Archive of SID

Iranian Journal of
Seed Science and Technology
Vol.: 8, No.: 1, Spring and Summer 2019
(pp: 19-30)
DOI: 10.22034/ijsst.2019.114587.1112

"نشریه علوم و فناوری بذر ایران"
جلد هشتم، شماره ۱، بهار و تابستان ۹۸
(ص ۳۰-۱۹)

نقش چینه سرمایی و پیش تیمار با آرژینین و جیبرلیک اسید روی ویژگی‌های جوانه‌زنی گیاه بومی لاله واژگون گرگانی

سجاد علی‌پور[۱]، علی تهرانی‌فر[۲*]، محمود شور[۳]، لیلا سمیعی[۴]، همایون فرهمند[۵]

۱. دانشجوی دکتری گیاهان زینتی، دانشگاه فردوسی مشهد.
۲ و۳. به ترتیب استاد و دانشیار گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشگاه فردوسی مشهد.
۴. استادیار پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد.
۵. دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان.
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۴/۱۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۸/۲۰)

چکیده

لاله واژگون گرگانی یکی از گیاهان پیازی بومی ایران بوده که ارزش زینتی و دارویی بالایی دارد. با توجه به این‌که جوانه‌زنی و استقرار این‌گونه کمتر شناخته‌شده در طبیعت با مشکل روبرو هست ازاین‌رو می‌توان بامطالعه بر روی اهلی سازی و تکثیر آن گام مهمی در راستای حفظ و احیای رویشگاه آن برداشت. اسید آمینه آرژینین و اسید جیبرلیک از جمله ترکیباتی هستند که کمک شایانی به بهبود جوانه زنی بذور می کنند. به این منظور پژوهشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۵ تیمار پرایمینگ در هفت تکرار در سال ۹۵-۹۴ در آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. تیمارهای پرایمینگ شامل آرژینین (۵ و ۱۰ میکرومولار)، جیبرلیک اسید (۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و شاهد (بدون پرایم) بود. نتایج نشان داد پرایمینگ بذر با آرژینین و جیبرلیک اسید باعث بهبود ویژگی‌های جوانه‌زنی این‌گونه گردید. آرژینین ۵ میکرومولار بیشترین تأثیر را روی درصد و سرعت جوانه‌زنی داشت به‌نحوی‌که درصد و سرعت جوانه‌زنی را به ترتیب ۱/۵ و ۲/۵ برابر در مقایسه با شاهد افزایش داد. همچنین روند مراحل جوانه‌زنی با استفاده از بینوکولار مورد ارزیابی به‌صورت تصویری ثبت گردید. بررسی روند رشد رویان با بینوکولار نیز نشان داد رویان بذر این‌گونه دارای پس‌رسی بوده به‌نحوی‌که در طبیعت رویآن‌یک‌سوم اندازه واقعی خود بوده که با دریافت نیاز سرمایی به‌تدریج توسعه پیداکرده و پس از دریافت کامل نیاز سرمایی رویان به‌اندازه نهایی خود می‌رسد.

کلمات کلیدی: استقرار، پس‌رسی، زینتی، گیاهان بومی.

Role of stratification and priming with arginine and gibberellic acid on germination character's of *Fritillaria raddeana*

S. Alipour[1], A. Tehranifar[2*], M. Shoor[3], L. Samiei[4], H. Farahmand[5]

1-Ph.D Student, Department of Horticultural Science and Landscape, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
2, 3 Professor and Associate Prof, Department of Horticultural Science and Landscape, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
4- Assistant Prof, Department of Ornamental Plants, Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
5- Associate Prof. Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.
(Received: Jul. 06, 2017 – Accepted: Nov. 11, 2017)

Abstract

Fritillaria raddeana Regel is one of the Iranian-native bulbous plants well known for its medicinal and ornamental values. As regards germination and establishment are two key points in order to protect the natural populations of this species, it is important to study about propagation and domestication of *F.raddeana*. An experiment was conducted to study the status of seed dormancy to break it in a randomized completely design including 5 priming treatment with 7 replicate in 2015- 2016. Priming treatments were arginine; in concentrations of 5 and 10 mM), gibberellic acid; concentration of 250 and 500 mg per liter, and control (without priming). All events throughout germination process seed was recorded graphically for an image. The results showed that seed priming with arginine and gibberellic acid improved germination properties. Among all treatments, arginine 5 mM has greatest impact on the rate and percentage of germination as far as it increased percentage and rate germination by 1.5 and 2.5 fold in companion with control, respectively. However, there is no significant different between arginine 10 mM and two concentration of gibberellic acid in germination results. The study on the growth of the embryo showed that *F.raddeana* seeds have after-ripening, so that embryo size is third of its actual size in natural habitat that gradually developed with receiving cold treatment.

Key words: Establishment, After-ripening, Ornamental, Native plants

* Email: tehranifar@um.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

DOI: 10.22034/ijsst.2019.114587.1112

مقدمه

ایران کشور پهناوری است که از تنوع اقلیمی و زیستی خوبی برخوردار بوده و پس از ترکیه بیشترین تنوع گیاهی را در خاورمیانه دارد (Farahmand and Nazari, 2015). در رویشگاه‌های طبیعی ایران بیش از ۲۰۰ گونه گیاه پیازی از خانواده‌های سوسن‌سانان، زنبق سانان و نرگس سانان رشد می‌کنند که نقش مهمی در نمایش رنگ در دشت‌ها، کوهستان‌ها و جنگل‌ها بازی می‌کنند (Farahmand and Nazari, 2015). در ایران ۲۰ گونه لاله واژگون شناسایی‌شده است (Tehrani *et al*., 2015) که یکی از گونه‌هایی که توجه کمتری به آن شده است، لاله واژگون گرگانی با نام علمی *Fritillaria raddeana*. که گیاهی چندساله، علفی و پیاز دار است و بومی ترکمنستان، افغانستان و شمال شرق ایران است (De Hertogh and LeNard, 1993). لاله واژگون گرگانی ارزش زینتی و دارویی بالایی داشته و با توجه به ویژگی‌های منحصربه‌فرد آن می‌تواند به‌عنوان گل شاخه بریده، گل گلدانی و گیاه بستری مورداستفاده قرار گیرد. همچنین، از دیدگاه طراحی فضای سبز و باغ نیز ارزشمند است. تاکنون مطالعات اندکی روی جنبه‌های مختلف فیزیولوژی این گیاه ازجمله برطرف نمودن خواب بذر آن انجام‌شده است. با توجه به رویشگاه محدود این‌گونه که تنها در بخش کوچکی از کشور ایران گزارش‌شده است؛ می‌توان بامطالعه بر روی اهلی سازی و تکثیر آن گام مهمی در راستای حفظ و تجاری‌سازی آن برداشت. ویژگی‌های زیباشناختی مانند رنگ گل منحصربه‌فرد و زیبا (زرد کرمی)، سطح کم رویشگاه و کاهش جمعیت آن این‌گونه را در معرض خطر انقراض قرارداده است. در سال‌های اخیر انواع گونه‌های لاله واژگون ایران به علت پراکنش محدود و متراکم، به‌اضافه چرای دام‌ها، جاده‌سازی، بوته کنی، برداشت گل و سوخ، قاچاق گل و عرضه به بازار و غیره درخطر جدی انقراض قرارگرفته‌اند. لاله واژگون به‌عنوان ذخیره ژنتیکی محسوب می‌گردد و به همین دلیل حفاظت از آن ضروری است (Eslamzade, 2009). جوانه‌زنی بذر در بسیاری از گونه‌های گیاهی توسط سازوکاری که اصطلاحاً خواب نامیده می‌شود، تحت تأثیر قرار می‌گیرد. خواب را می‌توان به‌عنوان مانعی در جوانه‌زنی بذر گیاه محسوب نمود که حتی در شرایط مساعد محیطی، مانع جوانه‌زنی می‌شود (Nasiri *et al.,* 2003). متداول‌ترین روش برای شکستن خواب درونی، چینه سرمایی مرطوب است که در برخی مواقع استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد و مواد شیمیایی می‌تواند جایگزین بخشی یا همه احتیاجات چینه سرمایی باشد (Baskin and Baskin, 2014). پرایمینگ بذر باعث افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی، یکنواختی سبز شدن و کاهش میانگین جوانه‌زنی می‌شود (Baskin and Baskin, 2014). جیبرلین ها ازجمله تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی هستند که در کنترل و تسریع جوانه‌زنی مستقیماً دخالت دارند (Nicolas *et al*.,1996). نقش اصلی اسید جیبرلیک که توسط جنین ترشح می‌شود، فعال نمودن ژن کد کننده آنزیم‌های دخیل در جوانه‌زنی بذر به‌ویژه آنزیم آلفا آمیلاز است و این عمل را از طریق افزایش mRNAهای کد کننده این آنزیم انجام می‌دهد (Gonzalez-Benito *et al,* 2004). آرژینین یکی از پرکاربردترین اسیدهای آمینه در سلول‌های زنده و اجزای اصلی پروتئین‌هاست و در مقایسه با اسیدهای آمینه دیگر نقش‌های فیزیولوژیکی منحصربه‌فردی را در گیاه ایفا می‌کند (Chen *et al.*, 2004). آرژینین حدود ۵۰٪ نیتروژن پروتئین دانه را به‌عنوان یک منبع نیتروژن در طول رشد بعد از جوانه‌زنی تأمین می‌نماید (Hwang *et al*., 2001). آرژینین علاوه بر تأمین ۵۰٪ پروتئین دانه بیش از ۹۰٪ نیتروژن آزاد در بافت‌های گیاهی را تأمین می‌کند. روحی و همکاران (Rohi *et al*., 2010) گزارش کردند بالاترین درصد جوانه‌زنی بذر *Tulip kaufmanniana* در تیمار ppm۵۰۰ اسید جیبرلیک به دست آمد. بذر لاله‌های واژگون جهت جوانه‌زنی نیاز به دوره‌های سرمایی کمتر از ۴ درجه سانتی‌گراد دارند (Dehertogh and LeNard, 1993). در پژوهشی گزارش کردند بذر لاله واژگون گونه

www.SID.ir

Archive of SID

Fritillaria imperialis جهت جوانه‌زنی نیاز به بیش از ۱۰ هفته دمای ۴ درجه سانتی‌گراد دارد و کاربرد جیبرلیک اسید جوانه‌زنی بذر این گونه را بهبود بخشید (Agha-babanezhad *et al.*, 2015). گزارش‌های قبلی نشان دادند کاربرد اسیدآمینه آرژینین باعث بهبود جوانه‌زنی بذر گوجه‌فرنگی گردید (Nasibi *et al*., 2014). بنابراین با توجه به رویشگاه محدود این گونه، جوانه زنی اندک این گونه در رویشگاه طبیعی و همچنین اهمیت زینتی و دارویی فوق العاده این گیاه پیازی بومی این پژوهش با هدف شناسایی و تعیین مناسب ترین تیمار جهت شکست خواب بذر این گیاه انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

منبع بذور: بذر این‌گونه در اواسط شهریورماه سال ۱۳۹۴ از شهرستان مانه و سملقان استان خراسان شمالی جمع‌آوری گردید. شهرستان مانه و سملقان به مرکزیت شهر آشخانه در شمال غربی استان خراسان با ارتفاع از سطح دریا ۸۵۰ متر قرارگرفته که. دارای حداکثر دمای مطلق ۴۰ درجه و حداقل دمای ۱۸- بوده و متوسط بارندگی در این شهرستان سالیانه ۲۵۲ میلی‌متر هست. بذرهای سالم و رسیده در تاریخ ۱۵ شهریورماه از رویشگاه طبیعی جمع‌آوری و به آزمایشگاه علوم باغبانی دانشگاه فردوسی انتقال و پس از بررسی بذرهای پوک و نامرغوب جدا گردید. این پژوهش با طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۵ تیمار و ۷ تکرار (۴ تکرار برای بررسی صفات جوانه‌زنی و ۳ تکرار جهت استقرار در گلدان) انجام گرفت. تیمارهای مورداستفاده در این پژوهش شامل جیبرلیک اسید در دو سطح (۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، اسیدآمینه آرژینین در دو سطح (۵ و ۱۰ میکرومولار) و تیمار شاهد (بدون پرایم) بود. برای هر تکرار نیز ۲۵ عدد بذر در نظر گرفته شد.

تیمار جیبرلیک اسید: جیبرلیک اسید موردنیاز از شرکت سیگما خریداری گردید. بذرها ابتدا با محلول هیپوکلرید سدیم ضدعفونی، سپس محلول‌های جیبرلیک اسید تهیه و بذور به مدت ۲۴ ساعت در محلول‌ها نگهداری و پس‌ازآن خارج گردید.

تیمار اسیدآمینه آرژینین: آرژینین مورداستفاده در این پژوهش از شرکت سیگما خریداری گردید. بذرها پس‌ازاینکه با محلول هیپوکلرید سدیم ضدعفونی گریدند در محلول‌های آرژینین از قبل آماده‌شده به مدت ۲۴ ساعت نگهداری و پس‌ازآن خارج و استفاده گردید.

روش پژوهش: پس از تیمار شدن بذور با محلول‌های جیبرلیک اسید و آرژینین آن‌ها درون نایلون‌های پلاستیکی حاوی پرلیت قرارداده شد و جهت دریافت نیاز سرمایی موردنیاز در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. نایلون هابی بذرها به‌صورت هفتگی بررسی و پس از ۱۳ هفته به‌محض ظهور علائم اولیه جوانه‌زنی از یخچال بیرون و جهت بررسی جوانه‌زنی به آزمایشگاه انتقال یافت. پس‌ازآن تعداد بذور جوانه‌زده به‌صورت روزانه ثبت شد. صفات اندازه‌گیری در این پژوهش شامل درصد و سرعت جوانه‌زنی، شاخص بنیه ۱، شاخص بنیه۲، طول ریشه‌چه و ساقه چه، وزن‌تر ریشه‌چه و ساقه چه و وزن خشک ریشه‌چه و ساقه چه بود.

بررسی با دستگاه بینوکولار: بذور پس از جمع‌آوری از رویشگاه طبیعی شستشو و ضدعفونی گردیدند. سپس در طول مراحل جوانه‌زنی (از زمان قرارگیری در یخچال تا شروع جوانه‌زنی) وقایع جوانه‌زنی شامل: رشد رویان، تغییرات ظاهری بذر به‌صورت هفتگی با دستگاه بینوکولار مدل NTX-3C بررسی تصویربرداری انجام گرفت.

آنالیز آماری: تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS آنالیز و میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد مقایسه شدند.

نتایج

نتایج: تجزیه واریانس نشان داد پرایمینگ بذر قبل از سرمادهی مرطوب بر روی تمام صفات اندازه‌گیری شده در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱و۲).

www.SID.ir

Archive of SID

DOI: 10.22034/ijsst.2019.114587.1112

جدول۱- میانگین مربعات صفات مورد بررسی در آزمایش جوانه زنی

Table 1- Mean squares for traits investigated in germination experiment

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination presentation	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	طول ریشه‌چه Radicle length	طول ساقه چه Epicotyl length
پرایمینگ Priming	4	549.42**	25.004**	1.02**	0.25**
خطا Error	15	6.5	0.61	0.068	0.024

ns: غیر معنی دار، * و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

ns: Non-significant, * and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

جدول۲- میانگین مربعات صفات مورد بررسی در آزمایش جوانه زنی

Table 2- Mean squares for traits investigated in germination experiment

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	وزن‌تر ریشه‌چه Radicle fresh weight	وزن‌تر ساقه چه Epicotyl fresh weight	وزن خشک ریشه‌چه Radicle dry weight	وزن خشک ساقه چه Epicotyl dry weight	شاخص بنیه ۱ Vigor index1	شاخص بنیه ۲ Vigor index2
پرایمینگ Priming	4	43.84**	12.88**	2.12**	1.42**	6.72**	3.302**
خطا Error	15	0.59	0.14	0.037	0.021	0.11	0.028

ns: غیر معنی دار، * و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

ns: Non-significant, * and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

نتایج این پژوهش نشان داد پرایمینگ کردن بذرها قبل از تیمار سرمادهی درصد جوانه‌زنی بذر لاله واژگون گرگانی را بهبود بخشید (جدول ۱). غلظت‌های مختلف اسیدآمینه آرژینین و جیبرلیک اسید مورداستفاده نسبت به شاهد اختلاف معنی‌دار نشان دادند. بیشترین درصد جوانه‌زنی در تیمار اسیدآمینه آرژینین ۵ میکرومولار به دست آمد (۸۳٪) که این تیمار بیش از ۱/۵ برابر نسبت به شاهد (۵۳٪) درصد جوانه‌زنی را افزایش داد (شکل ۱). درمجموع اسیدآمینه آرژینین نسبت به جیبرلیک اسید نقش مهم‌تری در بهبود درصد جوانه‌زنی لاله واژگون گرگانی داشت (شکل ۱).

یافته‌های این بررسی نشان داد پرایمینگ کردن بذر لاله واژگون گرگانی با غلظت‌های مختلف اسیدآمینه آرژینین و جیبرلیک اسید بر روی سرعت جوانه‌زنی اثر معنی‌دار نشان داد (جدول ۱). در بین تیمارهای استفاده‌شده بیشترین میانگین سرعت جوانه‌زنی مربوط به اسیدآمینه آرژینین ۵ میکرومولار بود که در مقایسه با شاهد تعداد روز تا جوانه‌زنی را ۱۰ روز کاهش داد. شایان‌ذکر هست در این صفت اسیدآمینه آرژینین ۱۰ میکرومولار و غلظت‌های مختلف جیبرلیک اسید باهم اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (شکل ۲).

پرایمینگ بذر با غلظت‌های مختلف اسیدآمینه آرژینین و جیبرلیک اسید منجر به افزایش طول ریشه‌چه در مقایسه با شاهد گردید (جدول ۳). در بین تیمارهای پرایمینگ، اسیدآمینه آرژینین ۵ میکرومولار مؤثرترین بود به‌طوری‌که طول ریشه‌چه در این تیمار ۱۵ میلی‌متر بیشتر از تیمار شاهد بود (جدول ۳). همچنین غلظت بالاتر اسیدآمینه آرژینین و غلظت‌های مختلف جیبرلیک اسید باهم اختلاف معنی‌دار نشان ندادند (جدول ۳).

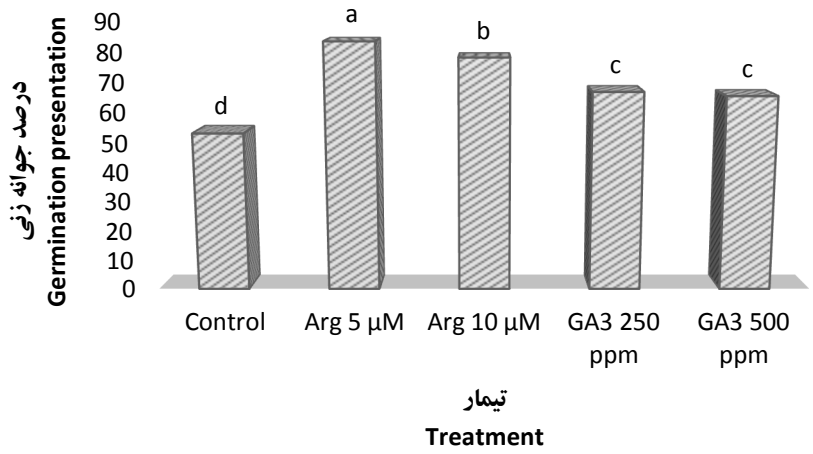
همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌گردد در صفت

www.SID.ir

Archive of SID

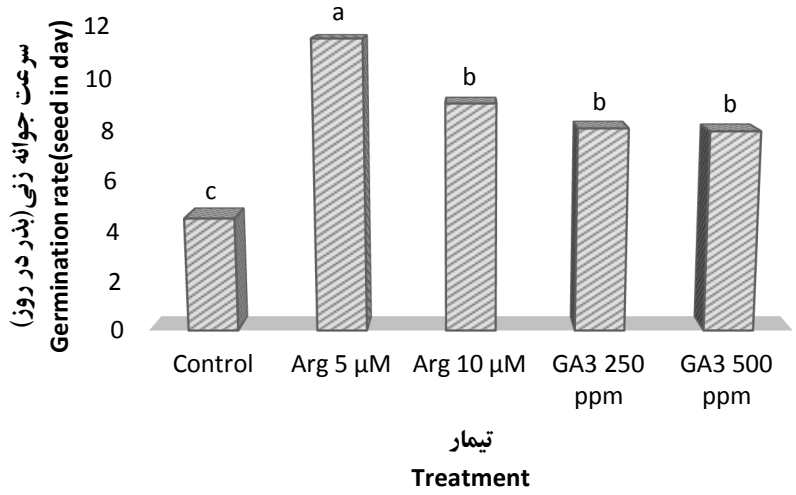
طول ساقه چه، به‌جز جیبرلیک اسید ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر سایر تیمارهای پرایمینگ در مقایسه با شاهد اختلاف معنی‌دار نشان دادند. به‌مانند صفات پیش در این صفت نیز بیشترین طول ریشه‌چه مربوط به تیمار اسیدآمینه آرژینین ۵ میکرومولار بود. اسیدآمینه آرژینین ۵ میکرومولار، اسیدآمینه آرژینین ۱۰ میکرومولار و جیبرلیک اسید ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر در مقایسه با شاهد طول ساقه چه را به ترتیب ۱/۳، ۱/۱۶ و ۱/۱۴ برابر افزایش دادند (جدول ۳).

شاخص بنیه ۱ و ۲ نشان داد پرایمینگ بذر با اسیدآمینه آرژینین و جیبرلیک اسید سبب بهبود این صفات گردید (جدول ۳). باوجود این‌که تمام تیمارهای پرایمینگ در مقایسه با شاهد اختلاف معنی‌دار نشان دادند اما در بین دو ترکیب مورداستفاده، اسیدآمینه آرژینین در مقایسه با جیبرلیک اسید تأثیر بیشتری نشان داد (جدول ۳). در هر دو صفت بالاترین میانگین مربوط به اسیدآمینه آرژینین ۵ میکرومولار بود.



شکل ۱- تأثیر تیمارهای پرایمینگ بر روی درصد جوانه‌زنی بذر لاله واژگون گرگانی

Figure 1- Effect of priming treatments on Germination of *Fritillaria raddeana* seeds



شکل ۲- تأثیر تیمارهای پرایمینگ بر روی سرعت جوانه‌زنی بذر لاله واژگون گرگانی

Figure 2- Effect of priming treatments on germination rate of *Fritillaria raddeana* seeds

www.SID.ir

Archive of SID

DOI: 10.22034/ijsst.2019.114587.1112

جدول ۳- تأثیر پرایمینگ بذر با اسیدآمینه آرژنین و جیبرلیک اسید بر برخی شاخص‌های جوانه‌زنی بذر لاله واژگون گرگانی

Table 3- The response of some germination characteristics affected by different rates of Arginine and Gibberellic acid in *Fertillaria raddeana*

میانگین مربعات Mean square				
تیمار Treatment	طول ریشه‌چه (سانتی‌متر) Radicle length (cm)	طول ساقه چه (سانتی‌متر) Epicotyl length (cm)	شاخص بنیه ۱ Vigor index1	شاخص بنیه ۲ Vigor index2
شاهد Control	3.82^{c}	1.96^{c}	3.09^{d}	1.88^{e}
آرژنین ۵ میکرومولار Arginine 5 µM	5.22^{a}	2.65^{a}	6.56^{a}	4.29^{a}
آرژنین ۱۰ میکرومولار Arginine 10 µM	4.55^{b}	2.29^{b}	5.34^{b}	3.49^{b}
جیبرلیک اسید ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر Gibberellic acid 250 mg/l^{-1}	4.35^{b}	2.18^{bc}	4.36^{c}	2.9^{c}
جیبرلیک اسید ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر Gibberellic acid 500 mg/l^{-1}	4.35^{b}	2.24^{b}	4.25^{c}	2.62^{d}

میانگین‌هایی که در ستون دارای حروف مشترک می‌باشند. اختلاف معنی‌داری با آزمون LSD در سطح ۵٪ ندارند.

Means with same letter have no significant difference in each column based on LSD test (p>0.05)

جدول ۴- تأثیر پرایمینگ بذر با اسیدآمینه آرژنین و جیبرلیک اسید بر برخی شاخص‌های جوانه‌زنی بذر لاله واژگون گرگانی

The response of some germination characteristics affected by different rates of Arginine and Gibberellic acid in *Fertillaria raddeana*

میانگین مربعات Mean square				
تیمار Treatment	وزن‌تر ریشه‌چه (میلی‌گرم) Radicle fresh weight(mg)	وزن‌تر ساقه چه (میلی‌گرم) Epicotyl fresh weight(mg)	وزن خشک ریشه‌چه (میلی‌گرم) Radicle dry weight(mg)	وزن خشک ساقه چه (میلی‌گرم) Epicotyl dry weight(mg)
شاهد Control	19.85^{d}	10.12^{d}	3.75^{d}	3.45^{d}
آرژنین ۵ میکرومولار Arginine 5 µM	28.81^{a}	15.07^{a}	5.76^{a}	5.08^{a}
آرژنین ۱۰ میکرومولار Arginine 10 µM	25.88^{b}	13.04^{b}	5.02^{b}	4.41^{b}
جیبرلیک اسید ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر Gibberellic acid 250 mg/l^{-1}	25.24^{b}	12.48^{b}	4.89^{b}	4.27^{b}
جیبرلیک اسید ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر Gibberellic acid 500 mg/l^{-1}	23.4^{c}	11.91^{c}	3.75^{c}	4^{c}

میانگین‌هایی که در ستون دارای حروف مشترک می‌باشند. اختلاف معنی‌داری با آزمون LSD در سطح ۵٪ ندارند.

Means with same letter have no significant difference in each column based on LSD test (p>0.05)

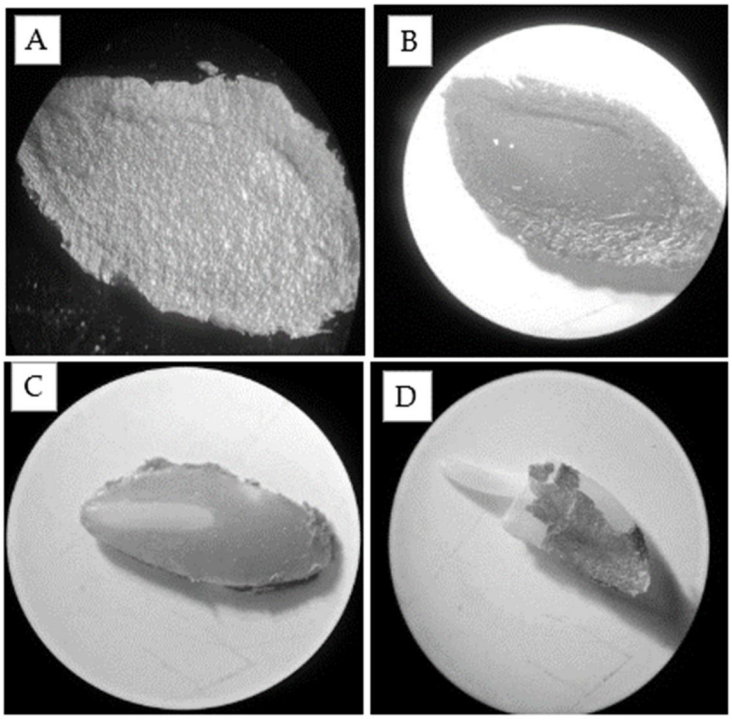
www.SID.ir

Archive of SID

DOI: 10.22034/ijsst.2019.114587.1112

بررسی وزن‌تر ریشه‌چه و وزن‌تر ساقه چه نشان داد پرایمینگ بذر قبل از سرمادهی سبب افزایش وزن‌تر ریشه‌چه و ساقه چه گردیده است (جدول ۴). اسیدآمینه آرژینین و جیبرلیک اسید در تمام غلظت‌ها سبب افزایش وزن‌تر (هم ریشه‌چه هم ساقه چه) در مقایسه با تیمار شاهد شدند (جدول ۴). در هر دو صفت بیشترین میانگین مربوط به تیمار اسیدآمینه آرژینین ۵ میکرومولار بود. همچنین نتایج نشان داد غلظت بالاتر اسیدآمینه آرژینین با غلظت پایین جیبرلیک اسید باهم اختلاف معنی‌داری نشان ندادند اما هر دو تیمار میانگین بالاتری در مقایسه با جیبرلیک اسید ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر از خود نشان دادند (جدول ۴). همان‌طور که جدول ۴ نشان داده‌شده است در صفت وزن خشک (ریشه‌چه و ساقه چه) در بین تیمارهای مورداستفاده تنها تیمار جیبرلیک اسید ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر با شاهد اختلاف معنی‌دار نشان نداد اما سایر تیمارها بر روی این صفت تأثیرگذار بودند. همسو با صفات قبل اسیدآمینه آرژینین ۵ میکرومولار در این صفات نیز بالاترین میانگین را به خود اختصاص داد. درمجموع اسیدآمینه آرژینین در غلظت پایین مؤثرترین تیمار در تمام صفات اندازه‌گیری شده بود.

پس‌رسی بذر: بررسی‌های این پژوهش نشان داد لاله واژگون گرگانی دارای خواب فیزیولوژیکی بوده به‌نحوی‌که رویان آن‌یک دوره پس‌رسی چند ماه دارد (شکل ۳). بذر این‌گونه پیازی در رویشگاه طبیعی در اواخر تابستان به بلوغ کامل رسیده و بالاترین میزان جوانه‌زنی را دارا هست. بررسی‌های رویشگاهی و آزمایشگاهی ما نشان داد رویان بذر لاله واژگون گرگانی در زمان بلوغ بذر در رویشگاه طبیعی (روی بوته مادری) یک‌سوم اندازه نهایی خود هست به‌نحوی‌که به حالت نارس و کوچک در قسمت سر بذر قرار دارد (شکل ۳ A).



شکل ۳- روند پس‌رسی رویان بذر لاله واژگون گرگانی A (بذر خشک بدون چینه سرمایی) B (۴ هفته پس از چینه سرمایی) C (۸ هفته پس از چینه سرمایی) D (انتهای چینه سرمایی)

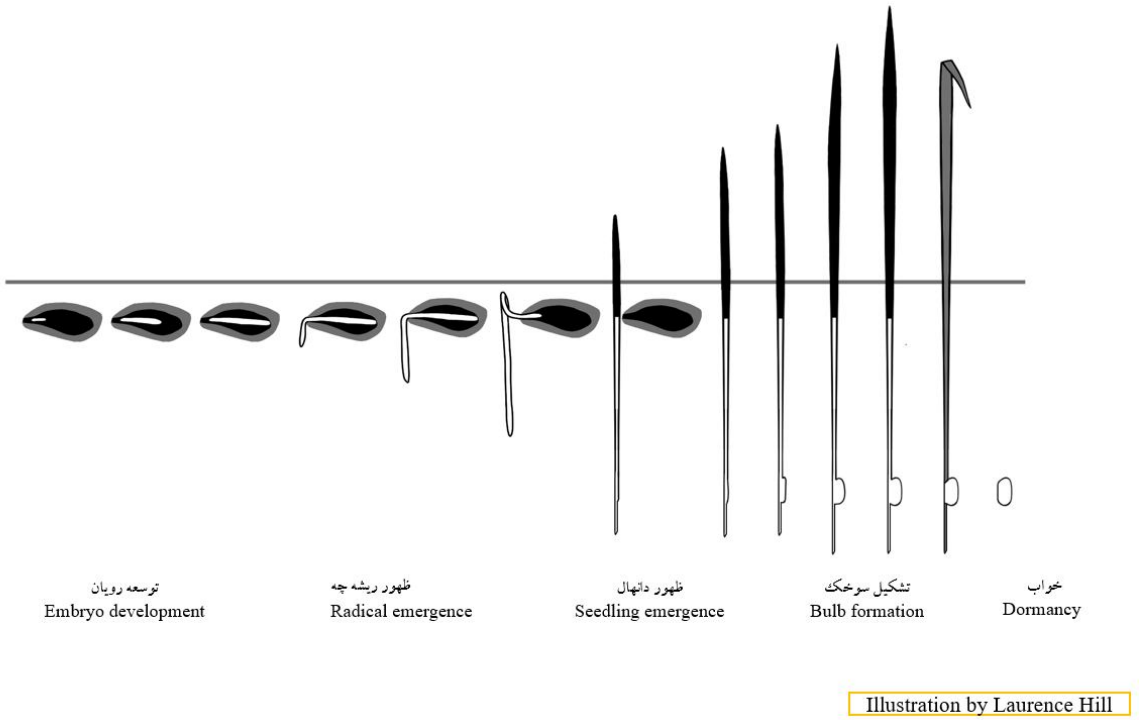
Figure 3- After-ripening Process in *Fritillaria raddeana* seeds. A (seed without stratification) B (4 weeks after stratification) C (8 weeks after stratification) D (end of stratification)

www.SID.ir

Archive of SID

رویان بذر لاله واژگون گرگانی به‌تدریج طی دوره سرمادهی مرطوب توسعه پیدا می‌کند و زمانی که رویان به‌اندازه نهایی خود رسید جوانه‌زنی آغاز می گرد(**Hill, 2019**). درواقع با دریافت سرما رویان بذر به‌تدریج به‌صورت طولی از قسمت سر بذر توسعه پیداکرده و پس از دریافت کامل سرمای موردنیاز به قسمت انتهای بذر می‌رسد. پس‌ازاینکه رویان به‌اندازه واقعی و کامل خود رسید ریشه‌چه از قسمت سر بذر خارج می‌شود (شکل ۴). شایان‌ذکر است که جوانه‌زنی بذر این‌گونه پیازی طی تیرماه و مردادماه نیز بررسی گردید اما جوانه‌زنی در آن‌ها مشاهده نگردید که ممکن است به دلیل پس‌رسی این بذر و نرسیدن رویان به حداقل اندازه ممکن باشد.

نتایج این پژوهش نشان داد بذر لاله واژگون گرگانی دارای خواب مرفوفیزیولوژیک هست که برای رفع این خواب نیاز به دمای پایین ۴ درجه سانتی‌گراد دارد. بذرهای لاله واژگون پس از قرار گرفتن در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد پس از ۱۳ هفته شروع به جوانه‌زنی کردند. نتایج به‌روشنی نشان داد رویان بذر لاله واژگون گرگانی طی مدت‌زمان قرار گرفتن در دمای پایین به‌تدریج از قسمت سر بذر به سمت انتهای بذر رشد می‌کند. و پس‌ازاینکه به‌طور کامل سرمای موردنیاز را دریافت کرد رویان پس‌رسی خود را کامل کرده و به‌اندازه نهایی خود رسیده و جوانه‌زنی شروع می‌گردد. پس از جوانه‌زنی ریشه‌چه و به دنبال آن ساقه چه رشد می‌کند. پس از قرارگیری بذر در گلدان ساقه چه به رشد خود ادامه داده تا زمانی که به‌روز بلند و دمای بالا برخورد می‌کند و سپس وارد خواب می‌شود . در سال اول در زمان خواب یک سوخک کوچک در انتهای ریشه تشکیل می‌شود (شکل ۴).



شکل ۴- مراحل مختلف توسعه رویان بذر تا تشکیل سوخ در لاله واژگون گرگانی

Figure 4- Different stages of the seed embryo development by bulblet formation in *Fritillaria raddeana*

بحث

خواب بذر یکی از فرآیندهای پیچیده در پاسخ به شرایط نامساعد محیطی هست. اغلب گونه‌های لاله واژگون در ایران طی چندین سال با شرایط نامساعد محیطی سازگار گردیدند. به‌طورکلی اغلب گونه‌های

www.SID.ir

Archive of SID

لاله‌های واژگون دارای خواب مورفوفیزیولوژیکی هستند (Baskin and Baskin., 2014). نتایج این پژوهش نشان داد پرایمینگ بذر لاله واژگون گرگانی قبل از تیمار سرمادهی به‌طور معنی‌داری مؤلفه‌های جوانه‌زنی را بهبود بخشید اما در کوتاه کردن دوره سرمای موردنیاز بذرها تأثیری نداشت. در بررسی حاضر پرایمینگ بذر به‌طور معنی‌داری موجب افزایش درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی در مقایسه با شاهد شد. گزارش شده است که همه یا برخی از فرآیندهای قبل از جوانه‌زنی به‌وسیله پرایمینگ شروع می‌شود، بنابراین بذرهای پرایم شده می‌توانند به‌سرعت آب جذب کرده و متابولیسم بذر را احیا کنند که درنتیجه آن سرعت جوانه‌زنی بذر افزایش و ناهمگنی فیزیولوژیکی در جوانه‌زنی بذر کاهش می‌یابد (Arif *et al.,* 2008). اسموپرایمینگ قبل از تیمار سرمادهی سبب بهبود شاخصه‌های جوانه‌زنی بذرهای لاله واژگون اشک مریم (*Fritillaria imperialis*) گردید (Agha-babanezhad *et al.,* 2015). احتمال داده می‌شود که عامل سرما علاوه بر تحریک سنتز GA3 درون‌زا، محرک‌های دیگری را فعال می‌کند که موجب افزایش سرعت جوانه‌زنی بذرها می‌گردد. به نظر می‌رسد تیمار سرما سبب کاهش تراز هورمون‌های بازدارنده و افزایش تراز هورمون‌های محرک شده و بدین ترتیب سبب افزایش پتانسیل جوانه‌زنی بذر می‌شود. این رویدادها به‌طور هم‌زمان رخ داد و جوانه‌زنی در بذرها نتیجه توازن بین هورمون‌ها هست (Gomurgen and Tipirdamaz, 2000). نتایج نشان داد پرایمینگ کردن بذر لاله واژگون گرگانی با جیبرلیک اسید به‌طور معنی‌داری صفات موردبررسی (درصد و سرعت جوانه‌زنی) را تحت تأثیر قرارداد. پرایمینگ بذر لاله واژگون اشک مریم (*Fritillaria imperialis*) با جیبرلیک اسید ۵۰۰ ppm قبل از زمان سرمادهی بر تمام صفات جوانه‌زنی، تأثیر معنی‌داری داشت(Agha-babanezhad *et al.,* 2015). کاربرد جیبرلیک اسید ۵ و ۱۰ میلی مول بر روی بذرهای گیاه پیازی خربق زمستانی (*Eranthis hyemalis*) سبب افزایش درصد جوانه‌زنی گردید (Tipirdamaz and Gomurgen, 2000). پرایمینگ بذر موسیر (*Allium hirtifolium* Boiss) با جیبرلیک اسید ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر سبب شکست خواب و افزایش جوانه‌زنی این‌گونه پیازی گردید (Dashti *et al.*, 2012). پرایمینگ بذر با جیبرلیک اسید سبب بهبود شاخصه‌های جوانه‌زنی بذر موسیر ایرانی (*Allium stracheyi* Baker) گردید (Payal *et al.*, 2013). جیبرلیک اسید، خواب ناشی از رویان و پوشش بذر را می‌شکند و اثرات بازدارنده آبسیزیک اسید را به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم مهار می‌کند (Kucera *et al*., 2005). محتوای بالای آمینواسیدهای آزاد بذر نقش مهمی در جوانه‌زنی آن دارند (Alhadi *et al*., 2012). یافته‌های این پژوهش نشان داد کاربرد اسیدآمینه آرژینین جوانه‌زنی بذر لاله واژگون را به‌طور چشمگیری افزایش داد. در بین تیمارهای به‌کاربرده شده اسیدآمینه آرژینین ۵ میکرومولار در تمام صفات اندازه‌گیری شده مؤثرترین تیمار بود. کاربرد آمینواسیدهای آزاد آرژینین، گلوتامین و متیونین نقش مهمی در جوانه‌زنی بذر انار داشت (Alhadi *et al.*, 2012). تیمار بذرهای کلزا با اسیدآمینه آرژینین ۱۰ میکرومولار سبب بهبود ویژگی‌های جوانه‌زنی و رشدی این گیاه گردید (Nasibi *et al*., 2014). در پروتئین بذر گونه‌های مختلف گیاهی ۴۰ تا ۵۰٪ نیتروژن ذخیره‌ای بذر به‌وسیله آرژینین تأمین می‌شود (King and Gifford,1997). پرایمینگ بذر گیاه منداب *Eruca sativa* با اسیدآمینه آرژینین منجر به افزایش جوانه‌زنی بذر این‌گونه از ۶۰٪ به ۸۰٪ گردید (Yagi and Abdulkareem, 2006). در پژوهشی دیگر گزارش گردید پرایمینگ بذر آفتابگردان با اسیدآمینه آرژینین ۵ میکرومولار به مدت ۲۴ ساعت منجر به افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی گردید (Nejad-alimoradi *et al.*, 2014) که با نتایج این پژوهش همسو بود. در این پژوهش بهترین تیمار ازنظر شاخص‌های جوانه‌زنی تیمار پرایمینگ بذر با اسیدآمینه آرژینین ۵ میکرومولار بود که این تیمار حتی از

www.SID.ir

Archive of SID

جیبرلیک اسید نیز مؤثرتر واقع‌شده بود. آرژنین یکی از پرکاربردترین اسیدهای آمینه با نسبت 4N/6C در سلول‌های زنده و اجزای اصلی پروتئین‌هاست و در انتقال ذخیره نیتروژن در گیاهان نقش دارد (Chen *et al.*, 2004). ازآنجایی‌که آرژنین به‌عنوان یک منبع نیتروژن در طول رشد بعد از جوانه‌زنی هست (Hwang *et al.*, 2001). به نظر می‌رسد با توجه به این‌که آمینواسید آرژنین به‌عنوان پیش ساز پلی آمین‌ها، در تحریک تقسیم سلولی نقش داشته (Paschalidis and Roubelkis- Angelakis, 2005) در این پژوهش توانسته به رشد رویان کمک کرده و مدت‌زمان پس‌رسی رویان در زمان کوتاه‌تری طی شود. با توجه به این‌که پلی آمین‌ها نقش مهمی در تقسیم سلولی ، رویان‌زایی و شکستن خواب غده‌ها و جوانه‌زنی بذور دارند (Kaur-Sawhney *et al.*, 2003) ممکن است در این پژوهش اسیدآمینه آرژنین باعث تولید پلی آمین‌ها گردیده باشد و جوانه‌زنی افزایش‌یافته باشد. در کل سرمادهی مرطوب به همراه پرایمینگ تأثیر مثبتی بر بذر لاله واژگون گرگانی داشت. سرمادهی مرطوب همراه با پرایمینگ برای بهبود جوانه‌زنی گونه‌های مختلف استفاده می‌شود. تیمار سرمادهی بذر خواب بذر را از بین می‌برد همچنان که پرایمینگ مدت‌زمان جوانه‌زنی را کاهش می‌دهد (Khan, 1992).

نتیجه‌گیری

بذر اغلب گونه های لاله های واژگون دارای خواب مورفوفیزیولوژیکی هستند(Baskin and Baskin., 2014). لاله واژگون گرگانی یکی از گونه های پیازی با ارزش ایران می باشد. متاسفانه با توجه به ارزش زینتی بالایی این گونه (رنگ زیبای گل و شکل گل) و وجود رویشگاه کوچک آن توجه آنچنانی به آن نشده و اطلاعات زیادی در مورد آن در دسترس نیست. خشکسالی های اخیر، چرای بی رویه دام ها، تغییر اراضی به اراضی کشاورزی و غیره رویشگاه این گیاه بومی را با خطر نابودی مواجه کرده است. بنابراین می بایست گام های اساسی و اولیه در مورد اهلی سازی این گونه انجام گیرد. تکثیر بذری یکی از گام های اولیه جهت احیای رویشگاه این گونه و استقرار آن می باشد. با توجه به خواب فیزیولوژیکی بذر لاله واژگون گرگانی، پرایمینگ بذر کمک شایانی به جوانه زنی این گونه کرد. اسید امینه آرژنین تاثیر بسزایی بر جوانه زنی بذر این گونه داشت. اسید امینه آرژنین به عنوان یک ترکیب ارزان قیمت و در دسترس می تواند جهت جوانه زنی بذر این گونه در راستای احیای رویشگاه های ان استفاده گردد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر بخشی از پایان نامه دوره دکتری با کد پژوهشی ۴۰۵۸۲ مصوب دانشگاه فردوسی مشهد می باشد که بدین وسیله نویسندگان بر خود لازم می دانند از دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد که امکانات لازم برای اجرای این پژوهش را فراهم کردندصمیمانه تشکر نمایند.

منابع

Reference

Agha Baabazadeh, Z. 2015. Optimization of treatments for improving efficiency, germination and seedling establishment of Fritillaria imperialis (In Persian). Msc.Thesis. Univ. of Faculty of Agriculture and Natural Resources, Shahrekord, Iran. (In Persian, with English Abstract)

Agha Baqbanjad, Z., A.S. Abbas Soraki, and P. Tahmasebi. 2015. Effect of gibberellic acid on seed germination of Fritillaria imperialis (In Persian). The 13th Iranian Conference on Plant Breeding and the 3rd Iranian Seminar on Science and Technology. Karaj.Iran.

www.SID.ir

Archive of SID

Alhadi, F., A. S. Al-Asbahi Adnan, S. A. Alhammadi Arif, and A. A. Abdullah Qais. 2012. The effects of free amino acids profiles on seeds germination/dormancy and seedlings development of two genetically different cultivars of Yemeni Pomegranates. Stress Physiol. Biochem. 8: 1-7.

Arif, M., M.T. Jan, K.B. Marwat, and M.A. Khan. 2008. Seed priming improves emergence and yield of soybean. Pakistan J. Bot. 40: 1169-1177.

Baker, A. 2005. An endangered alpine species of Central Himalaya, India. Plant Biosystems. 148: 1075-1084.

Baskin, C. C. and J. M. Baskin. (ed.). 2014. Seeds: ecology, biogeography, and, evolution of dormancy and germination. Elsevier.

Canton, F. R., M. F. Suarez and F. M. Canovas. 2005. Molecular aspect of nitrogen mobilization and recycling in trees. Photosyn. Res. 83: 264-278.

Chen, H., B. C. Mc Caig, M. Melotto, H. Yang, S. He and G. A. Howo. 2004. Regulation of plant arginase by wounding, jasmonate and the phytotoxin coronation. Biol. Chem. 279: 45998-46007.

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

De Hertogh, A. and M. Le Nard (Ed). 1993. The Physiology of Flower Bulbs. Elsevier Science Publishing. The Netherlands.

Eslamzadeh, N., S. M. Hosseini, H. R. Moradi and F. Azeri Dehkordi. 2009. Introduction of new habitats for Fritillaria imperialis with using GIS. . (In Persian, with English Abstract.) Environ. Sci. Technol. 1: 251-261.

Farahmand, H and F. Nazari .2015. Environmental and Anthropogenic Pressures on Geophytes of Iran and the Possible Protection Strategies: A Review. Hortic. Sci. Technol. 2: 111-132.

Gonzalez-Benito, M. E., M. J. Albert, J. M. Irionda, F. Varela and F. Perez- Garca, 2004. Seed germination of four thyme species after conservation at low temperatures at several moisture contents. Seed Sci. Technol. 32: 247-254.

Hamidi, A., D. Roodi, V. Asgari, and S. Hajilooi. 2009. Study on applicability of controlled deterioration vigour test for evaluation of seed vigour and field performance of three oil-seed rape (Brassica napus L.) cultivars. Seed Plant. 24: 677-705. (In Persian, with English Abstract)

Hill, L. 2019. Fritillaria Icones. [Online]. Available at www www.fritillariaicones.com.

Hwang, H. J., E. H. Kim and Y. D. Cho. 2001. Isolation and properties of arginase from a shade plant, ginseng roots. Phytochem. 58: 1015–1024.

Kaur-Sawhney R., A. F. Tiburcio, and A.W. Galston. 2003. Polyamines inplants: An overview. Cell and Mol. Biol. 2: 1-12.

Khan, A.A. 1992. Preplant physiological seed conditioning. Hortic. Rev. 13:131-181.

King, J. E., and D. J. Gifford. 1997. Amino acid utilization in seeds of loblolly pine during germination and early seedling growth (I. arginine and arginase activity). Plant Physiol. 113: 1125–1135.

Kucera, B., M.A. Cohn and G. Leubner-Metzger. 2005. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. Seed Sci. Res. 15:281-307.

Nasibi, F., K.M. Kalantari, and A. Barand. 2014. Effect of seed pre-treatment with L-arginine on improvement of seedling growth and alleviation of oxidative damage in canola plants subjected to salt stress. Iran J. Plant Physiol. 5: 1217-1224.

Nasiri, M., P. Babakhanloo, and H. Maddah-Arefi. 2003. First report on braking dormancy and seed germination on Diplotaenia damavandica Mozaffarian. Iranian Rangelands and Forests Plant Breed. and Genet. Res. 2: 258-274.

Nejadalimoradi, H. A., F.A. Nasibi, K. M. Kalantari and R. O Zanganeh. 2014. Effect of seed priming with L-arginine and sodium nitroprusside on some physiological parameters and antioxidant enzymes of sunflower plants exposed to salt stress. Agric Commun. 2014: 23-30.

www.SID.ir

Archive of SID

DOI: 10.22034/ijsst.2019.114587.1112

Nicolas, C., G. Nicolas, and D. Rodriguez. 1996. Antagonistic effects on abscisic acid and gibberellic acid on the breaking of dormancy of *Fagus sylvatica* seeds. Physiol. Plant. 1996: 244-250.

Panwar, P., and S. D. Bhardwaj. 2005. Handbook of practical forestry. Agrobios (INDIA).

Payal, K., R. K. Maikhuri, K. S. Rao and L. S. Kandari. 2014. Effect of gibberellic acid- and water-based pre-soaking treatments under different temperatures and photoperiods on the seed germination of Allium stracheyi Baker: An endangered alpine species of Central Himalaya, India. Societa Botanica Italiana. 6: 148-155.

Ranal M.A. and D. G. Santana. 2006. How and why to measure the germination process? Revista Brasileir de Botanica. 29: 1-11.

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

Tehrani Sharifi, M., M. Advay and L. Shabani .2015. Fritillaria (Liliaceae) in Iran: distribution and Nomenclature. (In Persian, with English Abstract.) Taxon and Biosy. 22: 70-49.

Tipirdamaz, R and A. N. Gömürgen. 2000. The effects of temperature and gibberellic acid on germination of *Eranthis hyemalis* (L.) Salisb. Seeds. Turk Jour. Botany. 24:, 143-146.

Todd, C. D., and D. J. Gifford. 2003. Loblolly pine arginase responds to arginine in vitro. Planta. 21: 610-615.

Yagi, M. I., and S. S. Abdulkareem. 2006. Effects of exogenous arginine and uric acid on eruca sativa mill grown under saline conditions, J. Sci. Technol.7: 1-11.

www.SID.ir