اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی و چینه سرمایی بر رفع رکود بذر و شاخص‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دانهال‌های گردوی ایرانی (*Juglans regia* L.)

بابک ولی‌زاده کاجی و احمدرضا عباسی‌فر*

اراک، دانشگاه اراک، دانشکده کشاورزی، گروه علوم باغبانی

تاریخ دریافت: ۹۵/۶/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱/۱۹

چکیده

گردوی ایرانی (*Juglans regia* L.) یکی از مهمترین درختان میوه مناطق معتدله جهان است که بمنظور تولید میوه و چوب آن پرورش می‌یابد. بذور گردو بدلیل وجود رکود فیزیولوژیکی و مکانیکی، دارای جوانه‌زنی نامنظم و با درصد پایین بوده که رشد بعدی دانهال را با مشکل مواجه می‌سازد. هدف این آزمایش بررسی اثر طول دوره چینه سرمایی (۳۰ و ۶۰ روز) و غلظت‌های مختلف تنظیم کننده‌های رشد گیاهی (اسید جیبرلیک و کینتین) بر رفع رکود و جوانه زنی بذور گردوی ایرانی بود. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۵ تیمار و ۲۰ تکرار در شرایط گلخانه انجام شد. نتایج نشان داد که طول دوره چینه سرمایی و غلظت‌های مختلف تنظیم کننده‌های رشد بر اکثر شاخص‌های بررسی شده در سطح احتمال یک درصد دارای اختلاف معنی‌دار است، بطوری‌که تیمار تلفیقی ۶۰ روز چینه سرمایی و ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک منجر به بیشترین درصد جوانه زنی (۹۹/۲۸ درصد)، سرعت جوانه‌زنی (۲/۹۱ بذر جوانه زده در روز)، طول شاخساره (۲۴/۳۵ سانتیمتر)، طول ریشه (۱۷/۵۰ سانتیمتر)، حجم ریشه (۷/۷۱ سانتیمتر مکعب)، وزن تر شاخساره (۶/۷۸ گرم) و وزن تر ریشه (۶/۵۸ گرم) شد. با این وجود، بالاترین میزان کلروفیل a (۱۸/۶۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، کلروفیل b (۱۰/۶۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کلروفیل کل (۲۹/۲۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مربوط به تیمار ۶۰ روز چینه سرمایی و ۷۵۰ پی‌پی‌ام کینتین بود.

واژه‌های کلیدی: تنظیم کننده‌های رشد، جوانه‌زنی، چینه سرمایی، رکود، گردوی ایرانی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۸۱۶۱۱۳۷۳ ، پست الکترونیکی: abbasifar1965@yahoo.com

مقدمه

گردوی ایرانی (*Juglans regia* L.) یکی از مهمترین درختان میوه آجیلی می‌باشد که از دیرباز بمنظور تولید میوه و چوب آن مورد توجه انسان بوده است. ایران با تولید سالیانه ۴۵۰ هزار تن گردو، مقام دوم را در جهان پس از چین به خود اختصاص داده است (۱۵). چند سالی است که پیوند گردو در کشور متداول شده و بسیاری از نهال-های مورد استفاده توسط کشاورزان از نوع پیوندی است. پیوند گردو می‌تواند تأثیر قابل توجهی بر بهبود کمی و کیفی این محصول با ارزش داشته باشد (۳۵). پیوند گردو معمولاً در گلخانه انجام می‌شود و در مقایسه با اکثر درختان میوه مشکل‌تر بوده که این امر باعث افزایش قیمت نهال پیوندی گردو می‌شود. یکی از روش‌های کاهش هزینه نهال پیوندی، انجام پیوند در تمام طول سال در گلخانه می‌باشد. این امر مستلزم از بین بردن رکود بذور بطرق مختلف و افزایش درصد و سرعت جوانه زنی بذور و بدنبال آن دستیابی به دانهال‌های قوی و یکدست در مدت زمان کوتاه می‌باشد.

رکود (dormancy) پدیده‌ای است که بذور یک گیاه حتی اگر در این وضعیت در بهترین شرایط محیطی قرار گیرند، علی‌رغم زنده بودن، باز قادر به جوانه زدن نخواهند بود.

رکود بذر در واقع یک نوع سازگاری در گونه‌های مختلف است که باعث می‌شود در مقابل شرایط نامساعد محیطی زنده بمانند. انواع رکود بذر شامل فیزیکی، مکانیکی، مورفولوژیکی، مورفوفیزیولوژیکی، فیزیولوژیکی و چندگانه است (۹).

بذور بسیاری از درختان میوه دارای یک یا ترکیبی از چند نوع رکود می باشند (۳۰). بذرهای گردو نیز دارای رکود فیزیولوژیکی متوسط و رکود مکانیکی ناشی از پوسته بذر هستند که مانع جوانه‌زنی بذرهای سالم و زنده در شرایط مساعد محیطی می‌شود (۳۴). بنابراین، ارزیابی روش‌های شکستن رکود بمنظور افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر ضروری بنظر می‌رسد. متداول‌ترین روش برای شکستن رکود فیزیولوژیکی چینه سرمایی بوده (۱۰) که شامل نگهداری بذرها در محیط مرطوب برای یک دوره زمانی مشخص در دمای ۰ تا ۱۰ درجه سانتیگراد می‌باشد (۳۲). در بسیاری از گونه‌های گیاهی، دمای ۵ درجه سانتیگراد به مدت ۶۰ روز برای غلبه بر رکود بذر کافی بنظر می‌رسد (۱۰ و ۱۸). این اعتقاد وجود دارد که تیمار چینه سرمایی باعث افزایش هورمون‌های تحریک کننده رشد نظیر جیبرلین‌ها و سیتوکنین‌ها و کاهش هورمون بازدارنده اسید آبسیزیک می‌شود؛ بهمین دلیل در برخی مواقع از هورمون‌ها و مواد شیمیایی بعنوان جایگزین تمام یا بخشی از چینه سرمایی استفاده می‌گردد. از جیبرلین‌ها بطور گسترده‌ای در میوه‌کاری برای شکستن رکود و القاء جوانه‌زنی بذر و در نتیجه دستیابی به نهال‌های بذری یکدست در خزانه استفاده شده است (۱۳). علاوه‌بر این، ترکیبی از چینه سرمایی همراه با غلظت‌های مختلف هورمون‌های القاء کننده جوانه‌زنی برای شکستن رکود و تحریک جوانه‌زنی بذر در درختان میوه مختلف نظیر پاپایا (۲۵)، خرمالو (۳۳)، هلو (۱۴)، گردوی سیاه (۲۷) و محلب (۲۹) استفاده و توصیه شده است. اگرچه کاربرد اسید جیبرلیک و چینه سرمایی معمول‌ترین تکنیک‌ها برای رفع رکود در گونه‌های چوبی می‌باشند (۲۶)، اما تاکنون گزارشی در زمینه استفاده از هورمون‌های القاء کننده جوانه‌زنی نظیر جیبرلین‌ها و سیتوکنین‌ها همراه با چینه سرمایی جهت شکست رکود بذور گردوی ایرانی ارائه نشده است. بنابراین، هدف از این تحقیق بررسی اثر هورمون‌های تحریک کننده رشد اسید جیبرلیک و کینتین همراه با چینه سرمایی روی میزان جوانه‌زنی بذور و شاخص‌های مرفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیو شیمیایی دانهال‌های گردو بوده است.

مواد و روشها

تیمار بذور: بذرها از یک ژنوتیپ محلی گردوی ایرانی در شهر تفرش در اواخر تابستان ۱۳۹۴ موقعی که رطوبت آنها به حدود ۱۲ درصد بر اساس وزن خشک رسید، جمع آوری شدند. بذرها برای ۲۴ ساعت در آب مقطر غوطه‌ور گردیدند تا آب جذب نموده، سپس بوسیله غوطه‌وری در محلول هیپوکلرید سدیم ۲/۵ درصد برای ۱۰ دقیقه ضدعفونی سطحی شدند و پس از شستشو با آب مقطر استریل، تیمارهای مورد نظر بر روی آنها اعمال گردید. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۲۰ تکرار (۲۰ بذر) برای تیمارهای زیر صورت گرفت:

۱-دوره‌های مختلف چینه سرمایی (۰، ۳۰ و ۶۰ روز).

۲-خیساندن بذرها در غلظت‌های مختلف اسید جیبرلیک (۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام) به مدت ۲۴ ساعت.

۳-خیساندن بذرها در غلظت‌های مختلف کینتین (۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام) به مدت ۲۴ ساعت.

۴-تیمار تلفیقی چینه سرمایی به مدت ۳۰ و ۶۰ روز و سپس ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک به مدت ۲۴ ساعت.

۵-تیمار تلفیقی چینه سرمایی به مدت ۳۰ و ۶۰ روز و سپس ۷۵۰ پی‌پی‌ام کینتین به مدت ۲۴ ساعت.

جهت اعمال چینه سرمایی، بذرها در کیسه‌های پلاستیکی منفذدار حاوی کوکوپیت که در حد ظرفیت مزرعه خیس

شده بود، قرار داده شدند. منافذ جهت تبادلات گازی و خروج آب اضافی ایجاد شده بود. سپس کیسه‌های حاوی بذور در معرض دمای ۱± ۵ در تاریکی برای یک دوره ۳۰ روزه و یک دوره ۶۰ روزه قرار داده شدند (۲۷). از آنجا که بذرهای در حال چینه سرمایی، نیاز به جذب آب دارند، کیسه‌های حاوی بذور بطور مرتب مورد بازدید قرار گرفتند تا از خشک شدن بیش از حد یا هوادهی ضعیف در طی سرمادهی جلوگیری بعمل آید. برای کاهش خسارت میکرووارگانیسم‌ها، بذرها هر هفته در طی چینه سرمایی با هیپوکلرید سدیم رقیق ضدعفونی و شستشو داده می‌شدند.

پس از اعمال تیمارها و ثبت درصد جوانه زنی بذور، بذرها در گلخانه در بستر حاوی خاک بسیار سبک کاشته شدند و تحت شرایط فتوپریود طبیعی و دمای ۱۸ تا ۲۶ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی حدود ۷۰ درصد نگهداری شدند. بستر کاشت هر هفته سه بار آبیاری می‌شد. شاخص جوانه زنی رسیدن ریشه‌چه به نصف طول بذر در نظر گرفته شد (۲۷).

آزمون جوانه‌زنی: زمانی که ریشه‌چه به نصف طول بذر رسید، بذرها جوانه زده تلقی شدند. در انتهای دوره جوانه-زنی (۴ هفته)، با استفاده از فرمول زیر درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی محاسبه شد (۱۲):

۱۰۰ × (تعداد کل بذرها / تعداد بذر جوانه زده) = درصد جوانه‌زنی

$\sum$(تعداد بذر جوانه زده در روز nام / روز nام) = سرعت جوانه‌زنی

شاخص‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی : در انتهای آزمایش، دانهال‌ها از خاک جدا شدند و ریشه‌های آنها با آب شستشو داده شدند تا عاری از خاک گردند. بدنبال آن، محل طوقه ریشه و بخش هوایی دانهال‌ها جهت اندازه-گیری‌های بعدی جدا گردید. بعد از اندازه‌گیری طول شاخساره و ریشه، وزن تر شاخساره و ریشه و حجم ریشه نیز مورد ارزیابی قرار گرفتند. حجم ریشه بوسیله فرو بردن کل ریشه هر دانهال در یک ظرف آب تعیین گردید. آب خارج شده از ظرف در اثر حجم ریشه (که به گرم اندازه گیری می‌شود) برابر با حجم ریشه (که به سانتیمتر مکعب اندازه گیری می‌شود) می‌باشد، بگونه‌ای که یک گرم آب برابر با یک سانتیمتر مکعب در دمای اتاق می‌باشد (۱۱). بمنظور تخمین وزن خشک، نمونه‌ها در آون ۷۵ درجه سانتیگراد برای ۴۸ ساعت نگهداری و خشک شدند تا اینکه به وزن ثابت رسیدند. سپس با استفاده از فرمول ۱۰۰ × (وزن تر / وزن خشک)، درصد ماده خشک تعیین گردید.

شاخص‌های بیوشیمیایی: مقدار کلروفیل a، b و کلروفیل کل بر اساس روش Lichtenthaler (۲۲) تعیین گردید. برای اندازه‌گیری کلروفیل، میزان جذب عصاره رنگی در طول موج ۶۴۶/۸ و ۶۶۳/۲ نانومتر قرائت گردید.

آنالیز آماری: تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام گردید. برای نرمال شدن توزیع داده‌ها، داده‌های مربوط به درصد جوانه‌زنی بصورت Arc Sin و سایر داده‌ها با استفاده log(x+10) تبدیل شدند.

نتایج

درصد و سرعت جوانه‌زنی: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که درصد و سرعت جوانه‌زنی بطور معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد، تحت تأثیر تیمارهای آزمایش قرار گرفتند. همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، با افزایش مدت چینه سرمایی از ۳۰ روز به ۶۰ روز، بطور معنی‌داری بر درصد و سرعت جوانه‌زنی افزوده شد، بطوری که پس از ۶۰ روز درصد جوانه‌زنی به ۶۶/۱۴ درصد و سرعت جوانه‌زنی به ۱/۹۱ بذر جوانه زده در روز رسید. همچنین با افزایش مدت چینه سرمایی همراه با کاربرد اسید جیبرلیک نیز درصد و سرعت جوانه‌زنی

بطور معنی‌داری افزایش یافت، بطوری که بیشترین درصد جوانه‌زنی به میزان ۹۹/۲۸ درصد و بیشترین سرعت جوانه-زنی به میزان ۲/۹۱ بذر جوانه زده در روز مربوط به تیمار تلفیقی ۶۰ روز چینه سرمایی و ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک می‌باشد. علاوه‌بر این، تیمار بذرها فقط با اسید جیبرلیک نیز نشان می‌دهد که غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک تأثیر بیشتری بر درصد و سرعت جوانه‌زنی نسبت به دیگر غلظت‌ها دارد (شکل ۱).

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که تأثیر هورمون کینتین نسبت به اسید جیبرلیک بر درصد و سرعت جوانه‌زنی بذور راکد گردو پایین‌تر بود. بیشترین درصد جوانه‌زنی (۵۱/۷۱ درصد) و سرعت جوانه‌زنی (۱/۳۲ بذر جوانه زده در روز) از تیمار ۷۵۰ پی‌پی‌ام کینتین و کمترین آن از تیمار ۲۵۰ پی‌پی‌ام بدست آمد، در حالی که تلفیق ۷۵۰ پی‌پی‌ام کینتین و ۶۰ روز چینه سرمایی منجر به درصد جوانه‌زنی (۶۶/۵۷ درصد) و سرعت جوانه زنی (۲/۲۰ بذر جوانه زده در روز) بیشتری شد (شکل ۱).

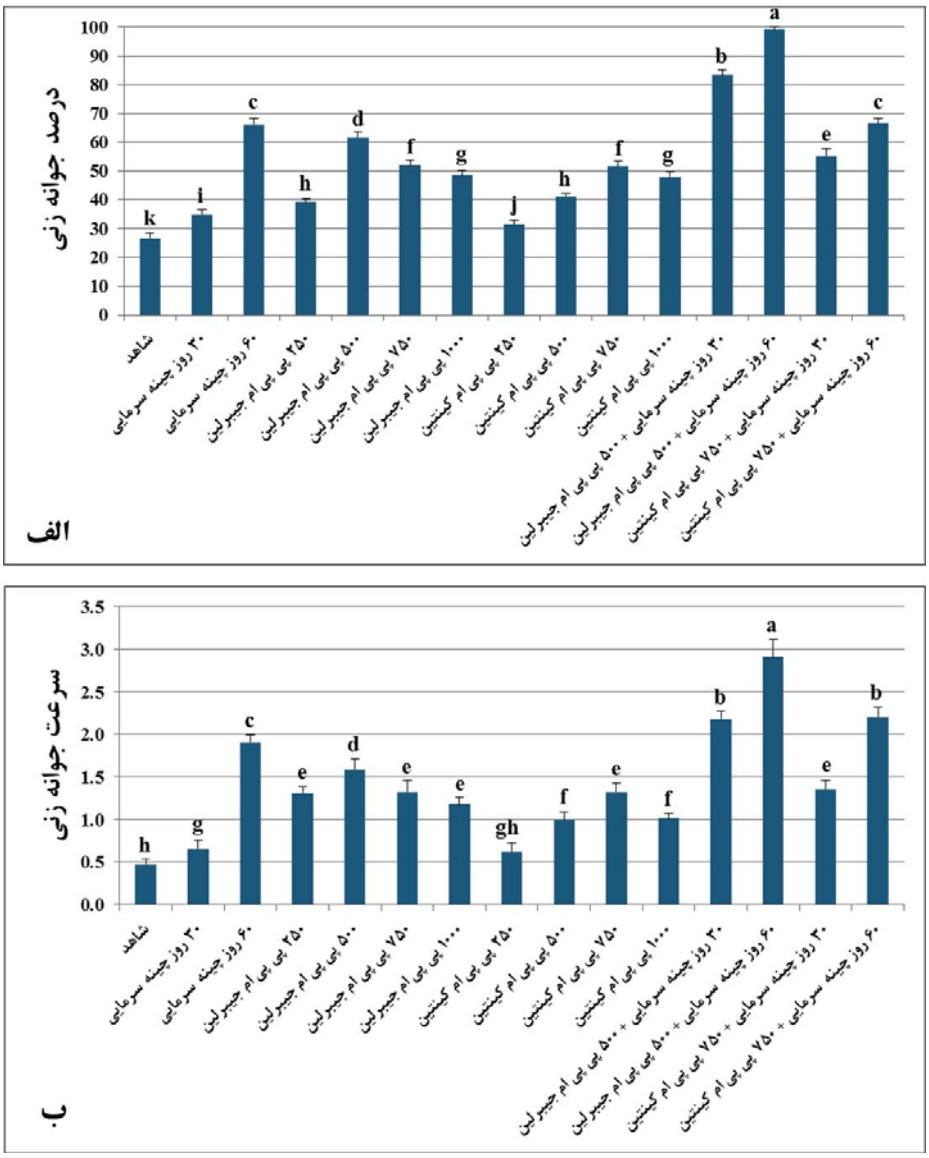
شاخص‌های مورفولوژیکی دانهال‌ها: تیمارهای آزمایش بطور بسیار معنی‌داری طول شاخساره، طول و حجم ریشه را تحت تأثیر قرار دادند (جدول ۱). تیمار تلفیقی ۶۰ روز چینه سرمایی و ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک منجر به بیشترین طول شاخساره (۲۴/۳۵ سانتیمتر)، طول ریشه (۱۷/۵۰ سانتیمتر) و حجم ریشه (۷/۷۱ سانتیمتر مکعب) گردید (شکل ۲). کمترین طول شاخساره (۵/۹۰ سانتیمتر) و طول ریشه (۴/۲۵ سانتیمتر) مربوط به تیمار شاهد و کمترین حجم ریشه (۳/۹۱ سانتیمتر مکعب) نیز مربوط به تیمار ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام کینتین بود (شکل ۲).

شاخص‌های فیزیولوژیکی دانهال‌ها : نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که تیمارهای آزمایش بر وزن تر شاخساره و ریشه تأثیر بسیار معنی‌داری داشتند، ولی فاقد اثر معنی‌دار بر وزن خشک شاخساره و ریشه بودند. بیشترین وزن تر شاخساره (۶/۷۸ گرم) مربوط به تیمار تلفیقی ۶۰ روز چینه سرمایی و ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک و کمترین آن مربوط به تیمار شاهد (۳/۱۲ گرم) بود (شکل ۳). همچنین بالاترین وزن تر ریشه به میزان متوسط ۶/۵۸ گرم در تیمار تلفیقی ۶۰ روز چینه سرمایی و ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک و کمترین آن به میزان متوسط ۲/۸۰ گرم در تیمار ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام کینتین مشاهد شد (شکل ۳).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر چینه سرمایی و تنظیم کننده‌های رشد بر درصد و سرعت جوانه‌زنی بذور و شاخص‌های رشدی دانهال‌های گردوی ایرانی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات											
		درصد جوانه زنی	سرعت جوانه زنی	طول شاخساره (سانتیمتر)	طول ریشه (سانتیمتر)	حجم ریشه (سانتیمتر مکعب)	وزن تر شاخساره (گرم)	وزن تر ریشه (گرم)	وزن خشک شاخساره (گرم)	وزن خشک ریشه (گرم)	کلروفیل a (میلیگرم بر گرم)	کلروفیل b (میلیگرم بر گرم)	کلروفیل کل (میلیگرم بر گرم)
تیمار	۱۴	۲۶۷۸/۰۳**	۳/۱۱**	۱۶۲/۸۳**	۸۷/۶۸**	۶/۵۷**	۵/۸۳**	۶/۶۴**	ns ۰/۰۰۶	ns ۰/۰۰۱	۱۸/۲۵**	۲۲/۹۸**	۸۰/۹۱**
خطای آزمایشی	۹۰	۳/۰۰	۰/۰۱	۳/۳۸	۰/۳۶	۰/۰۱	۰/۰۴	۰/۰۳	۰/۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۳	۰/۰۴	۰/۰۷
ضریب تغییرات (درصد)		۳/۲۲	۸/۳۸	۱۴/۳۲	۶/۷۵	۲/۳۲	۴/۶۳	۴/۷۲	۲/۴۹	۳/۵۹	۱/۲۶	۲/۸۹	۱/۲۴

** و ns بترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و غیر معنی‌دار

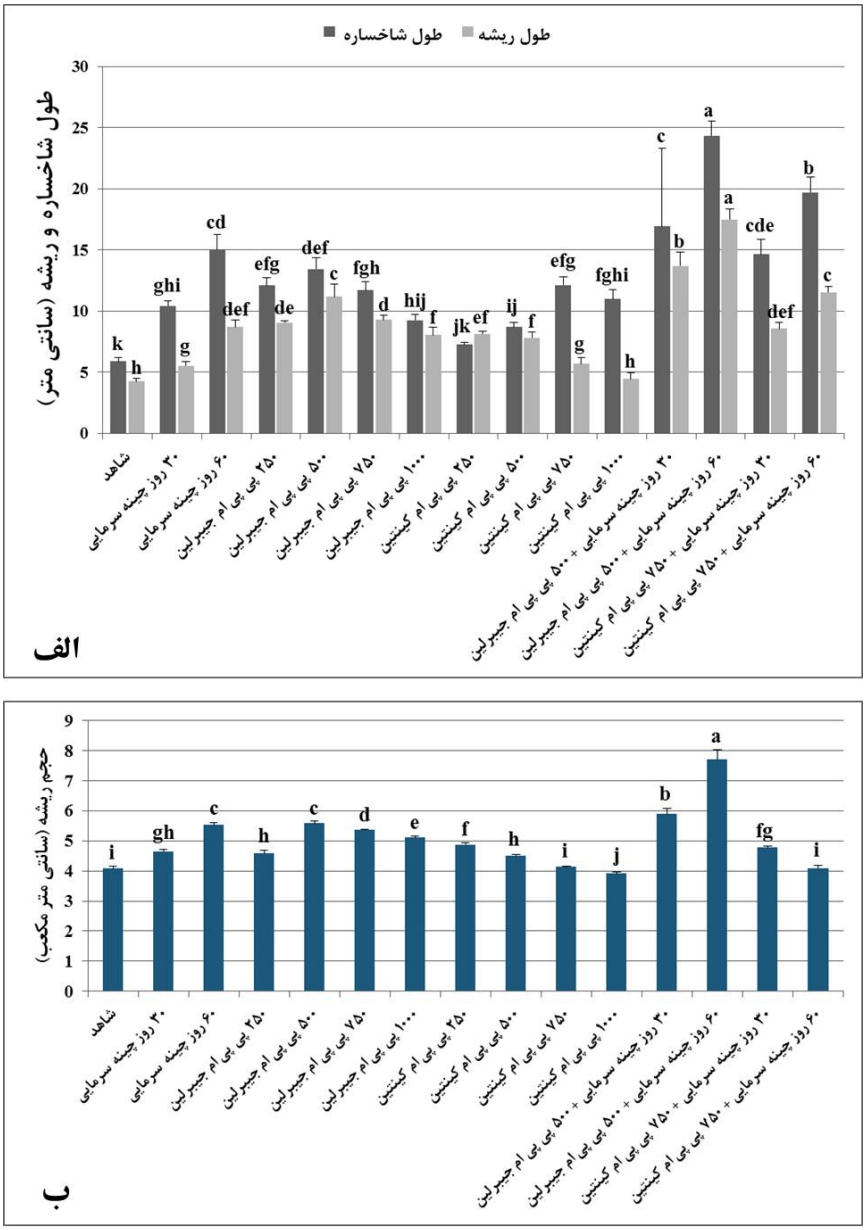


شکل ۱- اثر تیمارهای مختلف بر درصد جوانه‌زنی (الف) و سرعت جوانه‌زنی (ب) بذور راکد گردو. ستون‌های با حروف مشابه در سطح احتمال یک درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند. خطوط بالای هر ستون بیانگر مقدار انحراف استاندارد می‌باشد.

شاخص‌های بیوشیمیایی دانهال‌ها: تیمارهای آزمایش تأثیر بسیار معنی‌داری بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل دانهال‌ها داشتند (جدول ۱). بالاترین میزان کلروفیل a (۱۸/۶۴ میلی گرم بر گرم وزن تر)، کلروفیل b (۱۰/۶۲ میلی گرم بر گرم وزن تر) و کلروفیل کل (۲۹/۲۷ میلی گرم بر گرم وزن تر) مربوط به تیمار ۶۰ روز چینه سرمایی و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام کینتین و کمترین آن بترتیب به میزان ۱۳/۰۲، ۴/۱۰ و ۱۷/۱۲ میلی گرم بر گرم وزن تر مربوط به تیمار شاهد می‌باشد (شکل ۴).

بحث و نتیجه گیری

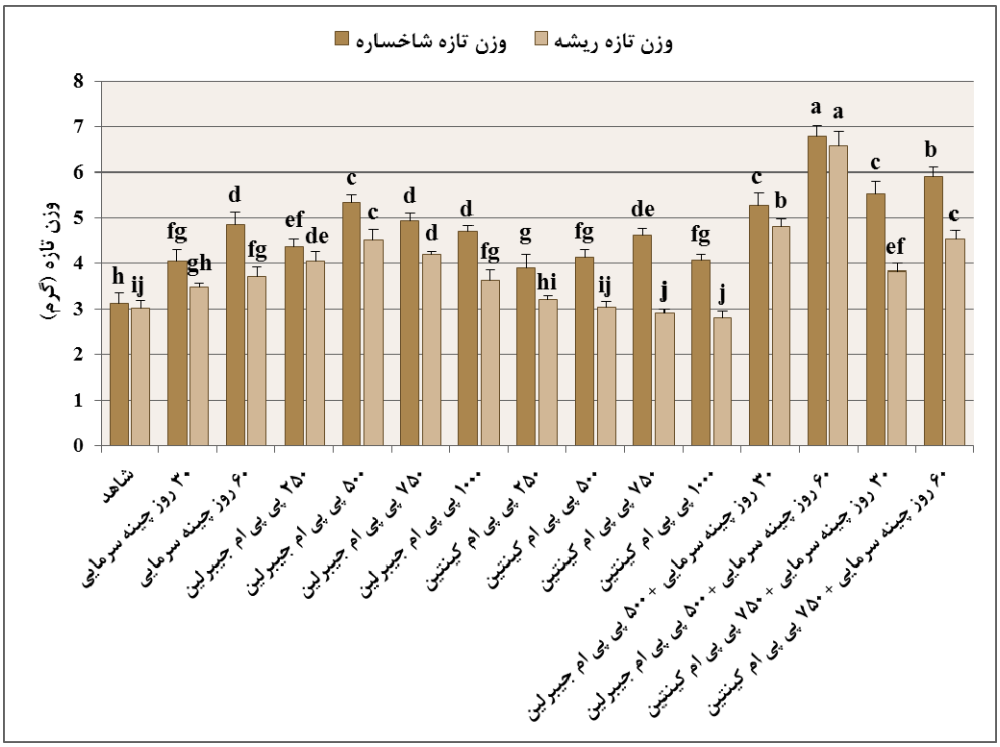
روش‌های مختلفی برای شکستن رکود و تحریک جوانه-زنی بذور گیاهان پیشنهاد شده است که از مهمترین این روش‌ها می‌توان به چینه سرمایی و استفاده از مواد تحریک کننده جوانه‌زنی نظیر اسید جیبرلیک و سیتوکنین‌ها اشاره نمود (۲۰).



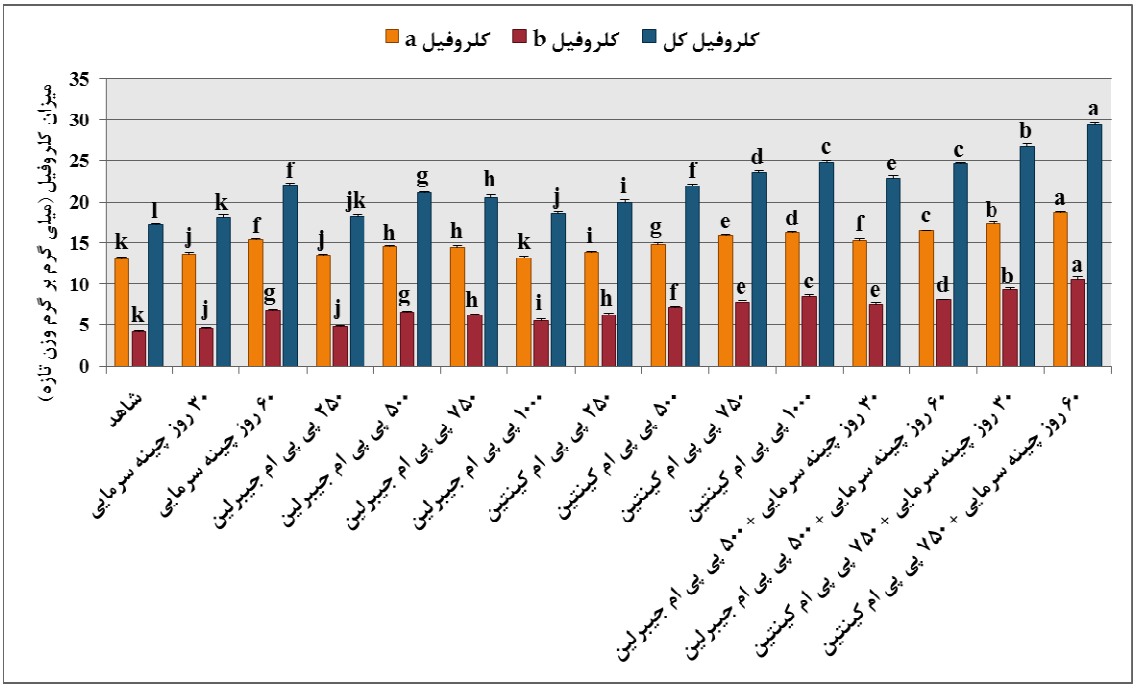
شکل ۲- اثر تیمارهای مختلف بر طول شاخساره و ریشه (الف) و حجم ریشه (ب) دانهال‌های گردو. ستون‌های با حروف مشابه در سطح احتمال یک درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند. خطوط بالای هر ستون بیانگر مقدار انحراف استاندارد می‌باشد.

در این تحقیق نیز از هر دو روش استفاده شد و نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که تیمارهای بکار رفته بر اکثر صفات مورد بررسی تأثیر بسیار معنی-داری داشته‌اند. مطابق با نتایج بدست آمده در این تحقیق در هلو (۱۴)، ازگیل ژاپنی (۲) و محلب (۱) نیز بیان گردیده است که ترکیبی از دوره چینه سرمایی مناسب و سطح موثری از اسید جیبرلیک بطور قابل توجهی جوانه-زنی بذور را افزایش می‌دهد. با افزایش مدت زمان چینه سرمایی، تعادل بین هورمون بازدارنده اسید آبسیزیک و هورمون تحریک کننده رشد جیبرلین به نفع جیبرلین پیش می‌رود. بنابراین دماهای پایین چینه سرمایی از طریق تحریک تولید هورمون‌های تحریک کننده رشد نظیر جیبرلین‌ها و کاهش میزان اسید آبسیزیک باعث القاء سنتز آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز و در نتیجه شکستن ذخایر

غذایی بذر و قابل استفاده شدن آنها برای جنین می‌شود (۶).



شکل ۳- اثر تیمارهای مختلف بر وزن تر شاخساره و ریشه دانهال‌های گردو. ستون‌های با حروف مشابه در سطح احتمال یک درصد آزمون چند دامنه-ای دانکن فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند. خطوط بالای هر ستون بیانگر مقدار انحراف استاندارد می‌باشد.



شکل ۴- اثر تیمارهای مختلف بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل دانهال‌های گردو. ستون‌های با حروف مشابه در سطح ۱ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند. خطوط بالای هر ستون بیانگر مقدار انحراف استاندارد می‌باشد.

هورمون جیبرلین می‌تواند جانشین مناسبی برای برطرف نمودن نیاز سرمایی بذر و یا حتی فراتر از آن کلیه عوامل موثر بر جوانه‌زنی بذر باشد (۲۱).

از این هورمون جهت رفع نیاز سرمایی و بهبود جوانه‌زنی و رشد دانهال‌های بسیاری از گیاهان استفاده شده است (۱۳، ۲۷، ۲۹ و ۳۳). علاوه‌بر این، در برخی گیاهان دارای رکود فیزیولوژیکی نظیر اکیناسه (۴) و ریواس (۵) مشخص شده که تیمار تلفیقی سرما و اسید جیبرلیک منجر به بالاترین درصد جوانه‌زنی می شود. ترکیب چینه سرمایی و تیمار اسید جیبرلیک سبب بهبود جوانه‌زنی در بذور گونه‌های پرونوس (۱۹) و گیلاس (۷) شده است.

با توجه به نتایج فوق می‌توان اظهار نمود که اسید جیبرلیک بتنهایی قادر است جایگزین چینه سرمایی شود و باعث افزایش جوانه‌زنی در حد مطلوب شود. بنابراین رکود بذر گردو علاوه بر رکود پوسته سخت، از نوع فیزیولوژیکی بوده که عامل آن نارس بودن جنین یا وجود عامل بازدارنده در بذر و یا هر دو عامل می‌باشد. اسید جیبرلیک پتانسیل رشد جنین را بهبود بخشیده و شاخص‌های جوانه‌زنی را افزایش می‌دهد و برای غلبه بر محافظ مکانیکی ایجاد شده توسط دیواره پوششی بذر بوسیله ضعیف کردن بافت‌های احاطه کننده ریشه‌چه ضروری است (۱۶).

ارتباط بین چینه سرمایی و ظهور سیتوکنین‌ها نیز ثابت شده است (۲۴). کینتین باعث افزایش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و در نتیجه هیدرولیز نشاسته و بهبود جوانه‌زنی می‌شود. علاوه‌بر این، سیتوکنین‌ها ممکن است نفوذپذیری غشاء سیتوپلاسمی و انتقال مواد از غشاء را تحت تأثیر قرار دهند و بدین طریق به رفع رکود بذر کمک نمایند. همچنین سیتوکنین‌ها با تحریک سنتز RNA و DNA، فرآیند تقسیم سلولی در جنین را افزایش داده و از این طریق جوانه‌زنی بذر را تسهیل می‌نمایند. به این ترتیب، سیتوکنین‌ها برای تکمیل القای جوانه‌زنی توسط جیبرلین لازم بوده و بطور غیرمستقیم موجب کاهش اثر مواد بازدارنده رشد مانند اسید آبسیزیک می‌شوند (۳). نبئی و همکاران (۵) در تحقیقی بر روی بذر گیاه ریواس دریافتند که درصد جوانه-زنی با افزایش غلظت هورمون سیتوکنین تا ۵۰۰ پی‌پی‌ام بطور معنی‌داری افزایش می‌یابد.

مطابق با نتایج بدست آمده در این تحقیق، در انار نیز چینه سرمایی بذور به مدت ۳۰ روز در دمای ۵ درجه سانتیگراد منجر به افزایش معنی‌دار طول شاخساره و ریشه شد (۳۱). علاوه‌بر این، Hassan and Fetouh (۱۸) اعلام کردند چینه سرمایی بذور ماگنولیا بطور معنی‌داری شاخص‌های رشد دانهال‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در گردوی سیاه نیز ۲ ماه چینه سرمایی بذور و بدنبال آن غوطه‌وری آنها در محلول ۴۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک به افزایش معنی‌دار شاخص‌های مرفولوژیکی دانهال‌ها منجر شد (۲۷). در بادام و هلو، در صورت برآورده شدن نیاز سرمایی بذور، دانهال-ها رشد طبیعی و قابل قبولی دارند، در غیر این صورت یک نوع رشد بوته‌ای (Rosette) نشان می‌دهند که اصطلاحاً پاکوتاه فیزیولوژیکی نامیده می‌شود (۱۷ و ۲۳). افزایش رشد ریشه و شاخساره در اثر قرار دادن بذور در معرض چینه سرمایی و تیمار آنها با اسید جیبرلیک ممکن است بدلیل نقش اسید جیبرلیک و چینه سرمایی در افزایش سنتز جیبرلین‌ها باشد (۲۸).

با افزایش غلظت کینتین، میزان وزن تر ریشه کاهش پیدا کرد. این کاهش رشد ریشه ممکن است بدلیل نقش سیتوکنین‌ها در پرآوری شاخساره باشد که به نوبه خود باعث بر هم خوردن تعادل رشد بخش هوایی و ریشه، به نفع بخش هوایی می‌شود (۲۴). مطابق با نتایج بدست آمده در این تحقیق، اعمال تیمارهای مختلف جهت رفع رکود بذور، منجر به افزایش وزن تر ریشه و بخش‌هایی هوایی دانهال‌ها در پسته (۸)، گردوی سیاه (۲۷)، درخت ماگنولیا (۱۸) و انار (۳۱) شده است. افزایش وزن خشک شاخساره و ریشه دانهال‌ها در اثر اعمال تیمارهای مختلف جهت رفع رکود بذور در گردوی سیاه (۲۷)، انار (۳۱) و پسته (۸)

گزارش شده است. در این تحقیق نیز علی‌رغم افزایش وزن خشک شاخساره و ریشه در تیمارهای مختلف نسبت به شاهد، این افزایش معنی‌دار نبوده است.

Parvin و همکاران (۲۷) اعلام کردند تیمار ۴۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک بهمراه دو ماه چینه سرمایی منجر به بیشترین میزان کلروفیل در دانهال‌های گردوی سیاه شد. این نتیجه در شرایطی بدست آمد که این محققین در تیمارهای بکار رفته از هورمون سیتوکنین استفاده نکردند. در این تحقیق نیز در بین تیمارهای فاقد کینتین، بالاترین میزان کلروفیل مربوط به تیمار تلفیقی ۶۰ روز چینه سرمایی و ۵۰۰ پی‌پی-ام اسید جیبرلیک می‌باشد. افزایش میزان کلروفیل در تیمارهای مربوط به کینتین تنها یا همراه با چینه سرمایی ممکن است بدلیل نقش هورمون سیتوکنین در افزایش ساخت کلروفیل و یا جلوگیری از تخریب آن باشد، بطوری که از این هورمون برای افزایش عمر پس از برداشت محصولات با رنگ سبز استفاده می‌شود (۲۴).

بر اساس نتایج بدست آمده مشخص شد که دو ماه چینه سرمایی و بدنبال آن غوطه وری در محلول ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک برای ۲۴ ساعت بمنظور بهبود فرآیند جوانه-زنی و بهبود صفات رویشی دانهال‌های گردوی ایرانی قابل توصیه است. از طرفی، در صورت نبود زمان کافی جهت چینه سرمایی، غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک برای رفع رکود بذور و رشد بهتر دانهال‌های گردو پیشنهاد می‌شود.

منابع

۱- سخاوتی، ن. حسینی، م. اکبری نیا، م. و رضایی، ا. ۱۳۹۰. اثر اسید جیبرلیک همراه با سرمادهی جهت رفع خواب و افزایش جوانه زنی بذر بدون پوسته و با پوسته محلب (*Cerasus mahaleb* (L.) Mill). دو فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران. ۱۹ (۱): ۱۹۲-۲۰۴.

۲- عموآقایی، ر. ۱۳۸۹. اثر کاربرد جیبرلین و سرمادهی مرطوب روی تحریک جوانه زنی دانه و رشد بعدی دانه رست ازگیل ژاپنی. مجله پژوهشهای گیاهی. ۲۳: ۲۹۹-۳۰۸.

۳- محمدی، ق. جلالی هنرمند، س. محمدخواه، ا. و احمدی، غ. ۱۳۹۰. جوانه زنی بذر. انتشارات آموزش و ترویج کشاورزی. ۲۵۳۲ صفحه.

۴- مکی زاده تفتی، م. فرهودی، ر. نقدی بادی، ح. و مهدی زاد، ع. ۱۳۸۵. تعیین بهترین تیمار افزایش جوانه زنی بذور گیاهان دارویی روناس (*Rubia tinctorum* L.)، اکیناسه (*Echinacea angustifolia* D.C) و مورد (*Myrtus communis* L.). تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۲۲ (۲): ۱۰۵-۱۱۶.

۵- نبئی، م. روشندل، پ. و محمدخانی، ع. ۱۳۹۰. روشهای مؤثر در شکست خواب و افزایش جوانه زنی بذر ریواس (*Rheum ribes* L.). تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۲۷(۲): ۲۱۲-۲۲۳.

۶- نبئی، م. روشندل، پ. و محمدخانی، ع. ۱۳۹۲. بررسی اثر تیمارهای مختلف شیمیایی، آب داغ و آب جاری بر شکست خواب بذرهای بابا آدم (*Arctium lappa*). مجله پژوهشهای گیاهی. ۲۶ (۲): ۲۱۷-۲۲۵.

7- Al-Absi. K.M. 2010. The effects of different pre-sowing seed treatments on breaking the dormancy of Mahaleb cherries (*Prunus mahaleb* L.) seeds. Seed Science and Technology. 38: 332-340.

8- Ameen, N.M. and Al-Imam A. 2007. Effect of soaking periods, gibberellic acid, and benzyladenine on pistachio seeds germination and subsequent seedling growth (*pistacia vera* l.). Mesopotamia Journal of Agriculture. 35 (2).

9- Baskin, C.C. and Baskin, J.M. 1998. Seeds—Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination. Academic Press, San Diego. pp. 666.

10- Bewley, J.D. and Black, M. 1994. Seeds: Physiology of Development and Germination. Plenum Press, New York, USA. pp. 445.

11- Burdett, A.N. 1979. A nondestructive method for measuring the volume of intact plant parts. Canadian Journal of Forest Research. 9: 120-122.

12- Copeland, L.O. and Mc Donald, M.B. 2001. Principles of Seed Science and Technology. Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Publishers. pp. 411.

13- 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.

14- El-Dengawy, E.F.A. 1997. Physiological and biochemical studies on seeds dormancy and germination process in deciduous fruit trees. Ph.D. Thesis. Fac. Agric. Mansoura University, Egypt.

15- FAOSTAT. 2010. http://www.faostat.fao.org.

16- Finch-Savage, W.E. and Leubner-Metzger, G. 2006. Seed dormancy and the control of germination. New Phytologist. 171: 501-523.

17- Grigorian, V. 1972. L'embryogenèse chez l'Amandier (Prunus amygdalus Batsch) étude comparé de la dormancies des graines et de la dormances des bourgerons végétatifs. Ph.D. Dissertation. University of Bordeaux, Bordeaux, France. pp. 144.

18- 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.

19- Imani, A. Rasouli, M. Tavakoli, R. Zarifi, E. Fatahi, R. Barba-Espín, G. and Martínez-Gómez, P. 2011. Optimization of seed germination in *Prunus* species combining hydrogen peroxide or gibberellic acid pre-treatments with stratification. Seed Science and Technology. 39(1): 204-207.

20- ISTA. 1996. International rules for seed testing. Seed Science and Technology. 13: 299-513.

21- Kermode, A.R. Xia, H.J. and Schmitz, N. 2001. Dormancy of yellow cedar seeds is terminated by gibbrellic acid in combination with fluridone or with osmotic priming and moist chilling. Seed Science and Technology. 29: 331- 346.

22- Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and Carotenoids Pigments of Photosynthetic Biomemberanes. Methods in Enzymology. 148: 350-382.

23- Martinez-Gomez, P. and Dicenta, F. 2001. Mechanics of dormancy in seed of peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) cv.GF305. Scientia Horticulture. 91: 51-58.

24- Mok, D.W. and Mok, M.C. 1994. Cytokinins, Chemistry, Activity and Function. CRC, Boca Raton, FL. pp. 304.

25- Nagao, M.A. and Furutani, S.C. 1986. Improving germination of papaya seed by density separation, potassium nitrate and gibberellic acid. HortScience. 21: 1439–1440.

26- Nasri, F. Ghaderi, N. Mohammadi, J. Mortazavi, S.N. and Koshesh Saba, M. 2013. The effect of gibberellic acid and stratification on germination of alstroemeria (*Alstroemeria ligtu* hybrid) seed in vitro and in vivo conditions. Journal of Ornamental Plants. 3(4): 221-228.

27- 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.

28- 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.

29- Pipinis, E. Milios, E. Mavrokordopoulou, O. Gkanatsiou, C.H. Aslanidou, M. and Smiris, P. 2012. Effect of Pretreatments on Seed Germination of (*Prunus mahaleb* L.). Notulae Botanicae Horti Agrobotanic. 40: 183-189.

30- Rajabiyan, T. Saboora, A. Hassani, B. and FallahHosseini, H. 2007. Effect of gibberellic acid on seed germination and cold acetone (*Ferula assafoetida* L.). Quarterly Scientific-Research of Medicinal and Aromatic Plants. 23: 391-404.

31- Rawat, J.M.S. Tomar, Y.K. and Rawat, V. 2010. Effect of stratification on seed germination and seedling performance of wild pomegranate. Journal of American Science. 6(5): 97-99.

32- Stokes, P. 1965. Temperature and seed dormancy. In: Ruhland, W. (Ed.), Encyclopedia of Plant Physiology. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg and New York, pp. 746-803.

33- Taha, F.A. 1987. Effect of plant growth regulators on seed germination and seedling characters of persimmon root-stock (*Diospyros kaki* L.). Egyptian Journal of Horticulture. 14: 15-20.

34- Vahdati, K. Aslani Aslamarz, A. Rahemi, M. Hassani, D. Leslie, C.H. 2012. Mechanism of seed dormancy and its relationship to bud dormancy in Persian walnut. Environmental and Experimental Botany. 75: 74-82.

35- Vahdati, K. and Zareie, N. 2006. Evaluation of side-stub and hypocotyle grafting efficiency for walnut propagation in Iran. Acta Horticulture. 705: 347-351.

The effects of plant growth regulators and stratification on seed dormancy breaking and parameters of morphological, physiological and biochemical of seedlings of Persian walnut (*Juglans regia* L.)

Valizadeh Kaji B. and Abbasifar A.R.

Horticultural Science Dept., Faculty of Agriculture, Arak University, Arak, I.R. of Iran

Abstract

Persian walnut (*Juglans regia* L.) is an economically important fruit tree of the temperate regions of the world that is cultivated for its fruit and timber. Due to physiological and mechanical dormancy, the walnut seeds often show an inconsistent or low germination percentage, making difficult the subsequent growth of seedlings. The purpose of this experiment was to investigate the influence of stratification periods (30 and 60 days) and different concentrations of plant growth regulators (Gibberellic acid and Kinetin) on seed dormancy breaking and germination of Persian walnut. This experiment was carried out as a completely randomized design with 15 treatments and 20 replicates in condition of greenhouse. Results showed that stratification periods and different concentrations of plant growth regulators had a significant difference on the most parameters investigated ($P<0.01$), as the treatment of 60 days stratification in combination with 500 ppm GA3 resulting in the greatest seed germination (99.28%), germination rate (2.91 seeds per day), shoot length (24.35 cm), root length (17.50 cm), root volume (7.71 cm^3), shoot fresh weight (6.78 g) and root fresh weight (6.58 g). Nevertheless, the highest content of chlorophyll a (18.64 mg/g fresh weight), chlorophyll b (10.62 mg/g fresh weight) and total chlorophyll (29.27 mg/g fresh weight) was related to the treatment of 60 days stratification in combination with 750 ppm Kinetin.

Key words: Growth regulators, germination, stratification, dormancy, Persian walnut