علوم و تحقیقات بذر ایران
سال چهارم/ شماره سوم/ ۱۳۹۶ (۶۱ - ۵۳)

DOI: 10.22124/jms.2017.2507

اثر چینه‌سرمایی و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر جوانه‌زنی بذر شقایق ایرانی(*Glaucium corniculatum*)

کاظم بشیری[۱]، ابوالفضل جوکار[۲*]، اکبر کرمی[۲]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۷/۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۸/۱۰

چکیده

برای حل مشکل جوانه‌زنی بذرهای شقایق ایرانی، سه آزمایش با طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. آزمایش اول شامل چینه‌سرمایی ۵ درجه سلسیوس (۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰ روز) بود. آزمایش دوم در بردارنده تیمارهای اسیدجیبرلیک (۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰، ۳۵۰، ۴۰۰، ۴۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، بنزیل‌آدنین (۰ ، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰) و استریگولاکتون (۰، ۰/۰۱، ۰/۱ و ۱ میلی‌گرم در لیتر) بود. آزمایش سوم ترکیبی از بهترین تیمارهای آزمایش اول و دوم شامل ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدجیبرلیک + ۵۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیل‌آدنین، ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدجیبرلیک + ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیل‌آدنین، ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدجیبرلیک + چینه سرمایی ۶۰ روزه و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیل‌آدنین + چینه سرمایی ۶۰ روزه بود. نتایج آزمایش اول با اختلاف معنی‌دار نسبت به شاهد نشان داد بیشترین میانگین روزانه، سرعت و در صد جوانه‌زنی به ترتیب در تیمارهای ۳۰، ۶۰ و ۷۰ روز چینه سرمایی با مقادیر ۱/۸۶ و ۳/۴ و ۸۱ در صد است. نتایج آزمایش دوم نشان داد اسیدجیبرلیک تأثیر معنی‌داری بر جوانه‌زنی بذر در مقایسه با تیمارهای شاهد، بنزیل‌آدنین و استریگولاکتون دارد. حداکثر جوانه‌زنی بذرها با کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدجیبرلیک بدست آمد. آزمایش سوم نشان داد ترکیب تیمارهای چینه‌سرمایی ۶۰ روز با ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدجیبرلیک در مقایسه با کاربرد تنهای ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدجیبرلیک شاخص‌های درصد (۸۱/۲۵٪)، سرعت (۵/۲۳) و میانگین جوانه‌زنی روزانه (۱/۳۵) را ده برابر افزایش داده است، که می‌توان تأثیر اصلی آن را به ۶۰ روز سرما نسبت داد.

واژه‌های کلیدی: استریگولاکتون، تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، چینه‌سرمایی، شقایق ایرانی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
۲- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
* نویسنده مسئول: ajowkar@shirazu.ac.ir

مقدمه

جنس *Glaucium* دارای ۳۰ گونه است که در مناطقی چون اروپا، شمال آفریقا، جنوب شرقی آسیا و آسیای مرکزی پراکنده شده و منبع غنی از آلکالوئید ایزوکوئینولین[1] است (Doncheva *et al*., 2014). شقایق ایرانی (*Glaucium corniculatum*) یکی از ۳ گونه بومی این جنس در ایران است. گلبرگ‌های آن به رنگ قرمز و در مرکز جام گل سیاه‌رنگ است. این گل دارای ۲۰ نوع آلکالوئید فعال است که برخی از آنها برای درمان سرفه کاربرد دارند (Kintsurashvili and Vachnadze, 2000). شقایق‌های ایران دارای آلکالوئید آپورفین هستند که در گیاهان سایر مناطق وجود ندارد (Doncheva *et al*., 2014).

یکی از مهم‌ترین موانع تأثیرگذار در به‌نژادی و تولید گیاهان، برطرف کردن خواب بذرها است. جوانه‌زنی بذرها فرایندی پیچیده بوده که بوسیله شبکه‌های بیوشیمیایی و مولکول‌های پیغام‌رسان مثل رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS)، آنتی‌اکسیدان‌ها و هورمون‌ها تسهیل می‌شود (El-Maarouf-Bouteau and Bailly, 2008). جیبرلین‌ها (GA) از طریق سنتز یا فعال کردن آنزیم‌های سُست‌کننده دیواره سلولی، به عنوان محرک‌های خروج ریشه‌چه و جوانه‌زنی رویان عمل می‌کنند. جیبرلین‌ها همچنین باعث تولید آنزیم‌های هیدرولیزکننده ذخایر غذایی بذر، از جمله آلفاآمیلاز شده تا جوانه‌زنی بذرها را تسهیل می‌کنند (Miransaria and Smith, 2014). با جذب آب توسط بذر، تجزیه اسیدآبسایزیک به عنوان بازدارنده جوانه‌زنی شروع می‌شود (Bewley *et al*., 2013). سایتوکینین‌ها نیز با اثرات بازدارنده آبسیزیک اسید (ABA) در سطح رونویسی مقابله کرده و احتمالاً در تقسیم سلول‌ها و طویل شدن ریشه‌ها نقش ایفا می‌کنند (Wang *et al*., 2011). استریگولاکتون‌ها[2] به عنوان گروه جدیدی از هورمون‌ها (Chiwocha *et al*., 2009; Gomez-Roldan *et al*., 2008) باعث کاهش نسبت آبسیزیک اسید به جیبرلین شده و در نتیجه جوانه‌زنی بذر گیاهان را افزایش می‌دهند (Cheng *et al*., 2013; Coons *et al*., 2014; Ghebrehiwot *et al*., 2012).

چینه‌سرمایی یکی از روش‌های رایج در افزایش و تسریع جوانه‌زنی بذرها بشمار می‌رود (Huang *et al*., 2004; Outcall, 1991). نشان داده شده است که سرمادهی مرطوب باعث تسهیل در جوانه‌زنی بسیاری از گونه‌های گیاهی چون *Aesculus hippocastanum* (Tompsett *et al*., 1998)، *Pinus taeda* (Wu *et al*., 2001)، *Ginkgo biloba* (Wilson *et al*., 2004)، *Acer pensylvanicum* (Bourgoin *et al*., 2004) و *Larix deciduas* (Gorian *et al*., 2007) می‌شود. تحقیقات Golmohammadzadeh و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد بذرهای دو گونه خشخاش ایران *Papaver dubium* و *P. rhoeas* با دریافت سرمادهی مرطوب ۴ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ روز، به ترتیب جوانه‌زنی حداکثری ۴۲/۹۳ و ۴۷/۶ درصد داشتند. در جنس *Glaucium* فقط یک گزارش در دنیا بر روی دو گونه *G. elegans* و *G. squamigera* وجود دارد که با قرار گرفتن در دمای ۲۱ درجه سلسیوس به مدت دو و سه هفته به ترتیب ۱۷ و ۵۵ درصد جوانه‌زنی نشان دادند (Deno, 1993). با توجه به اینکه پژوهش‌های پیشین بر روی بذرهای دو گونه خشخاش و شقایق به درصد بالایی از جوانه‌زنی دست نیافته‌اند و از طرف دیگر تاکنون در دنیا گزارشی در جهت بهبود مشکل جوانه‌زنی بذرهای شقایق ایرانی (*G. corniculatum*) ارائه نشده است، در این تحقیق بر آن شدیم تا به عنوان مقدمه‌ای برای اهلی‌کردن و اصلاح این گیاه ارزشمند ایرانی، تیمارهای محرک جوانه‌زنی بذر بررسی و معرفی شوند.

مواد و روش‌ها

بذرهای G. corniculatum از منطقه کازرون در استان فارس در خرداد ماه ۱۳۹۳ جمع‌آوری شدند. در شهریور ماه ۱۳۹۳ بذرها بعد از جداسازی از کپسول و ضدعفونی سطحی با بنومیل به غلظت ۱/۵ در هزار، برای اعمال تیمارها به آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز منتقل شد.

تعداد ۱۰۰ عدد بذر بر روی کاغذ صافی درون پتری‌دیش ۸ سانتی‌متری قرار داده شدند. برای هر تیمار چهار تکرار (پتری‌دیش) در نظر گرفته شد. برای کنترل شرایط محیطی

[1] Isoquinoline

[2] Strigolactones

از انکوباتور (Gallenkamp ساخت کشور انگلیس) استفاده شد. پتری‌دیش‌ها با ۵ میلی‌لیتر آب مقطر آبیاری و هر ۵ روز یکبار بذرهای جوانه‌زده‌ای که ریشه‌چه آنها ظاهر شده بود، شمارش شدند. سه آزمایش با طرح کاملاً تصادفی به ترتیب انجام گرفت تا مشخص شود که بذر شقایق ایرانی در کدام تیمار جوانه‌زنی بهتری دارد. در آزمایش اول اثر چینه‌سرمایی (CS) (۵ درجه سلسیوس) به مدت ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰ روز بررسی شد. در این آزمایش بعد از آبیاری بذرهای درون پتری‌دیش در انکوباتور، تیمارهای زمانی در دمای ۵ درجه سلسیوس و تاریکی اعمال شد. سپس آزمایش دوم با هدف بررسی اثر جایگزینی تنظیم کننده‌های رشد به جای تیمار سرمایی انجام شد. اثر غلظت‌های مختلف تنظیم کننده‌های رشد گیاهی اسیدجیبرلیک (GA_3) (۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰، ۳۵۰، ۴۰۰، ۴۵۰، ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، بنزیل‌آدنین (BA) (۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و استریگولاکتون (SLs) (۰، ۰/۰۱، ۰/۱ و ۱ میلی‌گرم در لیتر) در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و تاریکی بر روی بذرها بررسی و پس از ۶۰ روز شاخص‌های جوانه‌زنی اندازه‌گیری شد. با توجه به نتایج به دست آمده از آزمایش اول و دوم، آزمایش سوم طراحی شد و اثر ترکیب تیمارهای ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدجیبرلیک + ۵۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیل‌آدنین، ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدجیبرلیک + ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیل‌آدنین، ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدجیبرلیک + چینه سرمایی ۶۰ روزه و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیل‌آدنین + چینه‌سرمایی ۶۰ روزه بررسی شد.

شمارش بذرهای جوانه‌زده هر پنج روز یکبار صورت‌گرفت. برای تعیین درصد جوانه‌زنی (GP) و میانگین جوانه‌زنی روزانه (MDG) از روش Hartmenn و همکاران (۲۰۰۲) (رابطه ۱ و ۲) و برای تعیین سرعت جوانه‌زنی (GR) از روش Maguire (۱۹۶۲) (رابطه ۳) استفاده شد. اجرای هر سه آزمایش به صورت مجزا در قالب طرح کاملاً تصادفی بود. محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار SAS انجام گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح ۱ و ۵ درصد مورد بررسی قرار گرفتند.

رابطه ۱: $GP = (\frac{\sum G}{N})/N \times 100$

G: تعداد بذر جوانه‌زده، N: تعداد کل بذور

رابطه ۲: $MDG = GP/T$

GP: درصد جوانه‌زنی، T: تعداد کل روزها

رابطه ۳: $GR = \sum_{i=1}^{n} \frac{Si}{Di}$

Si: تعداد بذر جوانه‌زده در هر شمارش، Di: تعداد روز تا شمارش nام، n: دفعات شمارش

نتایج و بحث

نتایج آزمایش اول نشان داد که اثر تیمارهای چینه‌سرمایی در مقایسه با شاهد در سطح ۱ درصد بر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و میانگین جوانه‌زنی روزانه معنی‌دار بود (جدول ۱). بذرهای شاهد در دمای معمولی اتاق جوانه‌زنی نداشتند. در پژوهش حاضر بر روی شقایق ایرانی با افزایش مدت زمان چینه‌سرمایی از ۱۰ به ۱۰۰ روز، درصد جوانه‌زنی بذرها در مقایسه با تیمار شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت. بیشترین درصد و سرعت جوانه‌زنی در تیمارهای ۶۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰ روز سرما دیده شد و

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر چینه‌سرمایی بر درصد، سرعت و میانگین جوانه‌زنی روزانه بذرهای *G.corniculatum*

Table 1. Analysis of variance of the effect of cold stratification on germination percentage (GP), germination rate (GR) and mean daily germination (MDG) of G. corniculatum seeds

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات: میانگین جوانه‌زنی روزانه MDG	سرعت جوانه‌زنی GR	درصد جوانه‌زنی GP (%)
تیمار	10	0.65**	3.5**	2402.94**
خطا	30	0.03	0.09	55.94
ضریب تغییرات (٪)		16.51	11.43	12.19

**در سطح احتمال ۱ درصد تفاوت معنی‌دار است

**Significantly different at probability level of 1%.

بیشترین میانگین جوانه‌زنی روزانه نیز در تیمار ۳۰ روز سرما بدست‌آمد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارهای سرمایی نشان‌داد (جدول۲). با توجه به اینکه از سه شاخص جوانه‌زنی اندازه‌گیری شده، بیشترین درصد و سرعت جوانه‌زنی در تیمار ۶۰ روز چینه‌سرمایی مشاهده شد و از طرفی این تیمار نسبت به ۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰ روز چینه‌سرمایی اختلاف معنی‌داری نشان نداد و همچنین به دلیل اینکه در کمترین زمان و هزینه، مقادیر حداکثری جوانه‌زنی را به دست داد، می‌تواند در مجموع تیمار مناسب‌تری باشد (جدول ۲). یافته های تحقیق حاضر مطابق با نتایج تحقیق بر روی بذرهای دو گونه خشخاش ایرانی *Papaver dubium* و *P. rhoeas* است که با دریافت سرمادهی مرطوب ۴ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ روز، به ترتیب جوانه‌زنی حداکثری ۴۲/۹۳ و ۴۷/۶ درصد داشتند (Golmohammadzadeh *et al.*, 2015).

جدول ۲- اثر چینه‌سرمایی بر درصد، سرعت و میانگین جوانه‌زنی روزانه بذرهای *G.corniculatum*

Table 2. Effect of cold stratification on germination percentage (GP), germination rate (GR) and mean daily germination (MDG) of G. *corniculatum* seeds

تیمارها (روز) Treatments (day)	میانگین جوانه‌زنی روزانه MDG	سرعت جوانه‌زنی GR	درصد جوانه‌زنی GP (%)
شاهد (Control)	-	-	-
10	0.43f	0.43d	9.25d
20	1.5b	1.84c	30c
30	1.86a*	2.8b	56b
40	1.46b	3.1ab	58.5b
50	1.23bc	3ab	61.75b
60	1.26bc	3.4a	76a
70	1.15dc	3.31a	81a
80	1cde	3.19ab	80a
90	0.89de	3.33a	80.25a
100	0.8e	3.19ab	80.5a*

* اعدادی که دارای حرف مشترک هستند، در سطح ۱٪ آزمون LSD تفاوت معنی‌داری ندارند

*Numbers followed by the same letter are not significantly different under LSD test (P<0.01)

به‌طور کلی بذر های دارای خفتگی فیزیولوژیکی برای بهبود جوانه‌زنی نیاز به تیمارهای چینه‌سرمایی دارند (Foley, 2001). افزایش میزان جوانه‌زنی بذر در اثر افزایش مدت زمان چینه‌سرمایی، ممکن است به دلیل نرم‌شدن بیشتر پوسته بذر و جذب آب بیشتر و همچنین افزایش میزان جیبرلین درون بذر باشد (Penfield *et al.*, 2005). به نظر می‌رسد در تحقیق حاضر نیز سرما مقدار هورمون محرک درونی بذر یعنی جیبرلین را افزایش و مقدار هورمون بازدارنده درونی بذر یعنی آبسایزیک اسید را کاهش داده، در نتیجه جوانه‌زنی بذرها افزایش یافته است (Bicalho *et al.*, 2015). همچنین نتایج آزمایش دوم نشان داده که اثر تیمارهای تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در سطح ۱ درصد بر درصد، سرعت و میانگین جوانه‌زنی روزانه معنی‌دار است (جدول۳). بیشترین درصد و میانگین جوانه‌زنی روزانه در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدجیبرلیک به ترتیب با ۵/۸ درصد و ۰/۱۴ به دست آمد. حداکثر سرعت جوانه زنی (۰/۳۱) در غلظت های ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسید جیبرلیک مشاهده شد که با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (جدول ۴). اگرچه بیشترین درصد و سرعت جوانه‌زنی در تیمارهای اسیدجیبرلیک با غلظت کم مشاهده شد، ولی مقادیر شاخص‌های جوانه‌زنی علی‌رغم معنی‌دار بودن نسبت به کنترل، خیلی‌کم و غیرقابل توجه بودند. در گیاهان مختلف نشان داده شده است که جیبرلین می‌تواند جایگزین نیاز سرمایی بذرها برای جوانه‌زنی شود (Allen *et al.*, 2007; Rietveld *et al.*, 2000)، اما در این پژوهش نتوانست به طور کامل جایگزین سرما شود (جدول ۴). اثر

تحریک‌کنندگی بنزیل‌آدنین بر جوانه‌زنی بذر شقایق مشابه با جیبرلین و به مقدار اندک بود (جدول ۴). با وجود اینکه سایتوکینین باعث تقسیم سلولی شده و مواد غذایی را در طول جوانه‌زنی بذرها به حرکت درمی‌آورد (Nikolic *et al.*, 2006; Riefler *et al.*, 2006)، ولی شواهد قطعی برای تأثیر مستقیم سایتوکینین بر جوانه‌زنی بذرها وجود ندارد (Del Pozo *et al.* 2005; Stirk *et al.*, 2005). با وجود اینکه استریگولاکتون باعث جوانه‌زنی بذرهای علف‌هرز گل‌جالیز (*Orobanche sp.*) و استریگا (*Striga sp.*) شده است (Bouwmeester *et al.*, 2003)، اما در تحقیق حاضر مشخص گردید این تنظیم‌کننده رشد گیاهی برای جوانه‌زنی بذر شقایق کارایی ندارد (جدول۴).

جدول۳- تجزیه واریانس اثر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر درصد، سرعت و میانگین جوانه‌زنی روزانه بذر *G.corniculatum*

Table 3. Analysis of variance of the effect of plant growth regulators on germination percentage (GP), germination rate (GR) and mean daily germination (MDG) of G. *corniculatum* seeds

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات: میانگین جوانه‌زنی روزانه MDG	سرعت جوانه‌زنی GR	درصد جوانه‌زنی GP (%)
تیمار Treatment	16	0.07**	0.04**	27.02**
خطا Error	48	0.01	0.01	5.34
ضریب تغییرات (٪) CV		5.2	5.3	5.1

**در سطح احتمال ۱ درصد تفاوت معنی‌دار است

**Significantly different at probability level of 1%.

نتایج آزمایش سوم نشان داد اثر تیمارهای ترکیبی بنزیل‌آدنین، اسید جیبرلیک و سرما در سطح ۱ درصد بر درصد، سرعت و میانگین جوانه‌زنی روزانه معنی‌دار است (جدول۵). تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدجیبرلیک + چینه سرمایی ۶۰ روزه بیشترین در صد (۸۱/۲۵٪)، سرعت (۵/۲۳) و میانگین جوانه‌زنی روزانه (۱/۳۵) را به دست داد که با تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیل‌آدنین + چینه‌سرمایی ۶۰ روزه به جز در سرعت جوانه‌زنی، تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۶). نتایج آزمایش سوم نشان‌داد استفاده از بنزیل‌آدنین و اسید جیبرلیک با یکدیگر، همانند کاربرد جداگانه آنها در افزایش جوانه‌زنی بذرها مؤثر نبود. ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی با سرما توانست شاخص‌های جوانه‌زنی بذرها را کمی بهبود دهد (جدول ۶). به نظر می‌رسد محرک اصلی جوانه‌زنی بذرها در حالت ترکیبی تیمارها، سرما باشد. چینه سرمایی تعادل هورمونی درون بذر را تغییر می‌دهد به طوریکه مقدار جیبرلین افزایش و مقدار آبسیزیک اسید کاهش می‌یابد (Hassan and Fetouh 2014). کاربرد خارجی جیبرلین برای جایگزینی چینه‌سرمایی در بسیاری از بذرها گزارش شده است (Dhupper, 2013; Ghayyad *et al.*, 2010). جیبرلین از طریق فعال کردن آنزیم‌های بسیج کننده مواد غذایی باعث جوانه‌زنی می شود (Hartmenn *et al.*, 2002). تأثیر مثبت اسیدجیبرلیک با سرما در جوانه‌زنی بذر شقایق ایرانی مطابق با یافته‌های محققین بر روی همیشک (Danae racemosa)، ماگنولیا (Magnolia grandiflora) و گردو (Juglans nigra) می‌باشد که ثابت کردند اسید جیبرلیک همراه با سرما بر میزان فعالیت‌های متابولیکی و فیزیولوژیکی بذرها از جمله محلول شدن قند و چربی اثر می‌گذارند و باعث افزایش جوانه‌زنی بذرها می‌شوند (Hassan, 2014; Parvin *et al.*, Dahkaei, 2009; Fetouh and 2015).

نتیجه‌گیری

با مقایسه نتایج تیمارهای سرما و تنظیم‌کننده های رشد گیاهی به صورت جداگانه و یا در ترکیب با یکدیگر (جدول‌های ۲، ۴ و ۶)، می‌توان احتمال داد که بذر شقایق وحشی ایرانی (*G. corniculatum*) دارای خفتگی فیزیولوژیکی بوده و برای رفع آن نیاز به حداقل ۶۰ روز سرما دارد. کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی به تنهایی بر روی بذرها دارای اثر بسیار کم و در ترکیب با سرما نیز دارای اثر تحریکی اندکی است، بنابراین استفاده از آنها بر روی بذرهای این گیاه را نمی‌توان توصیه کرد.

جدول ۴- اثر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر درصد، سرعت و میانگین جوانه‌زنی روزانه بذرهای *G.corniculatum*

Table 4. Effect of plant growth regulators on germination percentage (GP), germination rate (GR) and mean daily germination (MDG) of G. corniculatum seeds

تیمارها (میلی‌گرم در لیتر) Treatments (mg/L)	میانگین جوانه‌زنی روزانه MDG	سرعت جوانه‌زنی GR	درصد جوانه‌زنی GP (%)
شاهد (Control)	-	-	-
GA_3, 100	0.14a	0.31a	8.5a*
GA_3, 150	0.12a	0.31a	7.75a
GA_3, 200	0.12ab	0.3ab	7.5ab
GA_3, 250	0.13a	0.31a	8a
GA_3, 300	0.1abc	0.26abc	6abc
GA_3, 350	0.1abc	0.21abcd	6abc
GA_3, 400	0.05cde	0.12def	3cde
GA_3, 450	0.09abc	0.19abcd	5.5abc
GA_3, 500	0.07bcd	0.16cde	4.25bcd
BA, 25	0.008e	0.01ef	0.5e
BA, 50	0.05cde	0.13cdef	3cde
BA, 100	0.05cde	0.17bcde	3.5cde
BA, 200	0.05cde	0.15cdef	3cde
SLs, 0.01	0.02de	0.05ef	1.5de
SLs, 0.1	0.03de	0.06ef	2de
1 SLs,	0.02de	0.04ef	1.5de

* اعدادی که دارای حرف مشترک هستند، در سطح ۱٪ آزمون LSD تفاوت معنی‌داری ندارند

*Numbers followed by the same letter are not significantly different under LSD test (P<0.01).

جدول ۵- تجزیه واریانس اثر تیمارهای ترکیبی بنزیل‌آدنین، اسید جیبرلیک و سرما بر درصد، سرعت و میانگین جوانه‌زنی روزانه بذرهای *G. corniculatum*

Table 5. Table 5. Analysis of variance of the integrated effects of BA, GA3 and cold treatments on germination percentage (GP), germination rate (GR) and mean daily germination (MDG) of G. *corniculatum* seeds

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات میانگین جوانه‌زنی روزانه MDG	سرعت جوانه‌زنی GR	درصد جوانه‌زنی GP (%)
تیمار Treatment	4	2.06**	24.05**	7431.72**
خطا Error	12	0.01	0.02	37.06
ضریب تغییرات (٪) CV		14	7.42	14.3

**در سطح احتمال ۱ درصد تفاوت معنی‌دار است

**Significantly different at probability level of 1%.

جدول ۶- اثر تیمارهای ترکیبی بنزیل‌آدنین، اسید جیبرلیک و سرما بر درصد، سرعت و میانگین جوانه‌زنی روزانه بذر *G. corniculatum*

Table 6. Effect of the integrated effects of BA, GA3 and cold treatments on germination percentage (GP), germination rate (GR) and mean daily germination (MDG) of G. *corniculatum* seeds

تیمارها (روز) Treatments (day)	میانگین جوانه‌زنی روزانه MDG	سرعت جوانه‌زنی GR	درصد جوانه‌زنی GP (%)
شاهد (Control)	-	-	-
BA, 50 mg/L + GA3, 100 mg/L	0.1b	0.32c	6b
BA, 200 mg/L + GA3, 400 mg/L	0.07b	0.25c	4.5b
BA, 100 mg/L + CS, 60D	1.3a	3.47b	78.5a
GA3, 100 mg/L + CS, 60 D	1.35a	5.23a	81.25a

* اعدادی که دارای حرف مشترک هستند، در سطح ۱٪ آزمون LSD تفاوت معنی‌داری ندارند

*Numbers followed by the same letter are not significantly different under LSD test (P<0.01).

منابع

Allen, P. S., Benech-Arnold, R. L., Batlla, D. and Bradford, K. J. 2007. Modeling of seed dormancy. In: Bradford, K. J. and Nonogaki, H. (Eds.). Seed development, dormancy and germination. Blackwell Publishing, Oxford, UK. pp: 72-112. **(Book)**

Bewley, D., Bradford, K. J., Hilhorst, H. W. M. and Nonogaki, H. 2013. Seeds – Physiology of development, germination and dormancy (3rd e d.), Springer. **(Book)**

Bicalho, E. M., Pinto-Marijuan, M., Morales, M., Muller, M., Munne-Bosch, S. and Garcia, Q. S. 2015. Control of macaw palm seed germination by the gibberellin/abscisic acid balance. Plant Biology, 17: 990-996. **(Journal)**

Bourgoin, A. and Simpson, J. D. 2004. Soaking, moist-chilling, and temperature effects on germination of Acer *pensylvanicum* seeds. Canadian Journal of Forest Research, 34 (10): 2181-2185. **(Journal)**

Bouwmeester, H. J., Matusova, R., Zhongkui, S. and Beale, M. H. 2003. Secondary metabolite signalling in host-parasitic plant interactions. Current Opinion in Plant Biology, 6: 358-364. **(Journal)**

Cheng, X., Ruyter-Spira, C. and Bouwmeester, H. 2013. The interaction between strigolactones and other plant hormones in the regulation of plant development. Frontiers in Plant Science, 4 (199): 1-16. **(Journal)**

Chiwocha, S. D. S., Dixon, K. W., Flematti, G. R., Ghisalberti, E. L., Merritt, D. J., Nelson, D. C., Riseborough, J. M., Smith, S. M. and Stevens, J. C. 2009. Karrikins: A new family of plant growth regulators in smoke. Plant Science, 177: 252-256. **(Journal)**

Coons, J., Coutant, N., Lawrence, B., Finn, D. and Finn, S. 2014. An effective system to produce smoke solutions from dried plant tissue for seed germination studies. Applications in Plant Science, 2: 1-3. **(Journal)**

Dahkaei, M. N. P. 2009. Effect of gibberellic acid, temperature and cold moist stratification on seed germination of *Danae racemosa.* Acta Horticulturae, 813: 445-452. **(Journal)**

Del Pozo, J. C., Lopez-Matas, M. A., Ramirez-Parra, E. and Gutierrez, C. 2005. Hormonal control of the plant cell cycle. Physiologia Plantarum, 123: 173-183. **(Journal)**

Deno, N. C. 1993. Seed germination theory and practice (2nd e d.). Pennsylvania state university. **(Book)**

Dhupper, R. 2013. Effect of gibberellic acid on seed germination and seedling growth behaviour in three desert tree species. The Journal of Biological Chemistry research, 30 (1): 227-232. **(Journal)**

Doncheva, T., Kostova, N., Yordanova, G., Saadi, H., Akrib, F., Dimitrov, D. and Philipov, S. 2014. Comparison of alkaloid profile from *Glaucium corniculatum* (Papaveraceae) of Algerian and Bulgarian origin. Biochemical Systematics and Ecology, 56: 278-280. **(Journal)**

El-Maarouf-Bouteau, H. and Bailly, C. 2008. Oxidative signaling in seed germination and dormancy. Plant Signaling and Behavior, 3: 175-182. **(Journal)**

Foley, M. E. 2001. Seed dormancy: an update on terminology, physiological, genetics, and quantitative trait loci regulating germinability. Weed Science, 49: 305-317. **(Journal)**

Ghayyad, M., Kurbysa, M. and Napolsy, G. 2010. Effect of endocarp removal, gibberellin, stratification and sulfuric acid on germination of mahaleb (*Prunus mahaleb* L.) seeds. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science, 9: 163-168. **(Journal)**

Ghebrehiwot, H. M., Kulkarini, M. G., Szalai, G., Soòs, V., Balázs, E. and Van staden, J. 2012. Karrikinolide residues in grassland soils following fire: Implications on germination activity. South African Journal of Botany, 88: 419-424. **(Journal)**

Gomez-Roldan, V., Fermas, S., Brewer, P. B., Puech-Pagès, V. and Dun, E. A. 2008. Strigolactone inhibition of shoot branching. Nature, 455: 189-194. **(Journal)**

Gorian, F., Pasquini, S. and Daws, M. I. 2007. Seed size and chilling affect germination of *Larix decidua* Mill. Seeds. Seed Science and Technology, 35 (2): 508-513. **(Journal)**

Hartmenn, H. T., Kester, D. E., Devies, F. T. and Geneve, R. L. 2002. Plant propagation: Principles and practices (7th e d.). Prentice Hall. **(Book)**

Hassan, F. A. and Fetouh, M. I. 2014. Seed germination criteria and seedling characteristics of Magnolia grandiflora L. trees after cold stratification treatments. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 3 (3): 235-241. **(Journal)**

Huang, Z., Dong, M. and Gutterman, Y. 2004. Factors influencing seed dormancy and germination in sand, and seedling survival under desiccation, of *Psammochloa villosa* (Poaceae), inhabiting the moving sand dunes of Ordos, China. Plant Soil, 259: 231-241. **(Journal)**

Kintsurashvili, L. G., Vachnadze, V. Y. 2000. Alkaloids of *Glaucium corniculatum* and *G. flavum* growing in Georgia. Chemistry of Natural Compounds, 36 (2): 225-226. **(Journal)**

Maguire, J. D. 1962. Speed of germination in selection and evaluation for seedling vigor. Crop Science, 2: 176-177. **(Journal)**

Miransaria, M. and Smith, D. L. 2014. Plant hormones and seed germination. Environmental and Experimental Botany, 99: 110-121. **(Journal)**

Nikolic, R., Mitic, N., Miletic, R. and Neskovic, M., 2006. Effects of cytokinins on in vitro seed germination and early seedling morphogenesis in Lotus *corniculatus* L. Journal of Plant Growth Regulation, 25: 187-194. **(Journal)**

Outcall, K. W. 1991. Aerated stratification improves germination of Ocala sand pine seed. Tree Planters Notes, 42 (1): 22-26. **(Journal)**

Parvin, P., Khezri, M., Tavasolian, I. and Hosseini, H. 2015. The Effect of gibberellic acid and chilling stratification on seed germination of eastern black walnut (*Juglans nigra* L.). Journal of Nuts, 6 (1): 67-76. **(Journal)**

Penfield, S., Josse, E. M., Kannangara, R., Gilday, A. D., Halliday, K. J. and Graham, I. A. 2005. Cold and light control seed germination through the bHLH transcription factor spatula. Current Biology, 15: 1998-2006. **(Journal)**

Riefler, M., Novak, O., Strnad, M. and Schmulling, T. 2006. Arabidopsis cytokinin receptor mutants reveal functions in shoot growth, leaf senescence, seed size, germination, root development, and cytokinin metabolism. Plant Cell, 18: 40-54. **(Journal)**

Rietveld, P. L., Wilkinson, C., Franssen, H. M., Balk, P. A., van der Plas, L. H. W., Weisbeek, P. J and Douwe De Boer, A. 2000. Low temperature sensing in tulip (*Tulipa gesneriana* L.) is mediated through an increased response to auxin. Journal of Experimental Botany, 51 (344): 587-594. **(Journal)**

Stirk, W. A., Gold J. D., Novak, O., Strnad, M. and van Staden, J. 2005. Changes in endogenous cytokinins during germination and seedling establishment of *Tagetes minuta* L. Plant Growth Regulation, 47 (1): 1-7. **(Journal)**

Tompsett, P. B. and Pritchard, H. W. 1998. The effect of chilling and moisture status on the germination, desiccation tolerance and longevity of *Aesculus hippocastanum* L. seed. Annals of Botany, 82: 249-261. **(Journal)**

Wang, Y., Li, L., Ye, T., Zhao, S., Liu, Z., Feng, Y. and Wu, Y. 2011. Cytokinin antagonizes ABA suppression to seed germination of *Arabidopsis* by down regulating ABI5 expression. Plant Journal, 68: 249-261. **(Journal)**

Wilson, J. C., Altland, J. E., Sibley, J. L., Tilt, K. M. and Foshee, W. G. 2004. Effects of chilling and heat on growth of *Ginkgo biloba* L. Journal of Arboriculture, 30(1): 45-51. **(Journal)**

Wu, L., Hallgren, S. W., Ferris, D. M. and Conway, K. E. 2001. Effects of moist chilling and solid matrix priming on germination of loblolly pine (*Pinus taeda* L.) seeds. New Forests, 21: 1-16. **(Journal)**

Effects of cold stratification and plant growth regulators on seed germination of Iranian horned poppy (*Glaucium corniculatum*)

Kazem Bashiri[*1], Abolfazel Jokar[2], Akbar Karami[2]

Received: September 28, 2015 Accepted: November 1, 2015

Abstract

To resolve the seed germination problem of Iranian poppy, three experiments based on a completely randomized design with three replications were conducted. The first experiment consisted of 5 ◦C cold stratification (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 & 100 days) treatments. The second experiment treatments consisted of gibberellic acid (100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 & 500 mg/L), benzyl adenine (0, 25, 50, 100 & 200 mg/L) and strigolactones (0, 0.01, 0.1 & 1 mg/L) treatments. A combination of the first and the second best treatments including 50 mg/L benzyl adenine + 100 mg/L gibberellic acid, 200 mg/L benzyl adenine + 400 mg/L gibberellic acid, 100 mg/L benzyl adenine + cold stratification at 5 ◦C for 60 days and 100 mg/L gibberellic acid + cold stratification at 5 ◦C for 60 days, were applied in the third experiment. Results of the first experiment showed that highest mean daily germination, germination rate and germination percentage was observed in 30, 60 and 70 days of cold stratification respectively. Results of the second experiment revealed that gibberellic acid had significant impacts on seed germination compared to other treatments. The maximum seed germination was observed by using 100 mg/L of gibberellic acid. The results of the third experiment demonstrated that a combination of 100 mg/L gibberellic acid with cold stratification at 5 ◦C for 60 days, increased germination percentage (81.25%), germination rate (5.23) and mean daily germination (1.35) by ten times compared to control.

Keywords: Iranian horned poppy; Plant growth regulators; Stratification; Strigolactone

How to cite this article
Bashiri, K., Jokar, A. and Karami, A. 2017. Effects of cold stratification and plant growth regulators on seed germination of Iranian horned poppy (*Glaucium corniculatum*). Iranian Journal of Seed Science and Research, 4(3): 53-61. (In Persian)**(Journal)**
DOI: 10.22124/jms.2017.2507

COPYRIGHTS
Copyrights for this article are retained by the author(s) with publishing rights granted to the Iranian Journal of Seed Science and Research
The content of this article is distributed under Iranian Journal of Seed Science and Research open access policy and the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY4.0) License. For more information, please visit http://jms.guilan.ac.ir/

1. MSc. Student, Department of Horticultural Sciences, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran
2. Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran
*Corresponding Author: ajowkar@shirazu.ac