذر کرفس مشاهده نمودند که کاربرد تیمار سرما سبب تحریک جوانه زنی بذر این گیاه شد، زیرا سرمادهی سبب تحریک سنتز اسید جیبرلیک می‌شود. اسید جیبرلیک سبب افزایش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز، تحریک مصرف ذخایر غذایی آندوسپرم و کاهش مقاومت مکانیکی سلول‌های آندوسپرم می‌گردد (Schimizit *et al*., 2001).

بهادری 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 جوانه‌زنی بذر زیره سیاه شد. نتایج آزمایشی که نبئی و همکاران همکاران (Nabaee *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 سیتوکنین) باعث افزایش معنی‌دار در درصد و سرعت

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 آبسیزیک اسید) می‌شوند (Nabaee *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 ریشه چه نداشت.

بذرهای گیاه 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 منظورلازم است جهت حفظ و تکثیر ذخایر ژنتیکی این گیاه و زمینه سازی جهت پرورش آن در محیط مصنوعی چگونگی غلبه بر خواب این بذر موردتوجه قرار گیرد. پژوهش‌های قبلی نشان داده است که شکست خواب بذر کرفس کوهی نیازمند دوره سرمادهی طولانی (استرتیفیکاسیون) 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 بوتریک اسید) و سیتوکنین (بنزیل آدنین) به تنهایی و در ترکیب با یکدیگر و در ترکیب با تیمار سرمادهی مرطوب بر شکست خواب و میزان جوانه زنی 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 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 هورمون ها بودند. سه دوره سرمادهی مرطوب شامل ۰ ($S_0$)، ۴ ($S_4$) و ۸ ($S_8$) 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+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) بعنوان فاکتور دوم بودند.

بر اساس آزمون حیات بذر (تترازولیوم کلراید) توده بذرهای 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 آن ها 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

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 (Makizade Tafti and Farhodi, 2013). بعد از این مدت به پتری منتقل شدند. در تیمار شاهد بذرها بدون اعمال تیمار در پتری قرار گرفتند.

سپس بذور تیمارشده در بهمن ۱۳۹۴در 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 سانتی گراد در شبانه روز منتقل شدند (AOSA, 1983). در هر پتری ۲۰ عدد بذر قرار گرفت و در موقع لزوم هفت میلی‌لیتر آب مقطر به محیط کشت اضافه شد. مدت زمان آزمایش۲۱ روز بود و در پایان درصد و سرعت جوانه‌زنی، میانگین زمان جوانه زنی و طول ریشه چه محاسبه شد. درصد و سرعت جوانه زنی و میانگین زمان جوانه زنی به ترتیب براساس رابطه‌های زیر بررسی شد (Scott *et al*., 1984; Copeland and Mc Donald, 2001; Copeland and Mc Donald, 1995).

$$GP = \Sigma G/N*100 \qquad (۱)$$

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

$$GR = \Sigma n/\Sigma (Dn) \qquad (۲)$$

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

$$MGT = \sum nd/N \qquad (۳)$$

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

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

## نتایج و بحث

سرمادهی باعث بهبود پارامترهای جوانه زنی 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 جوانه زنی و طول ریشه چه افزوده شد. سرمادهی ۸ هفته بیشترین و تیمار بدون سرمادهی کمترین درصد و سرعت جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه را داشت. میانگین زمان جوانه زنی در بذرها در تیمار سرمادهی از ۴ به ۸ هفته کاهش داشت. مطابق با نتایج ما نجفی و همکاران

(Nadjafia *et al.*, 2006) در *Ferula gummosa*، رزمجو و همکاران (Razmjoo *et al.*, 2009) در *Clematis ispahanica* و زو و همکاران (Zhou *et al.*, 2009) در *Rosa multibracteata* افزایش پارامترهای جوانه زنی در تیمار سرمادهی را گزارش کردند. سرمادهی یک روش استانداردی 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 نوکلئوزیدها و نوکلئوتیدها به مسیر سنتز اسیدهای 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 فسفات های 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).

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 جونه 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 |

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

** Significant at 0.01 levels of probability

تیمار هورمون‌های مختلف نیز بر درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و میانگین زمان جوانه زنی در کرفس کوهی بطور معنی داری اثر داشت ($P< ۰/۰۱$) (جدول ۱). همه هورمون‌ها درصد و سرعت جوانه‌زنی،

طول ریشه‌چه و میانگین زمان جوانه‌زنی را افزایش داد.

تیمار اسید جیبرلیک (GA) خصوصیات جوانه زنی را افزایش داد. در تطابق با نتایج این آزمایش نجفی و همکاران (Nadjafi *et al.*, 2006) در *Teucriumpolium*، رزمجو و همکاران (Razmjoo *et al.*, 2009) در *Clematis ispahanica* 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 ولی وند (Amooaghaie and Valivand, 2011) گزارش کردند کاربرد GA اثر قابل توجهی بر جوانه زنی کرفس کوهی نداشت. کاربرد خارجی اسید جیبرلیک می تواند 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; Nabaee *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 جوانه زنی یا هر دو می باشد. 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 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 تجزیه کننده نشاسته برای تغذیه جنین می‌شوند (Olmez *et al.*, 2004).

در مطالعه اسچیمزیت (Schimizit, 2001) روی بذور کرفس، بیشترین جوانه زنی 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 آبسیزیک اسید را کاهش می‌دهد.

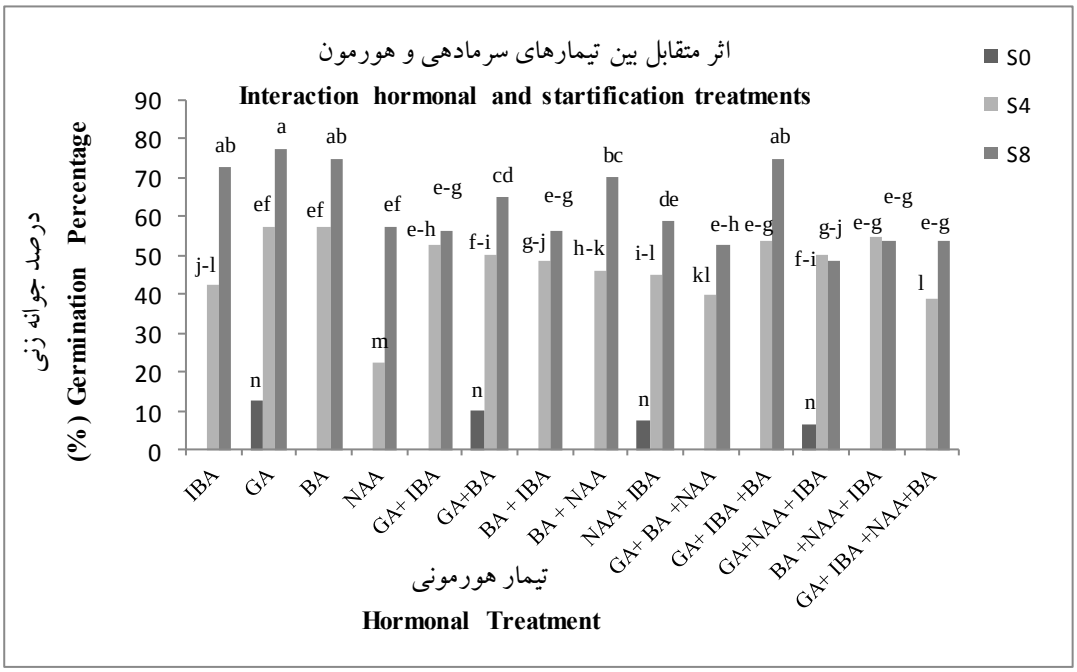
اترشی و همکاران (Otroshy, 2010) در مطالعه بررسی اثر تنظیم کننده‌های رشد کینتین، بنزیل آمینو پورین (BAP) و اسید جیبرلیک بر شکستن خواب *Ferula assafoetida* L. گزارش کردند BAP از هورمون های سیتوکنین بیشترین میزان جوانه زنی را داشت. گزارش شده است سیتوکنین‌ها اثر $GA_3$ را در سیستم جوانه‌زنی بذر کرفس افزایش 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 هم افزایی بر روی جوانه‌زنی کرفس کوهی نداشت.

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که بنزیل آدنین (سیتوکنین) درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی و طول ریشه‌چه را افزایش داد. سیتوکینین ها با تحریک سنتز DNA و RNA در دانه ها، رشد و تقسیم سلولی جنین را تسهیل نموده و به جوانه‌زنی کمک می‌کنند و یا با افزایش آلفا آمیلاز و هیدرولیز نشاسته و یا با افزایش نفوذپذیری غشا سیتوپلاسمی و در نتیجه انتقال سریع تر مواد بر روی جوانه زنی اثرگذار هستند (Li, 2000). مطالعات نشان می‌دهد که سیتوکینین‌ها باعث افزایش فعالیت جیبرلین در سیستم بذر کرفس زراعی شده و منجر به تسریع خواب شکنی آن می‌شود (Biddington and Thomas, 1978).

ایندول بوتیریک اسید (نوعی هورمون اکسین) اثر مثبت معنی داری بر درصد جوانه زنی و طول ریشه‌چه داشت.

بعضی از بررسی‌ها مشخص کرده است که اکسین‌ها اثرات افزایشی کمی بر جوانه‌زنی بذر دارند. اکسین، با کمک در طویل نمودن غلاف ساقه‌چه و ریشه‌چه و به وسیله فعال نمودن زمین گرایی و نورگرایی رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه را تنظیم می‌کند (Bialek *et al.*, 1992; Singh, 1990; Nabaee, 2011). در این مطالعه نفتالین استیک اسید (NAA) پارامترهای جوانه زنی کرفس کوهی را افزایش داد. این یافته‌ها با نتایج گوداده و دهوران (Gudadhe and Dhoran, 2012) مشابه است. ایشان گزارش کردند NAA جوانه‌زنی *Asparagus sprengeri* را افزایش می دهد.

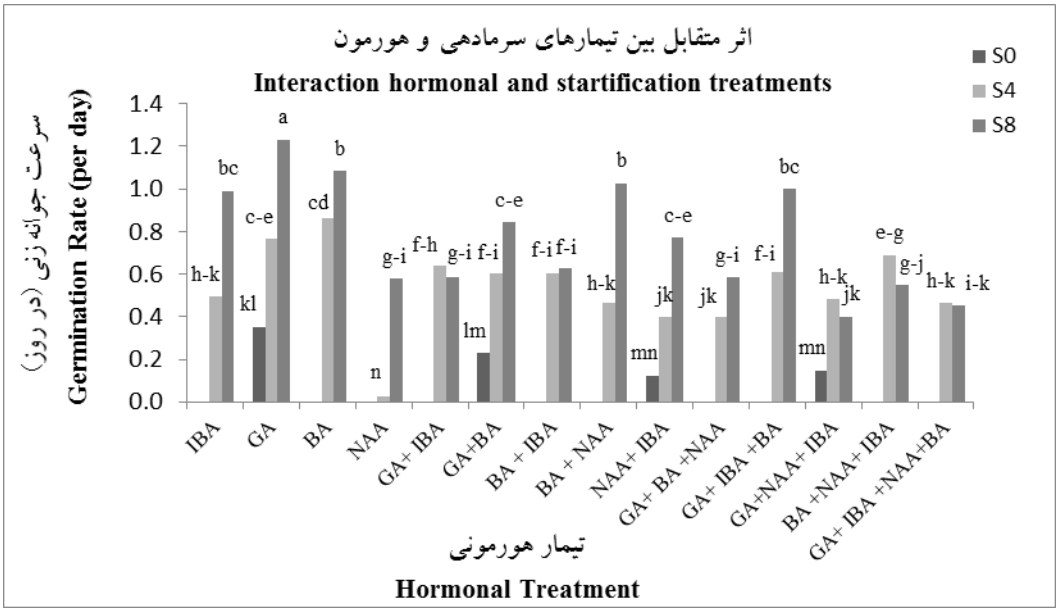
اثر متقابل سرمادهی (۰، ۴ و ۸ هفته) و هورمون‌ها (۵۰۰ PPM) بر درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و میانگین زمان جوانه‌زنی معنی دار بود (جدول ۱)، بطوریکه بیشترین درصد جوانه زنی به ترتیب در GA، BA، IBA، GA+IBA+BA و BA+NAA در شرایط ۸ هفته سرمادهی بود (شکل ۱). بیشترین سرعت جوانه‌زنی به ترتیب در GA، BA، BA+NAA، IBA و GA+IBA+BA در شرایط ۸ هفته سرمادهی بود (شکل ۲). بیشترین طول ریشه‌چه 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 جوانه‌زنی 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).




شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل بین سرمادهی مرطوب و هورمون‌ها بر روی درصد 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.

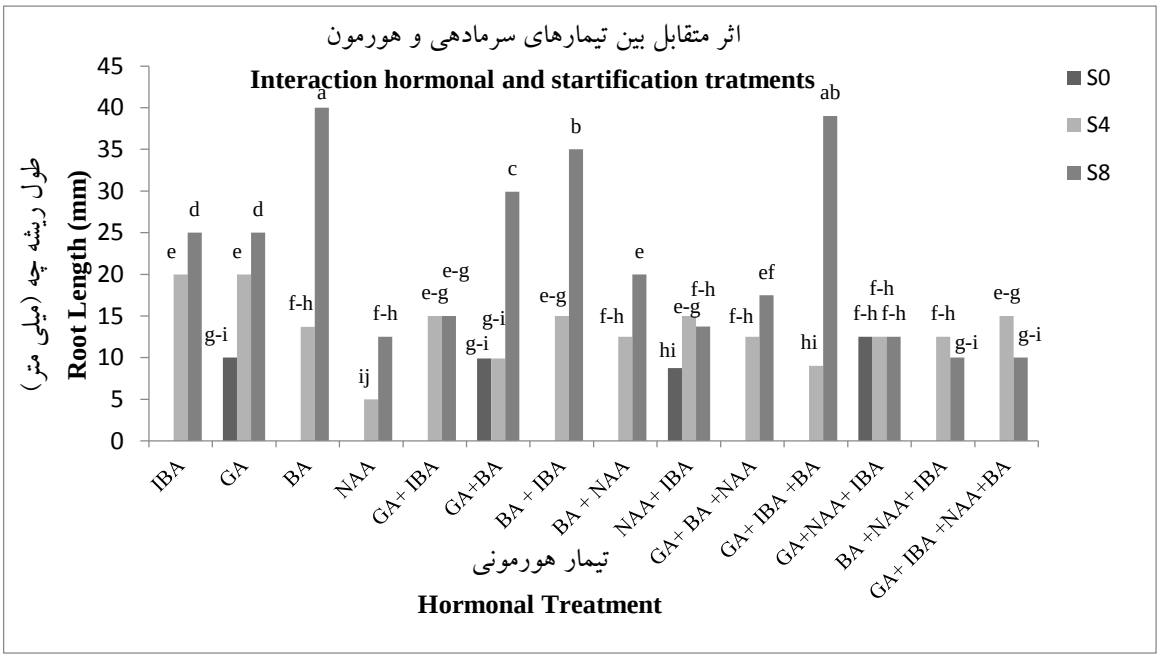
Figure 1- Means comparison of the interaction between stratification (S) and hormones (H) on germination percentage of *Kelussia odoratissima* (columns with minimum a same letter don't have significant difference, using LSD method, p=0.05)




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.

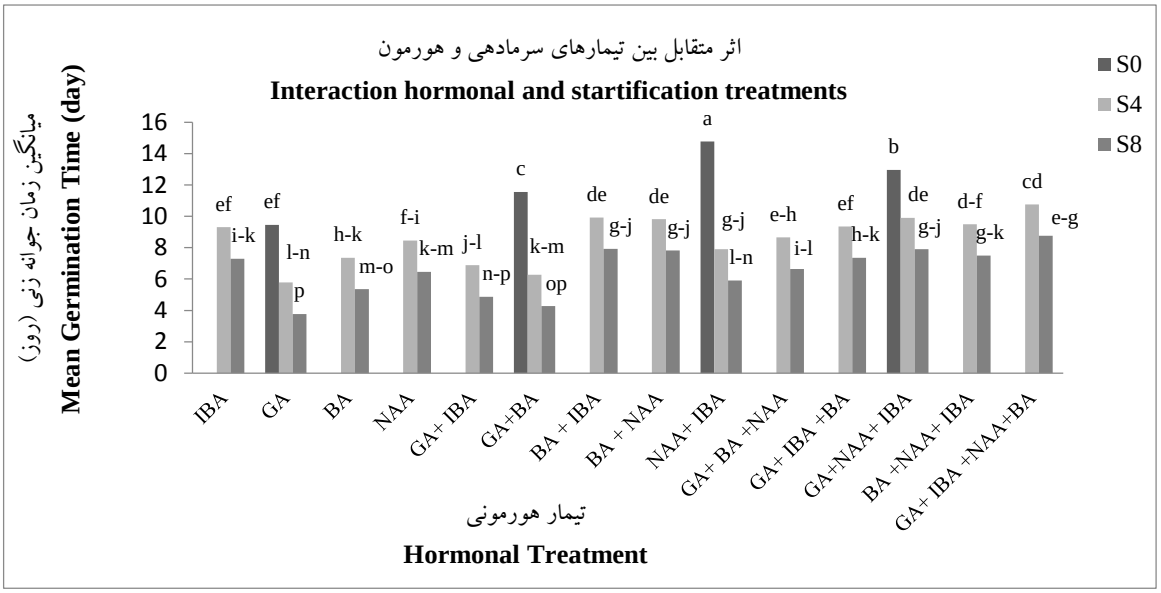
Figure 2- Means comparison of the interaction between stratification (S) and hormones (H) on germination rate of *Kelussia odoratissima* (columns with minimum a same letter don't have significant difference, using LSD method, p=0.05)




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)

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 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 مؤثرترین هورمون در جوانه‌زنی کرفس کوهی بود. این نتایج با یافته‌های گودادی 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) بذرهای 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 طورکلی 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

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 GA، GA+IBA+BA، BA و IBA در شرایط ۸ هفته سرمادهی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد بودند.

جدول ۲- ضریب همبستگی بین صفات اندازه گیری 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 | -0.05ns | -0.10ns | 0.06ns | 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

## تشکر و قدردانی

از مسئولین محترم دانشکده آزاد اسلامی واحد خوراسگان که در تأمین منابع مالی مورد نیاز انجام این تحقیق مساعدت کافی را داشته‌اند، تقدیر و تشکر می‌گردد.

## منابع

## Reference

**Amooaghaie, 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 salmianaotto 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. IJRFPBGR (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 gibberllins. 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 Tork, 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. Haghighi, 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. 200**1. 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 gibberllins 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)

**Nabaee, 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)

**Nabaee, 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 $H_2SO_4$, $KNO_3$ 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. Kermode. 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.