

اثر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و چینه‌سرمایی بر رفع رکود بذر و شاخص‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دانه‌های 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 دانه‌ها را با مشکل مواجه می‌سازد. هدف این آزمایش بررسی اثر طول دوره چینه‌سرمایی (۳۰ و ۶۰ روز) و غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی (اسید جیبرلیک و کیتین) بر رفع رکود و جوانه‌زنی 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 چینه‌سرمایی و غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد بر اکثر شاخص‌های بررسی شده در سطح احتمال یک درصد دارای اختلاف معنی‌دار است، بطوری‌که تیمار تلفیقی ۶۰ روز چینه‌سرمایی و ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک منجر به بیشترین درصد جوانه‌زنی (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 چینه‌سرمایی و ۷۵۰ پی‌پی‌ام کیتین بود.

واژه‌های کلیدی: تنظیم‌کننده‌های رشد، جوانه‌زنی، چینه‌سرمایی، رکود، گردوی ایرانی

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

مقدمه

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 جوانه‌زنی بذور و بدنال آن دستیابی به دانه‌های 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.

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 سالانه 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 نهال‌های 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

گزارشی در زمینه استفاده از هورمون‌های القاء کننده جوانه‌زنی نظیر جیبرلین‌ها و سیتوکینین‌ها 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 کیتین همراه با چینه سرمایی روی میزان جوانه‌زنی بذور و شاخص‌های مرفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دانه‌های 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 کیتین (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 کیتین به مدت ۲۴ ساعت.
- جهت اعمال چینه سرمایی، بذرها در کیسه‌های پلاستیکی منفذدار حاوی کوکوپیت که در حد ظرفیت مزرعه خیس

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، مرفولوژیکی، مورفوفیزیولوژیکی، فیزیولوژیکی و چندگانه است (۹).

بذور بسیاری از درختان میوه دارای یک یا ترکیبی از چند نوع رکود می‌باشند (۳۰). بذرها گردو نیز دارای رکود فیزیولوژیکی متوسط و رکود مکانیکی ناشی از پوسته بذر هستند که مانع جوانه‌زنی بذرها را 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 سیتوکینین‌ها و کاهش هورمون بازدارنده اسید آبسزیک 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). علاوه بر 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

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 از $\log(x+10)$ 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 چینه‌سرمایی 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 چینه‌سرمایی همراه با کاربرد اسید جیبرلیک نیز درصد و سرعت جوانه‌زنی

شده بود، قرار داده شدند. منافذ جهت تبادلات گازی و خروج آب اضافی ایجاد شده بود. سپس کیسه‌های حاوی بذور در معرض دمای 5 ± 1 در تاریکی برای یک دوره ۳۰ روزه و یک دوره ۶۰ روزه قرار داده شدند (۲۷). از آنجا که بذرها در حال چینه‌سرمایی، 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 میکروارگانسیم‌ها، بذرها هر هفته در طی چینه‌سرمایی 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 جوانه‌زنی (۴ هفته)، با استفاده از فرمول زیر درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی محاسبه شد (۱۲):

$$100 \times (\text{تعداد کل بذرها} / \text{تعداد بذر جوانه زده}) = \text{درصد جوانه‌زنی}$$

$$(\text{روز } m / \text{تعداد بذر جوانه زده در روز } m) = \text{سرعت جوانه‌زنی}$$

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 اندازه‌گیری‌های بعدی جدا گردید. بعد از اندازه‌گیری طول شاخساره و ریشه، وزن تر شاخساره و ریشه و حجم ریشه

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 کیتین بود (شکل ۲).

شاخص‌های فیزیولوژیکی دانه‌ها : 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 کیتین مشاهده شد (شکل ۳).

بطور معنی‌داری افزایش یافت، بطوری که بیشترین درصد جوانه‌زنی به میزان ۹۹/۲۸ درصد و بیشترین سرعت جوانه‌زنی به میزان ۲/۹۱ بذر جوانه زده در روز مربوط به تیمار تلفیقی ۶۰ روز چینه سرمایی و ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک می‌باشد. علاوه بر 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 کیتین 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 کیتین و کمترین آن از تیمار ۲۵۰ پی‌پی‌ام بدست آمد، در حالی که تلفیق ۷۵۰ پی‌پی‌ام کیتین و ۶۰ روز چینه سرمایی منجر به درصد جوانه‌زنی (۶۶/۵۷ درصد) و سرعت جوانه‌زنی (۲/۲۰ بذر جوانه زده در روز) بیشتری شد (شکل ۱).

شاخص‌های مورفولوژیکی دانه‌ها: تیمارهای آزمایش

بطور بسیار معنی‌داری طول شاخساره، طول و حجم ریشه را تحت تأثیر قرار دادند (جدول ۱). تیمار تلفیقی ۶۰ روز

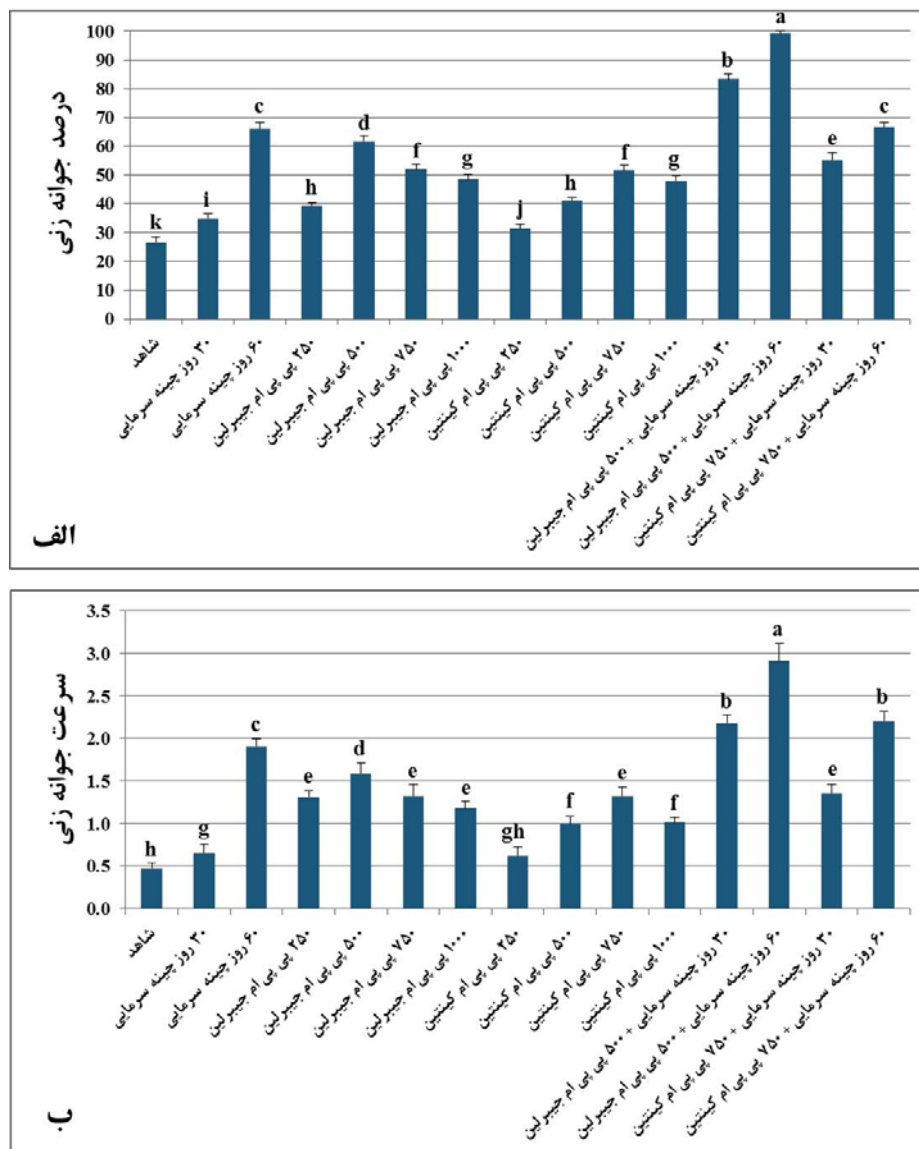
جدول ۱- تجزیه واریانس اثر چینه سرمایی و تنظیم‌کننده‌های رشد بر درصد و سرعت جوانه‌زنی بذور و شاخص‌های رشدی دانه‌های گردوی

ایرانی

میانگین مربعات

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

** 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.

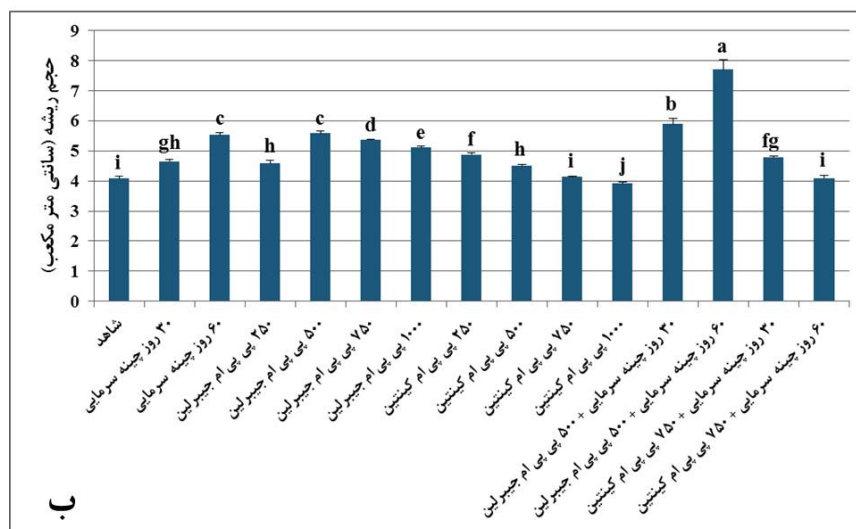
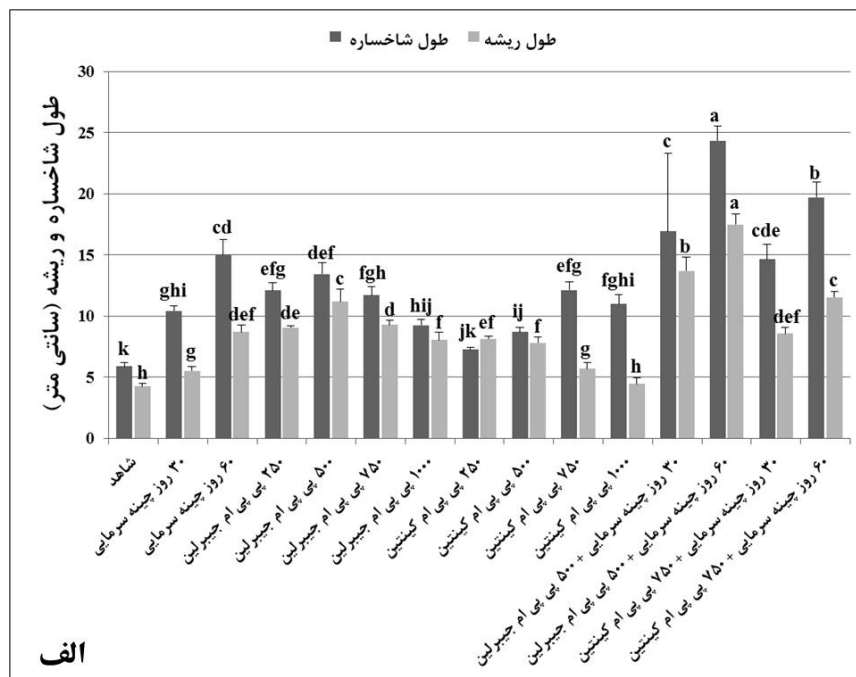
تیمار شاهد می‌باشد (شکل ۴).

بحث و نتیجه‌گیری

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

شاخص‌های بیوشیمیایی دانها: تیمارهای آزمایش تأثیر

بسیار معنی‌داری بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل دانهاها 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 پی پی ام کیتین و کمترین آن بترتیب به میزان ۱۳/۰۲، ۴/۱۰ و ۱۷/۱۲ میلی گرم بر گرم وزن تر مربوط به

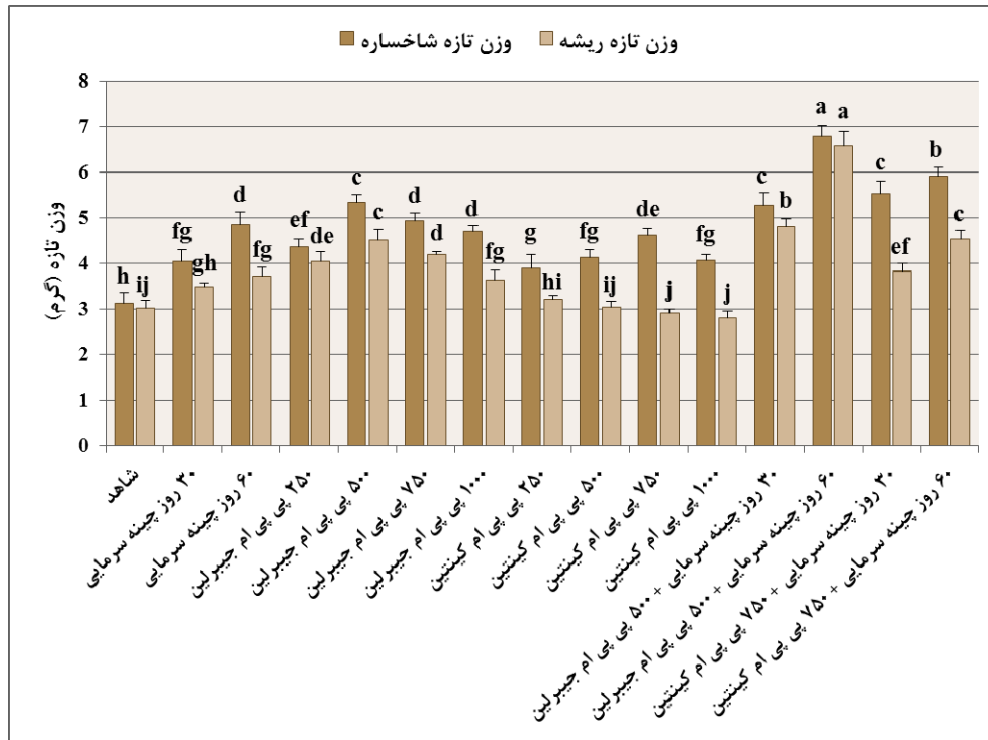


شکل ۲- اثر تیمارهای مختلف بر طول شاخساره و ریشه (الف) و حجم ریشه (ب) دانه‌های گردو. ستون‌های با حروف مشابه در سطح احتمال یک درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند. خطوط بالای هر ستون بیانگر مقدار انحراف استاندارد می‌باشد.

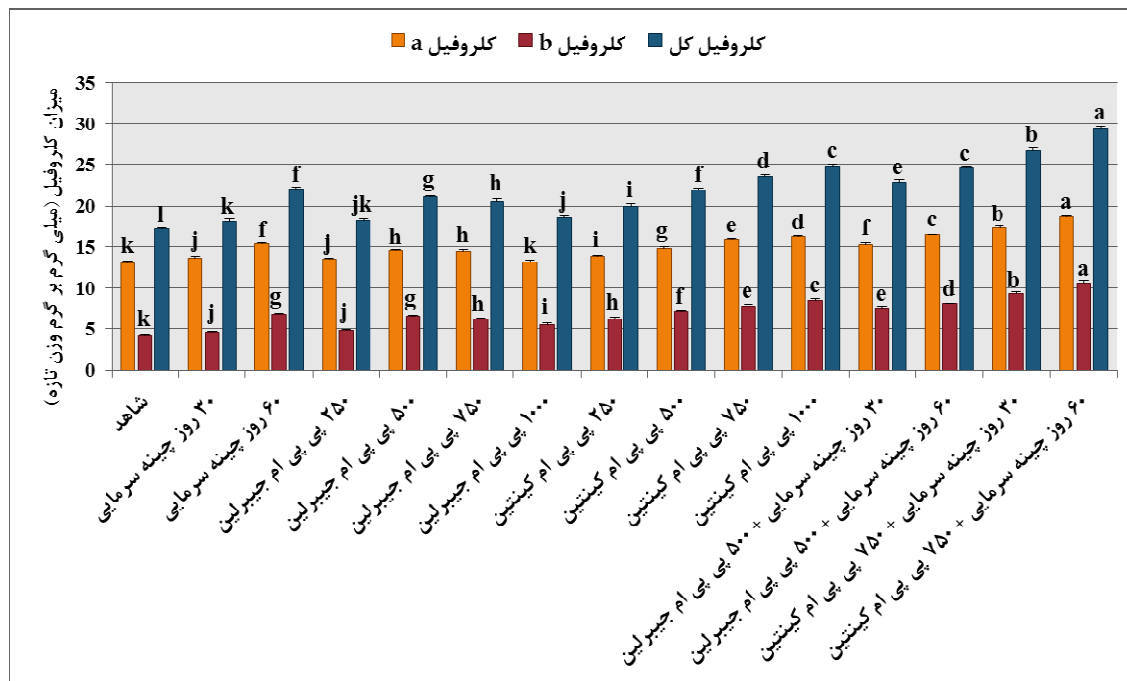
زنی بذور را افزایش می‌دهد. با افزایش مدت زمان چینه سرمایی، تعادل بین هورمون بازدارنده اسید آبسزیک و هورمون تحریک کننده رشد جیبرلین به نفع جیبرلین پیش می‌رود. بنابراین دماهای پایین چینه سرمایی از طریق تحریک تولید هورمون‌های تحریک کننده رشد نظیر جیبرلین‌ها و کاهش میزان اسید آبسزیک باعث القاء سنتز آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز و در نتیجه شکستن ذخایر

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 معنی‌داری 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-

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



شکل ۳- اثر تیمارهای مختلف بر وزن تر شاخساره و ریشه دانه‌های 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 دانه‌های 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.

اسید آسبیزیک می‌شوند (۳). نبئی و همکاران (۵) در تحقیقی بر روی بذر گیاه ریواس دریافتند که درصد جوانه‌زنی با افزایش غلظت هورمون سیتوکینین 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). علاوه بر این، Hassan and Fetouh (۱۸) اعلام کردند چینه سرمایی بذور ماگنولیا بطور معنی‌داری شاخص‌های رشد دانه‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در گردوی سیاه نیز ۲ ماه چینه سرمایی بذور و بدنال آن غوطه‌وری آنها در محلول ۴۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک به افزایش معنی‌دار شاخص‌های مرفولوژیکی دانه‌ها منجر شد (۲۷). در بادام و هلو، در صورت برآورده شدن نیاز سرمایی بذور، دانه‌ها 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 کیتین، میزان وزن تر ریشه کاهش پیدا کرد. این کاهش رشد ریشه ممکن است بدلیل نقش سیتوکینین‌ها در پرآوری شاخساره باشد که به نوبه خود باعث برهم 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 دانه‌ها در پسته (۸)، گردوی سیاه (۲۷)، درخت ماگنولیا (۱۸) و انار (۳۱) شده است. افزایش وزن خشک شاخساره و ریشه دانه‌ها در اثر اعمال تیمارهای مختلف جهت رفع رکود بذور در گردوی سیاه (۲۷)، انار (۳۱) و پسته (۸)

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 دانه‌های بسیاری از گیاهان استفاده شده است (۱۳، ۲۷، ۲۹ و ۳۳). علاوه بر 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 می‌شود. ترکیب چینه سرمایی و تیمار اسید جیبرلیک سبب بهبود جوانه‌زنی در بذور گونه‌های پرونوس (۱۹) و گیلان (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 سیتوکینین‌ها نیز ثابت شده است (۲۴). کیتین باعث افزایش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و در نتیجه هیدرولیز نشاسته و بهبود جوانه‌زنی می‌شود. علاوه بر این، سیتوکینین‌ها 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 سیتوکینین‌ها 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، سیتوکینین‌ها برای تکمیل القای جوانه‌زنی توسط جیبرلین لازم بوده و بطور غیرمستقیم موجب کاهش اثر مواد بازدارنده رشد مانند

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 چینه‌سرمایی و بدنبال آن غوطه‌وری در محلول ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک برای ۲۴ ساعت بمنظور بهبود فرآیند جوانه‌زنی و بهبود صفات رویشی دانه‌های گردوی ایرانی قابل توصیه است. از طرفی، در صورت نبود زمان کافی جهت چینه‌سرمایی، غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک برای رفع رکود بذور و رشد بهتر دانه‌های گردو پیشنهاد می‌شود.

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 چینه‌سرمایی منجر به بیشترین میزان کلروفیل در دانه‌های 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 کیتین، بالاترین میزان کلروفیل مربوط به تیمار تلفیقی ۶۰ روز چینه‌سرمایی و ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک می‌باشد. افزایش میزان کلروفیل در تیمارهای مربوط به کیتین تنها یا همراه با چینه‌سرمایی

منابع

- ۱- سخاوتی، ن. حسینی، م. اکبری‌نیا، م. و رضایی، ا. ۱۳۹۰. اثر اسید جیبرلیک همراه با سرمادهی جهت رفع خواب و افزایش جوانه‌زنی 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 جوانه‌زنی 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. جوانه‌زنی 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 جوانه‌زنی بذور گیاهان دارویی
- 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 gibberellic 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 Biomembranes. 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 cm³), 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