مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۲۱ شماره ۲ صفحه‌های ۱۴۹ تا ۱۶۰ (۱۳۹۹)
مقاله پژوهشی

تأثیر پیش تیمارهای جیبرلیک اسید و انجماد بر برخی ویژگی‌های تنزگی بذر دو گونه بادام وحشی در شرایط درون و برون شیشه‌ای[1]

Effect of Pre-treatments of Gibberellic Acid and Freezing on some Seed Germination Traits of Two Wild Almond Species under *in vitro* and *in vivo* Conditions

مهری اسدی و اختر شکافنده*[2]

چکیده

به‌منظور ارزیابی اثر پیش تیمار جیبرلیک اسید (GA_3) و انجماد بر تنزگی بذر و رشد گونه‌های بادام کوهی و ارژن، سه آزمایش در شرایط درون و برون شیشه‌ای[3] انجام شد. در آزمایش اول، اثر سطح‌های مختلف GA_3 (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) و زمان‌های ۱۲ و ۲۴ ساعت خیسندگی بر تنزگی بذر گونه‌های بادام کوهی و ارژن مورد بررسی قرار گرفت. در آزمایش دوم و سوم به‌ترتیب اثر دماهای مختلف ۱۸ و ۱۶- درجه سلسیوس بر تنزگی بذر و رشد آنها در محیط خاک و محیط کشت موراشیگی و اسکوگ (MS) بررسی شد. نتیجه‌ها نشان داد، درصد و سرعت تنزگی بذر به‌طور معنی‌داری با کاربرد GA_3 و دمای انجماد نسبت به شاهد افزایش یافت. بیشترین طول شاخساره و طول ریشه در گونه بادام کوهی در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر GA_3 و بازه زمانی به‌ترتیب ۲۴ و ۱۲ ساعت خیسندگی در GA_3 به‌دست آمد. در شرایط انجماد و در محیط خاک اگرچه بالاترین درصد تنزگی (۹۲) مربوط به گونه بادام کوهی بود، اما با دیگر تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت. طول شاخساره هر دو گونه در پیش تیمار انجماد افزایش یافت، اما میزان این افزایش در شرایط درون شیشه‌ای معنی‌دار نبود. بنابراین می توان از تیمار انجماد در شرایط خاکی برای تولید پایه‌های بذری بادام کوهی و ارژن در خزانه با مدت زمان کوتاه‌تر و هزینه کم‌تر نسبت به روش‌های دیگر استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: ارژن، بادام کوهی، جیبرلیک اسید، انجماد، تنزگی، *In vitro*.

مقدمه

بادام با نام علمی *Prunus dulcis* (Mill.) D. A. Webb از تیره وردسانان[4] یکی از قدیمی‌ترین درختانی است که در مناطق معتدله ایران کشت می‌شود. جنس بادام دارای بیش از ۴۰ گونه در نقاط مختلف جهان است که از مجموع گونه‌های بادام بیش از ۳۰ گونه در ایران رویش دارند و از این شمار، ۱۴ گونه شامل ۶ دورگه بین گونه‌ای و ۸ گونه معمولی انحصاری ایران می‌باشند. این گونه‌ها دارای ویژگی‌های ارزشمندی مانند تحمل به شرایط نامساعد محیطی، آفات و بیماری‌ها هستند که افزون بر کاربرد آن‌ها در برنامه‌های به‌نژادی بادام می‌توانند به‌عنوان پایه برای رقم‌های تجاری بادام و آلو برای کنترل رشد سایه‌سار درخت و تحمل در برابر شرایط نامساعد محیطی مورد استفاده قرار بگیرند (۲۶). در زیر جنس *dulcis* گونه‌های زیادی از بادام وحشی با ویژگی‌های گیاه‌شناسی متفاوت قرار دارند که در دامنه بوم‌شناسانه گسترده‌ای رشد می‌کنند (۳۰). از معروف‌ترین این گونه‌ها می‌توان به گونه‌های بادام کوهی (*Prunus scoparia*) و ارژن (*Prunus elaeagnifolia*) اشاره نمود.

گیاهان دارای سازوکارهایی هستند که تنزگی بذر را در مناسب‌ترین فصل سال تنظیم می‌کنند. یکی از این سازوکارهای تنزگی بذر، خفتگی بذر است که می‌تواند به‌عنوان ناتوانی موقت یک بذر زنده و سالم به‌منظور تکمیل تنزگی در شرایط مطلوب

۱- تاریخ دریافت: ۹۸/۴/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۱/۱۲

۲- به‌ترتیب دانشجوی پیشین کارشناسی ارشد و دانشیار بخش علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.
* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (shekafan@shirazu.ac.ir).

۳- *In vivo*

۴- Rosaceae

تعریف شود (۱۴). از آن‌جایی که بازسازی طبیعی و حفظ بادام وحشی تنها به‌وسیله بذر انجام می‌شود خفتگی بذر به‌عنوان یک سازوکار سازگار در جنس *Prunus* از جمله بادام برای جلوگیری از آسیب‌های سرمازدگی محسوب می‌شود (۱۹). اما برطرف نمودن خفتگی بذرها به‌ویژه در نژادگان‌های وحشی برای استفاده به‌عنوان پایه و بهـره‌مندی از آن‌ها با دشواری‌هایی روبه‌رو است. یکی از مهم‌ترین دشواری‌ها، طولانی بودن دوره تنژگی بذرهای جنس *Prunus* به دلیل وجود خفتگی مرکب فیزیکی و فیزیولوژیک است. حذف پوسته باعث رفع خفتگی فیزیکی و افزایش درصد تنژگی در بذر بسیاری از گونه‌های *Prunus* می‌شود (۱۸، ۲۱). عمل تنژگی و دوره استراحت زیر کنترل ترکیب‌های هورمونی نیز است. در این میان بسیاری از ماده‌های هورمونی مانند هیدروکسید مالیک، آبسایزیک اسید، سیانامیدها و ترکیب‌های فنولی بازدارنده تنژگی‌اند (۱۵). در این راستا، استفاده از سرمادهی مرطوب به مدت ۴۵ روز سبب بهینه شدن درصد تنژگی بذر گونه‌های مختلف جنس *Prunus* شده است (۷). تیمار تنظیم‌کننده‌های رشد مانند GA_3 برای سرعت بخشیدن به تنژگی بذرها به همراه دیگر روش‌ها مثل خراش‌دهی مورد استفاده قرار گرفته است (۲۳). گزارش‌هایی در ارتباط با اثر انجماد در افزایش تنژگی بذرهای مختلف موجود است، اما به دانسته ما تا امروز گزارشی برای جنس *Prunus* ارایه نشده است. از آنجایی که در شرایط برون شیشه‌ای تنژیدن بذر نژادگان‌های ارژن و بادام کوهی بدون پوسته حتی در گلخانه زیر تأثیر عوامل متغیر محیطی قرار می‌گیرد و اختلال در تنژگی آن‌ها ایجاد می‌شود، امروزه می‌توان از پتانسیل کشت بافت گیاهی برای تنژگی بذرها در مدت زمان کوتاه استفاده کرد. بنابراین در این پژوهش اثر پیش تیمارهای GA_3 و انجماد بر تنژگی درون و برون شیشه‌ای بذر دو گونه وحشی بادام مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مادههای گیاهی و محل پژوهش

این پژوهش سال ۱۳۹۷ در آزمایشگاه کشت بافت گیاهی و زیست‌فناوری دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز انجام شد و بذرهای دو گونه بادام وحشی به نامهای بادام کوهی و ارژن مورد استفاده قرار گرفت. بذر بادام کوهی از ارتفاعات ناحیه دروازه قرآن در شیراز و بذر ارژن از منطقه خانه زنیان در بخش دشت ارژن جمع‌آوری شد. برای بررسی تنژگی بذرها و رشد بعدی آن‌ها سه آزمایش به‌صورت زیر انجام شد.

آزمایش اول: اثر سطح‌های مختلف GA_3 بر تنژگی بذر دو گونه بادام کوهی و ارژن

بذرهای بادام کوهی و ارژن بدون پوسته سخت زیر تیمار GA_3 در ۴ سطح (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) و دو بازه زمانی ۱۲ و ۲۴ ساعت خیسندگی قرار گرفتند. سپس در شرایط سترون به این ترتیب گندزدایی شدند: به مدت ۱ دقیقه در الکل ۷۰٪ و سپس در محلول تجاری کلراکس ۲۰٪ (دارای هیپوکلرید سدیم ۵٪) به مدت ۱۰ دقیقه به‌صورت غوطه‌وری قرارگرفته و پس از آن سه مرحله شستشو با آب مقطر سترون انجام شد. بذرهای گندزدایی شده روی محیط کشت موراشیگی و اسکوگ[۱] (۲۵) نیم غلظت (MS/2) کشت شدند.

آزمایش دوم: اثر تیمار انجماد بر تنژگی بذر بادام کوهی و ارژن

بذرهای ارژن و بادام کوهی با پوسته چوبی پس از شستشو، در آب مقطر قرار داده و به مدت یک هفته در دو دمای ۱۸ °C و ۱۶ °C– قرار گرفتند. در دمای اتاق هر ۲۴ ساعت آب ظرف عوض شد. پس از خارج نمودن بذرها از فریزر و ذوب یخ (ظرف حاوی بذر منجمد شده در دمای اتاق قرار گرفت و یخ در مدت ۴ ساعت آب شد) سپس بذرها در ماسه کشت شدند و در گلخانه با دمای ۲ ± ۲۵ °C و رطوبت نسبی ۷۰ ٪ قرار گرفتند.

آزمایش سوم

این آزمایش مانند آزمایش دوم تکرار شد با این تفاوت که بذرها پس از خروج از فریزر به دو گروه تقسیم شدند. یک گروه پس از حذف پوسته چوبی به روش بالا گندزدایی شده و روی محیط کشت موراشیگی و اسکوگ نیم غلظت (MS/2) کشت شدند. گروه دیگر بدون جدا نمودن پوسته در ماسه کشت و در گلخانه با دمای ۲ ± ۲۵ °C و رطوبت نسبی ۷۰٪ قرار گرفتند.

۱- Murashige and Skoog

ویژگی‌های مورد بررسی

در یک بازه زمانی ۲۰ روز درصد و سرعت تنژگی و پس از ۳۰ روز شاخص‌های رشد شامل طول شاخساره و طول ریشه به‌وسیله خط‌کش برحسب سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. در آزمایش اول وزن تر و خشک شاخساره، وزن تر و خشک ریشه به‌وسیله ترازو مدل KG 224-1 S آلمان برحسب میلی‌گرم، و وزن تر کل و وزن خشک کل از مجموع وزن تر و خشک شاخساره و ریشه برحسب میلی‌گرم اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری درصد و سرعت تنژگی به روش Maguire (۲۴) انجام شد.

$$GP=\frac{\sum(i\times \text{شماربذرجوانه‌زده‌تاروز})\times 100}{\text{شمارکل‌بذر}}$$ (درصد تنژگی)

$$GR=\frac{\sum(n-1\ \text{روز‌تا‌زده‌جوانه‌بذرهای‌شمار})}{n}$$ (سرعت تنژگی)

n : تعداد روز

زمان لازم برای انجام ۵۰ در صد تنژگی (T50) بر اساس رابطه زیر محاسبه شد

$$T50= ti+(N/2- ni)\ (tj-ti)/nj-ni$$

N : شمار کل بذر تنژیده، ni و nj شمار بذر تنژیده به‌صورت تجمعی در وضعیت $ni<N/2<nj$ ، ti-tj زمان (روز) به ترتیب برای شمارش‌های ni و nj.

واکاوی داده‌ها

آزمایش‌ها به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح به‌طور کامل تصادفی[۱](CRD) با ۴ تکرار و در هر تکرار بین ۵ تا ۲۰ بذر برای هر تیمار انجام شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۴,۹ واکاوی و میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ ، مقایسه شدند.

نتایج و بحث

اثر GA_3 بر درصد و سرعت تنژگی

نتیجه‌های مقایسه میانگین‌ها (جدول ۱) نشان داد که به‌طورکلی بدون در نظر گرفتن تیمار GA_3 و مدت زمان تیمار، درصد تنژگی بادام کوهی به‌طور معنی‌داری بیشتر از ارژن بود. بالاترین درصد تنژگی (۱۰۰) در هر دو گونه در غلظت ۱۵۰میلی‌گرم بر لیتر GA_3 در بازه زمانی ۲۴ ساعت به دست آمد. هم‌چنین شمار روزهایی که ۵۰ ٪ تنژگی (T50) اتفاق می‌افتد با افزایش جیبرلیک اسید کاهش یافت. در بادام کوهی در هر دو بازه زمانی ۱۲ و ۲۴ ساعت با افزایش غلظت GA_3 به ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سرعت تنژگی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. سرعت تنژگی بذرهای دو گونه مورد بررسی در سطح‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم GA_3، تفاوت معنی‌داری را با یکدیگر نشان ندادند اما در سطح ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک‌اسید، بالاترین میزان سرعت تنژگی در بادام کوهی مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری را با دیگر سطح‌های این تنظیم‌کننده رشد گیاهی داشت و در گونه ارژن اگرچه افزایش غلظت جیبرلیک اسید سبب افزایش سرعت تنژگی بذر شد اما تفاوت‌ها معنی‌دار نبود. به نظر می‌رسد یکی از دلایل تفاوت در میزان تنژگی بذرها در گونه‌های مختلف بادام ناشی از میزان متفاوت تنظیم‌کننده‌های رشد موجود در بذر باشد که موجب می‌شود تا گونه‌ها در پاسخ به تیمارهای مختلف، واکنش‌های متفاوتی از خود نشان دهند (۲۷). کاربرد جیبرلیک‌اسید برای غلبه بر خفتگی فیزیولوژیک در بسیاری از جنس‌های گیاهی از جمله جنس *Prunus* به اثبات رسیده است (۴، ۶). بیان‌شده است که مشکل تنژگی بذرهای بادام به دلیل وجود بازدارنده‌های تنژگی در رویان است. تیمار بذرها با جیبرلیک اسید باعث افزایش نسبت جیبرلیک اسید به آبسیزیک اسید درون بذر و در نتیجه باعث افزایش درصد تنژگی بذرها می‌گردد (۱۸). جیبرلین‌ها در کنترل و تسریع تنژگی بذر به‌طور مستقیم دخالت دارند و رشد یاخته را با افزایش ضریب کشسانی دیواره پتانسیل آب یاخته و در نتیجه تسهیل ورود آب به درون یاخته می‌شود. به دنبال این فرآیند طویل شدن یاخته رخ می‌دهد. جیبرلین اثر تسریع کننده در کاهش دوره چینه سرمایی و شکستن خفتگی و تنژگی بذرها داشته است که نشان دهنده ماهیت

۱- Completely randomized design

هورمونی خفتگی بذر گونه‌های هلو و بادام می‌باشد (۲۱). افزایش سرعت تنژگی بذرهای تیمار شده با جیبرلین ممکن است با کوتاه کردن مدت زمان سوخت‌وساز باعث تسریع تنژگی شده و به‌دنبال آن به کاهش میانگین زمان تنژگی منجر شود (۱۶).

جدول ۱- اثرهای گونه، مدت زمان و جیبرلیک اسید بر درصد تنژگی، سرعت تنژگی و طول ساقه و ریشه در شرایط درون شیشه ای.

Table 1. Effects of species, duration and GA_3 on percentage of germination, germination rate and shoot and root length in *in vitro* condition.

گونه Species	زمان Time (h)	جیبرلیک اسید GA^3 ($mg\ L^{-1}$)	زمان ۵۰٪ تنژگی T50 (Day)	درصد تنژگی Germination (%)	سرعت تنژگی Germination rate	طول شاخساره Shoot length (cm)	طول ریشه Root length (cm)
بادام کوهی *Prunus scoparia*	12	0	†9.2 efg	60 bc	0.06 d-g	1.92 efg	7.4 d
		50	8.2 gh	70 bc	0.09 cde	2.44 c-g	14.9 abc
		100	7.0 h	100 a	0.14 bc	3.34 abc	15.3 abc
		150	5.7 h	100 a	0.22 a	4.12 ab	18.6 ab
	24	0	13.1 ab	45 c	0.06 d-g	1.36 fg	12.10 cd
		50	12.6 abc	85 ab	0.08 def	2.86 cde	14.86 abc
		100	11.3 cd	100 a	0.1cd	3.18 bcd	20.4 a
		150	10.5 def	100 a	0.2 ab	4.48 a	20.5 a
ارژن *Prunus elaeagnifolia*	12	0	10.3 cde	45 c	0.02 g	1.08 g	12 cd
		50	9.5 def	60 c	0.04 efg	1.34 fg	13.58 bcd
		100	8.7 fgh	65 bc	0.04 efg	2.64 cde	15 abc
		150	7.9 gh	85 ab	0.06 d-e	2.84 cde	15.88 abc
	24	0	14.1 a	50 c	0.02 g	2.10 d-g	10.82 cd
		50	13.9 a	50 c	0.02 g	2.18 c-g	10.84 cd
		100	12.7 abc	65 bc	0.03 fg	2.8 cde	13.42 bcd
		150	11.6 bcd	100 a	0.04 efg	3.28 bc	17.14 abc
اثرهای اصلی Main effects	گونه Species	بادام کوهی *Prunus scoparia*	9.7 B	82.5 A	0.11 A	2.97 A	13.5 A
		ارژن *Prunus elaeagnifolia*	11.1 A	68.7 B	0.03 B	2.28 B	15.5 A
	GA_3	0	11.7 A	51.2 C	0.03 C	1.6 D	9.95 C
		50	11.1 A	72.5 B	0.06 BC	2.2 C	14.6 B
		100	9.9 B	88.7 A	0.07 B	2.9 B	16.04 AB
		150	8.9 C	90 A	0.13 A	3.6 A	18.05 A
	زمان Time	12	8.4 B	81.8 A	0.08 A	2.4 A	13.5 A
		24	12.5 A	69.3 B	0.06 B	2.7 A	15.5 A

†In each column, means with the same letters (small letters for interactions and capital letters for the main effects) are not significantly different at 5% probability level using LSD test.

†در هر ستون، میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک (حرف‌های کوچک برای برهمکنش‌ها و حرف‌های بزرگ برای اثرهای اصلی) در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

طول شاخساره و ریشه

در هر دو بازه زمانی ۱۲ و ۲۴ ساعت و در هر دو گونه با افزایش غلظت GA_3 از صفر به ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر به طول شاخساره افزوده شد (جدول ۱). بیشترین طول شاخساره در گونه بادام کوهی (۴/۴۸سانتی‌متر) در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر جیبرلیک‌اسید و بازه زمانی ۲۴ ساعت به‌دست آمد که تفاوت معنی‌داری را با شاهد نشان داد. هم‌چنین بیشترین طول ریشه در گونه بادام کوهی در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر GA_3 در تیمار ۱۲ ساعت به‌دست آمد، اگرچه تفاوت معنی‌داری در همین غلظت‌ها با تیمار ۲۴ ساعت نداشت (شکل ۱). در ارژن در هر دو بازه زمانی، اگرچه با افزایش غلظت به ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر GA_3 طول ریشه افزایش یافت، اما این افزایش معنی‌دار نبود.

جیبرلین‌ها باعث تحریک رشد بخش‌های هوایی گیاه به ویژه ساقه می‌شوند. جیبرلین باعث فعال‌سازی آنزیم هیدرولیز کننده آلفا آمیلاز شده و افزایش فعالیت این آنزیم منجر به تجزیه ماده‌های ذخیره‌ای و انتقال آن به محور رویان و افزایش رشد گیاه می‌شود (۲۸). هم‌چنین، جیبرلیک اسید با تحریک تقسیم یاخته‌ای و طویل شدن یاخته و یا هر دو موجب رشد، به ویژه در اندام‌های هوایی گیاهان مختلف می‌شود (۲۲). نتیجه‌های این پژوهش با یافته‌های Rawat (۲۹) روی انار همسو می‌باشد. بیان شده است که GA_3 فعالیت آنزیم ریبولوز بی‌فسفات کربوکسیلاز-اکسیژناز (روبیسکو) که آنزیم اصلی فتوسنتزی در گیاهان است را افزایش می‌دهد. هم‌چنین موجب تحریک ساخت ساکارز و انتقال آن از برگ به آوند آبکش می‌شود. به احتمال زیاد تحریک ساخت ساکارز و انتقال آن به آوند آبکش در اثر تیمار جیبرلیک‌اسید نه تنها موجب افزایش رشد در بخش‌های هوایی گیاه می‌شود، بلکه بخش دیگری از ماده‌ها به اندام‌های زیرزمینی نیز منتقل شده که افزایش رشد ریشه را در پی دارد (۱).

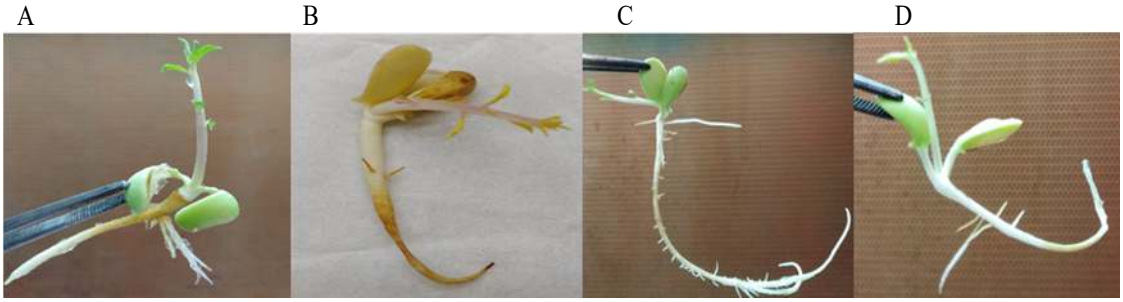

Fig. 1. Effect of GA_3 (150 mg L^{-1}) on *in vitro* seed germinaition and growth of Badam Kohi and Arjan. A-B) control and GA_3 treatment in Arjan; C-D) control and GA_3 treatment in Badam kohi.

شکل ۱- اثر GA_3 (۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) بر تنژگی بذر و رشد بادام کوهی و ارژن در شرایط درون شیشه‌ای. الف و ب) شاهد و تیمار GA_3 در بادام کوهی؛ ج و د) شاهد و تیمار GA_3 در ارژن.

وزن تر شاخساره و ریشه

به‌طورکلی اختلاف معنی‌داری در وزن تر شاخساره بین دو گونه بادام کوهی (۹۵۰ میلی‌گرم) و ارژن (۶۹۰ میلی‌گرم) مشاهده شد و با افزایش غلظت GA_3 از صفر به ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر وزن شاخساره به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. برهمکنش GA_3 و زمان و گونه گیاهی بر وزن تر شاخساره نشان داد که کمترین میزان وزن تر شاخساره مربوط به شاهد و بیشترین وزن تر شاخساره مربوط به تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر GA_3 در دو بازه زمانی ۱۲ و ۲۴ ساعت بود. میزان این شاخص برای بادام کوهی در سطح ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر GA_3 در بازه زمانی ۱۲ ساعت ۱۲۷۶ میلی‌گرم و در زمان ۲۴ ساعت ۱۳۲۲ میلی‌گرم و برای گونه ارژن در زمان ۱۲ ساعت ۱۲۶۸ میلی‌گرم بود. بیشترین وزن تر ریشه در گونه بادام کوهی (۳۲۲۰ میلی‌گرم) در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر حاصل شد که با دیگر تیمارها در هر دو گونه اختلاف معنی‌داری را نشان داد. ارژن نیز دارای بیشترین وزن تر ریشه در سطح ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر GA_3 در هر دو بازه زمانی ۱۲ و ۲۴ ساعت بود که در مقایسه با شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان داد. کاربرد GA_3 باعث افزایش شمار برگ شده که این افزایش شمار برگ موجب افزایش سطح فتوسنتزکننده گیاه و افـزایش میـزان ماده‌های غذایی ساخته شده و در نتیجه افزایش وزن تر می‌شود (۹). در گزارشی Rout و همکاران (۲۸) نشان دادند جیبرلین با افزایش رشد دانهال باعث افزایش وزن تر می‌شود. جیبرلین در غلظت مناسب پیش از تنژگی بذر، افزون

بر این‌که فرآیند تنژگی را زیر تأثیر قرار می‌دهد، روی رشد سیستم ریشه‌ای دانهال‌ها از نظر وزن و حجم مؤثر بوده و کیفیت ریشه را بالا می‌برد (۵).

وزن خشک شاخساره و ریشه

در هر دو گونه گیاهی، بیشترین میزان وزن خشک شاخساره (در ارژن ۱۵۳ میلی‌گرم و در بادام کوهی ۱۸۵میلی‌گرم) در اثر کاربرد ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر در زمان ۲۴ ساعت مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری را نسبت به شاهد خود نشان دادند (جدول ۲). برهمکنش گونه، زمان و تیمار GA_3 نشان داد که بیشترین وزن خشک ریشه (۲۱۴ میلی‌گرم) در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد که نسبت به تیمارهای دیگر تفاوت معنی‌داری را نشان داد. در هر دو گونه و در هر دو بازه زمانی ۱۲ و ۲۴ ساعت، میزان ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر GA_3 به‌طور معنی‌داری سبب افزایش وزن خشک ریشه نسبت به شاهد خود شد. تأثیر GA_3 بر افزایش وزن خشک گیاه را می‌توان به تأثیر آن بر افزایش میزان فتوسنتز و کاهش تنفس نوری از راه افزایش سطح برگ نسبت داد. نتیجه‌های پژوهشی روی بنه[۱] و کلخونگ[۲] نشان داد که GA_3 باعث افزایش وزن خشک شاخساره در هر دو رقم شد (۴) که با نتیجه‌های این پژوهش در یک راستا است. افزایش وزن خشک گیاهچه در بذرهای پیش تیمار شده با جیبرلیک اسید نسبت به بذرهای پیش تیمار نشده، توسط Ansari و همکاران (۱۳) گزارش شده است. تیمار گیاهان با GA_3 میزان تقسیم یاخته‌ای مریستم رأس ریشه اولیه که منجر به رشد طولی می‌شود را زیاد می‌کند. یکی از دلایل افزایش وزن خشک ساقه‌چه توسط GA_3 به احتمال، افزایش در رشد و تقسیم یاخته‌ای از راه تأثیر بر ساخت و فعالیت هورمون اکسین و سایتوکاینین باشد. در تیمارهایی که تنژگی سریع‌تر انجام می‌شود، بخشی از آن به معنای شروع رشد و افزایش ویژگی‌ها در مقایسه با گیاهچه‌هایی است که تنژگی را دیرتر آغاز کرده‌اند.

اثر انجماد بر تنژگی و رشد دانهال‌ها در شرایط برون شیشه‌ای

نتیجه‌ها نشان داد که تیمار انجماد ($-16\ ^{\circ}C$) در هر دو گونه به‌طور معنی‌داری سبب افزایش درصد و سرعت تنژگی و کاهش T50 شد. بیشترین درصد (۹۶) و سرعت تنژگی (۱/۴ بذر در روز) در گونه بادام وحشی اتفاق افتاد (جدول ۳). تیمار انجماد نیز به‌طور معنی‌داری سبب افزایش طول شاخساره و طول ریشه در هر دو گونه گیاهی نسبت به شاهد شد.

اثر انجماد بر تنژگی و رشد دانهال‌ها در شرایط برون و درون شیشه‌ای

اثر انجماد بر میزان و سرعت تنژگی

نتیجه‌های پیش‌تیمار انجماد بر درصد تنژگی بذر نشان داد که تیمار انجماد در دو شرایط درون و برون شیشه‌ای سبب افزایش معنی‌دار درصد تنژگی نسبت به شاهد شد (جدول ۴). اگرچه بالاترین درصد تنژگی (۹۲) مربوط به گونه بادام وحشی در شرایط انجماد و در محیط خاک بود، اما با دیگر تیمارها در شرایط انجماد و محیط کشت اختلاف معناداری را نشان نداد. تیمار انجماد تفاوت معنی‌داری را در سرعت تنژگی نسبت به شاهد در هر دو گونه بادام کوهی و ارژن و در شرایط خاک ایجاد کرد، اما در شرایط درون شیشه‌ای این تفاوت معنی‌دار نبود. هم‌چنین انجماد سبب کاهش T50 در دو شرایط درون و برون شیشه‌ای شد. پیش سرمادهی برای بذرهایی که دارای خفتگی داخلی هستند، دوره سرد زمستان را شبیه‌سازی و نقش مهمی در فرآیند تنژگی و شکستن خفتگی بذر ایفا می‌کند (۲۰). دمای پائین (۴ درجه سلسیوس) باعث بیان ژن مسئول ساخت جیبرلین می‌شود که به‌منظور تسریع فرآیند تنژگی بسته به نوع بذر و گونه گیاهی می‌توان این تیمار را با تیمارهایی مانند استفاده از ماده‌های شیمیایی و هم‌چنین حذف پوسته بذر، ترکیب کرد (۲۳). گزارش شده است سرما اغلب منجر به تشکیل، آزادسازی و فعال‌سازی هیدرولیتیکی برای تجزیه پروتئین‌ها و نشاسته ذخیره شده در بذر برای تغذیه رویان می‌شود و بدین روش بر تنژگی اثر مثبت می‌گذارد (۳۱). برخی بذرها باید با سرمای یخبندان مواجه شوند تا پوسته آن‌ها شکاف بردارد و تنژگی در آن‌ها آغاز گردد (۱۵). سرمادهی کوتاه مدت در دماهای زیر صفر به‌عنوان یک شوک سرمایی به بذر است تا افزون بر شکست خواب بذر، زمان سرمادهی نیز کاهش یابد (۲). شرایط خاک یخزده در فصل زمستان ممکن است به‌طور چشمگیری سبب تنژگی و هم‌چنین رشد بذرهای چندساله شود (۱۷). سرمادهی در برطرف کردن خفتگی فیزیولوژیک رویان مؤثر است و منجر به کاهش ABA و افزایش هورمون‌های محرک رشد مانند هورمون جیبرلین می‌شود (۸). عامل سرما،

۱- *Pistacia atlantica* ۲- *Pistacia khinjuk*

افزون بر تحریک ساخت جیبرلین درون‌زا، محرک‌های دیگری را فعال می‌کند که سبب افزایش سرعت تنژگی می‌شود و با کاهش تراز هورمون‌های بازدارنده و افزایش تراز هورمون‌های محرک سبب افزایش پتانسیل تنژگی می‌شود. این امر ممکن است به دلیل تغییر در سیالیت غشا یا فعالیت آنزیمی باشد (۳۱).

جدول ۲- اثر گونه، زمان و اسید جیبرلیک بر وزن تر و خشک شاخساره و ریشه در شرایط درون شیشه ای.

Table 2. Effect of species, time and GA_3 on shoot and root fresh weight (FW) and dry weight (DW) in *in vitro* condition.

گونه Species	زمان Time (h)	جیبرلیک اسید GA_3 (mg L^{-1})	وزن تر شاخساره Shoot FW (mg)	وزن تر ریشه Root FW (mg)	وزن تر کل Total FW (mg)	وزن خشک شاخساره Shoot DW (mg)	وزن خشک ریشه Root DW(mg)	وزن خشک کل Total DW (mg)
بادام کوهی *Prunus scoparia*	12	0	†608 d	470 cde	1080 efg	136 ab	36 f-h	172 bc
		50	1100 ab	500 cde	1600 cd	152 ab	72 bcd	224 bc
		100	1114 ab	600 c	1720 c	158 ab	91 bc	250 b
		150	1276 a	3220 a	4498 a	165 ab	214 a	382 a
	24	0	484 de	325 de	809 g	130 b	44 efgh	160 bc
		50	706 cd	543 cd	1248 d-g	147 ab	56 def	186 bc
		100	1058 abc	560 dc	1618 cd	156 ab	67 cde	240 b
		150	1322 a	1206 b	2528 b	185 a	98 b	254 ab
ارژن *Prunus elaeagnifolia*	12	0	664 d	260 ef	924 fg	118 bc	18 hi	136 bc
		50	686 d	440 dce	1126 efg	118 bc	48 defg	166 bc
		100	764 bcd	474 dce	1308 c-f	155 ab	53 def	210 bc
		150	1268 a	543 cd	1742 c	158 ab	86 bc	250 b
	24	0	210 e	40f	255 h	61 d	16 i	77 c
		50	572 d	422 dce	994 fg	74 cd	26 ghi	94 c
		100	626 d	502 dce	1128 efg	147 ab	52 defg	192 bc
		150	810 bcd	658 c	1468 c-f	153 ab	67 cde	229 bc
اثرهای اصلی Main effects	گونه Species	بادام کوهی *Prunus scoparia*	950 A	930 A	1880 A	150 A	80 A	230 A
		ارژن *Prunus elaeagnifolia*	690 B	410 B	1110 B	120 B	40 B	180 B
	GA_3	0	490 C	270 C	760 C	110 B	20 D	170 B
		50	760 B	470 B	1240 B	110 B	50 C	160 B
		100	890 B	550 B	1440 B	150 A	70 B	220 AB
		150	1160 A	1390 A	2550 A	160 A	100 A	270 A
	زمان Time	12	930 A	810 A	1750 A	140	70 A	220 A
		24	720 B	530 B	1250 B	130 A	50 B	190 A

†In each column, means with the same letters (small letters for interactions and capital letters for the main effects) are not significant at the 5% probability level of the LSD test.

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک (حرف‌های کوچک برای برهمکنش و حرف‌های بزرگ برای اثرهای اصلی) در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

جدول ۳- اثرهای گونه و انجماد بر درصد تنژگی، سرعت تنژگی و طول ساقه و ریشه در شرایط برون شیشه‌ای.

Table 3. Effects of species and freezing on percentage of germination, germinaition rate and shoot and root length under *in vivo* conditions.

گونه Species	دما Temperature Celsius (°C)	زمان ۵۰ در صد تنژگی(روز) T50 (day)	درصد تنژگی Germination %	سرعت تنژگی (بذر در روز) Germination rate	طول شاخساره Shoot length (cm)	طول ریشه Root length (cm)
بادام کوهی *Prunus scoparia*	18	†6.67 b	40 b	0.2 c	9.5 b	5.6 c
	-16	3.9 c	96 a	1.4 a	15 a	11.6 a
ارژن *Prunus elaeagnifolia*	18	10.9 a	29 b	0.1 c	4.3 c	3 d
	-16	7.63 b	78 a	0.7 b	11.3 b	9.4 b
اثرهای اصلی Main effects						
گونه Species	بادام کوهی *Prunus scoparia*	5.2 B	68 A	0.8 A	12.2 A	8.6 A
	ارژن *Prunus elaeagnifolia*	9.2 A	53 B	0.4 B	7.8 B	6.2 B
دما Temperature	18	8.7 A	34 B	0.15 B	6.9 B	4.3 B
	-16	5.7 B	87 A	1.1 A	13.2 A	10.5 A

†In each column, means with the same letters (small letters for interactions and capital letters for the main effects) are not significant at the 5% probability level of the LSD test.

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک (حرف‌های کوچک برای برهمکنش و حرف‌های بزرگ برای اثرهای اصلی) در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

طول شاخساره و ریشه

طول شاخساره هر دو گونه بادام کوهی و ارژن در پیش تیمار انجماد افزایش یافت، اما میزان این افزایش در شرایط درون شیشه‌ای معنی‌دار نبود (جدول ۴). تیمار انجماد و محیط خاک سبب افزایش معنی‌دار طول شاخساره نسبت به شاهد شد. به‌طورکلی رشد شاخساره در محیط خاک بیشتر از محیط درون شیشه‌ای بود. شرایط انجماد و محیط MS سبب افزایش طول ریشه در گونه ارژن (۱۳/۶ سانتی‌متر) و بادام کوهی (۱۲ سانتی‌متر) نسبت به شاهد خود شد (شکل ۲). سرما سبب افزایش بیان ژن GA_3OX_1 (آنزیم تولیدکننده شکل فعال GA_3) در ریشه‌چه و لایه آلورون می‌شود که افزایش طول ریشه می‌تواند در ارتباط با این موضوع باشد (۱۲). در دمای پایین قندهای محلول و فروکتوز افزایش می‌یابد که سرمادهی بذر باعث افزایش غلظت فروکتوز وگلوکز در بذرهای سرما دیده شده و افزایش قندهای محلول باعث افزایش بیشتر دسترسی ماده‌های غذایی به رویان در نتیجه منجر به افزایش رشد دانهال می‌شود (۲۱). گزارش شده است یخ‌آب، سبب افزایش محرک‌های تنژگی و رفع موانع فیزیولوژیکی می‌شود، کاری که جیبرلین به تنهایی نمی‌تواند انجام دهد و باید با سرما همراه شود و از این راه باعث بهبود شرایط فیزیولوژی درون بذر می‌شود (۳). تیمار یخ‌آب در نهایت باعث تغییر نسبت‌های هورمونی درونی بذر به نفع جیبرلین خواهد شد که خود پس از انتقال به لایهٔ آلورن با فعال‌سازی آنزیم‌های تجزیه‌کنندهٔ ذخیرهٔ غذایی بذر سبب تحریک گیاه در جذب عنصرهای غذایی، افزایش فعالیت آنزیم‌ها و متابولیسم گیاه و هم‌چنین افزایش غلظت قندها، پروتئین‌ها، اسیدهای آلی و عنصرهای معدنی بافت گیاه می‌شود و از این راه گیاه را قوی می‌کند و میزان رشد آن را افزایش می‌دهد (۳۱).

جدول ۴- اثر گونه، انجماد و محیط کشت بر درصد و سرعت تنژگی، طول ساقه و ریشه در شرایط درون و برون شیشه‌ای.

Table 4. Effect of species, freezing and culture medium on germination percentage, germination rate, shoot and root length *in vivo* and *in vitro* condition.

گونه Species	محیط کشت Culture medium	دما Temperature ˚C	زمان ۵۰ در صد تنژگی T50 (day)	در صد تنژگی Germination %	سرعت تنژگی Germination rate	طول شاخساره Shoot length (cm)	طول ریشه Root length (cm)
بادام کوهی *Prunus scoparia*	MS	18	†12.1 abc	35 b	0.04 c	1.7 d	5.6 c
		-16	8.2 d	75 a	0.06 c	3.2 d	12 a
	خاک Soil	18	9.3 bcd	20 b	0.12 bc	10.4 b	2.4 de
		-16	4.7 e	92 a	0.32 a	13.8 a	10.5 ab
ارژن *Prunus elaeagnifolia*	MS	18	14.06 a	35 b	0.03 c	1.3 d	4.9 cd
		-16	10.5 bcd	70 a	0.06 c	2.5 d	13.6 a
	خاک Soil	18	12.5 ab	16 b	0.05 c	6.1 c	1.2 e
		-16	9.2 cd	80 a	0.17 b	13.1 a	8 bc
اثرهای اصلی Main effect							
	گونه species	بادام کوهی *Prunus scoparia*	8.7 B	65.7 A	0.11 A	5.7 A	7.6 A
		ارژن *Prunus elaeagnifolia*	11.5 A	58.7 A	0.07 B	4.3 A	6.9 A
	محیط کشت Culture medium	MS	11.2 A	56.1 B	0.04 B	2.1 B	5.5 B
		Soilخاک	9.1 B	67.8 A	0.14 A	7.9 A	9 A
	دما Temperature	18	12.1 A	45.2 B	0.03 B	2.3 B	3.5 B
		-16	8.1 B	79.2 A	0.15 A	7.7 A	11 A

†In each column, means with the same letters (small letters for interactions and capital letters for the main effects) are not significant at the 5% probability level of the LSD test. MS; Murashige and Skoog (1962).

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک (حرف‌های کوچک برای برهمکنش و حرف‌های بزرگ برای اثرهای اصلی) در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

وزن تر و خشک شاخساره و ریشه

در هر دو گونه گیاهی تیمار انجماد (۱۶ °C-) به‌طور معنادار سبب افزایش وزن تر شاخساره نسبت به شاهد خود شد (جدول ۵). بیشترین وزن تر شاخساره مربوط به بادام کوهی (۱۲۲۷ میلی‌گرم) در شرایط انجماد بود. به همان روند وزن تر ریشه، تیمار انجماد سبب افزایش وزن خشک ریشه شد اما این افزایش معنادار نبود. به‌طورکلی وزن خشک ریشه ارژن (۸۰ میلی‌گرم)

دو برابر ریشه بادام کوهی (۴۰ میلی‌گرم) بود. در هر دو گونه گیاهی اگرچه انجماد سبب افزایش رشد وزن تر ریشه شد اما این افزایش معنی‌دار نبود. به‌طورکلی گونه ارژن وزن تر ریشه بیشتری نسبت به بادام کوهی داشت.

سرما باعث افزایش محتوای آب بافتی گیاهچه می‌شود که می‌توان گفت این امر باعث افزایش وزن تر می‌گردد (۱). نوروزی گیوی و همکاران (۱۱) بیان کردند دماهای پایین، موجب افزایش عملکرد ریشه می‌شود که با نتیجه‌های این پژوهش در یک راستا است. تفاوت در میزان قندهای گلوکز و فروکتوز، پروتئین کل و اسیدآمینه پرولین در مرحله قبل و بعد از سرمادهی گزارش گردیده است و افزایش غلظت گلوکز و فروکتوز در بذرهای سرمادیده باعث افزایش وزن خشک می‌شود (۲۱). افزایش وزن خشک گیاه بنفشه (*Viola odorata*) در تیمار دمایی ۱۴- °C و ۱۸- °C گزارش و بیان‌شده است که این حالت ممکن است ناشی از اثرهای سرما بر جوانه‌های انتهایی و حذف چیرگی آن‌ها و تحریک گیاه برای تولید شاخه‌های بیشتر باشد (۱۰).

جدول ۵- اثر گونه و انجماد بر وزن‌تر و خشک شاخساره و ریشه در شرایط درون شیشه‌ای.

Table 5. Effect of species and freezing on shoot and root fresh, dry weight *in vitro* condition.

گونه Species	دما Temperature (˚C)	وزن تر شاخساره Shoot fresh weight (mg)	وزن تر ریشه Root fresh weight (mg)	وزن خشک شاخساره Shoot dry weight (mg)	وزن خشک ریشه Root dry weight (mg)	طول ریشه Root length (cm)
بادام کوهی *Prunus scoparia*	18	†837 b	212 b	80 b	22 b	5.6 c
	-16	1227 a	275 b	176 a	65 ab	12 a
ارژن *Prunus elaeagnifolia*	18	307 d	330 ab	67 b	73 ab	2.4 de
	-16	605 c	404 a	146 a	105 a	10.5 ab
اثرهای اصلی Main effect						
گونه Species						
	بادام کوهی *Prunus scoparia*	1030 A	240 B	120 A	40 B	4.9 CD
	ارژن *Prunus elaeagnifolia*	450 B	360 A	100 A	80 A	13.6 A
دما Temperature						
	18	570 B	270 A	160 A	40 B	1.2 E
	-16	910 A	330 A	70 B	80 A	8 BC

In each column, means with the same letters (small letters for interactions and capital letters for the main effects) are not significant at the 5% probability level of the LSD test.

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک (حرف‌های کوچک برای برهمکنش و حرف‌های بزرگ برای اثرهای اصلی) در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

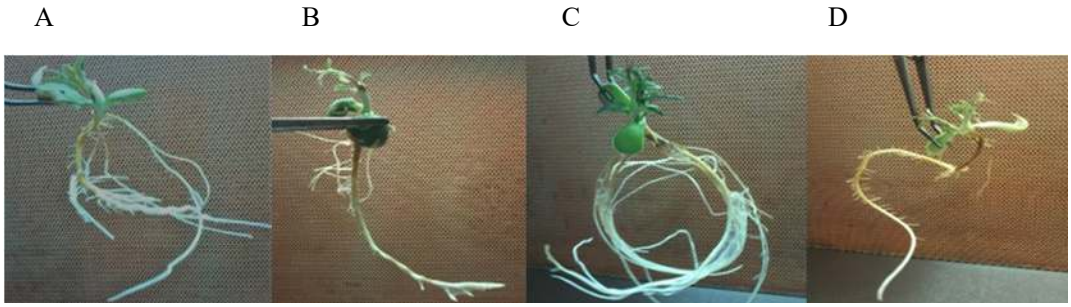

Fig. 2. The effect of freezing on Badam Kohi and Arjan seed germinaition under *in vitro* conditions. A and B, freezing and control treatments in Arjan respectively. C and D, freezing and control treatments in Badam Kohi, respectively.

شکل ۲- اثر انجماد بر تنژگی بذر بادام کوهی و ارژن در شرایط درون شیشه‌ای. الف و ب به ترتیب شاهد و تیمار انجماد در بادام کوهی. ج و د به ترتیب شاهد و تیمار انجماد در ارژن.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش، کاربرد پیش تیمار بذر با GA_3 به‌ویژه در سطح ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر و پیش تیمار انجماد سبب کاهش در T50 و افزایش درصد و سرعت تنژگی و هم‌چنین طول شاخساره و ریشه در هر دو گونه بادام کوهی و ارژن نسبت به شاهد شد. تیمار انجماد بذرهای هر دو گونه و کشت در خاک (با درون‌بر) نسبت به کشت در شرایط درون شیشه‌ای (بدون درون‌بر) افزایش رشد رویشی بیشتری را نشان داد. افزون بر این، دشواری‌های سازگاری در خاک در مقایسه با گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت وجود نداشت. نتیجه‌های این پژوهش این امکان را می‌دهد که از تیمار انجماد در شرایط خاک نسبت به انجماد درون شیشه‌ای و کاربرد تنظیم‌کننده رشد به‌عنوان راهی مناسب با میزان کمتری هزینه و زمان برای تولید پایه‌های بذری بادام کوهی و ارژن در خزانه برای پیوند زدن استفاده نمود.

منابع References

۱. آرتکا، آ.ان. ۱۳۹۷. اصول و کاربرد، مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی. ترجمه فتحی و اسماعیل‌پور. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، ۲۸۸ ص.

۲. آذرنیوند، ح.، ح. کشتکار و ا. شهریاری. ۱۳۸۸. بررسی تأثیر برخی تیمارها بر شکست خواب و جوانه‌زنی بذرهای *Ferula gummosa* و *Ferula assafoetida*. مجله علمی و پژوهشی مرتع، ۲۹۰-۲۸۱: ۳.

۳. آهنی، ح.، ح. جلیلوند و ج. واعظی. ۱۳۹۴. تأثیر تیمارهای مختلف بر جوانه‌زنی بذر گونه سنجد تلخ (*Hippophae rhamnoides*) در آزمایشگاه. مجلهٔ جنگل ایران، انجمن جنگلبانی ایران، ۵۶-۴۵: ۷.

۴. بانی نسب، ب. و م. راحمی. ۱۳۷۷. تأثیر کاربرد اسید جیبرلیک در رشد و نمو دانهال‌های بنه و کلخونگ. مجله علوم کشاورزی ایران.۳۳-۲۷ :۱

۵. ترکاشوند، ع.، ب. زاهدی و ع. احتشام نیا. ۱۳۹۴. تأثیر اسید جیبرلیک بر زمان و قدرت تنژگی بذر گردوی ایرانی (*Juglans regia* L.) همایش بین‌المللی پژوهش‌های کاربردی در کشاورزی، خرداد ماه ۱۳۹۴.

۶. رسولی, م.، ر. توکلی بنیزی و ع. ایمانی. (۱۳۹۴). تأثیر برخی تیمارهای شیمیایی و هورمونی بر شکستن خفتگی بذر گونه‌های بادام و هلو (*Prunus spp*). علوم باغبانی ایران.۶۳۵-۶۲۳ :۴.

۷. فتحی، ن.، حیدری، م. وک. بهنام فر. ۱۳۹۶. اثر سرمادهی بر جوانه‌زنی بذر و رشد اولیه دانهال برخی ژنوتیپ‌های بادام کوهی (*Prunus scoparia* Spach) بومی استان خوزستان (ایران). نشریه علوم و فناوری بذر ایران. ۲۱۱-۱۹۹:۲۶

۸. مجتهدی، م. و ح. لسا نی. ۱۳۹۶. زندگی گیاه سبز (ترجمه). دانشگاه تهران، موسسه انتشارات و چاپ، تهران، ۶۰۴ ص.

۹. نصیرزاده، ع.، جوکار، ل. و ح. نگهداری.۱۳۸۶. تأثیر هورمون اسیدجیبرلیک بر رشد نهال‌های بلوط (*Quercus brantii* var. persica). فصلنامه تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران ۲۵۳-۲۵۴: ۳.

۱۰. نظامی، ا.، م. کیخا آخر، ج. موسوی، ا. ایزدی، س. نظامی، و م. یوسف ثانی. ۱۳۹۰ . اثر تنش یخزدگی بر گیاه بنفشه زیر شرایط آزمایشگاهی. نشریه بوم‌شناختی کشاورزی، ۴۳۸-۴۳۰ :(۴)۳

۱۱. نوروزی گیوی، م.، ب. اسماعیل‌پور، م.محب الدینی و س. خرم‌دل.۱۳۹۳. تأثیر پیش تیمار بذر بر خصوصیات رشدی، عملکرد و فعالیت آنزیمی گوجه‌فرنگی در تنش سرما. دو فصلنامه علوم سبزی‌ها، ۱.

12. Abbasi Khalaki, M., A. Ghorbani, and M. Moameri. 2016. Effects of silica and silver nanoparticles on seed germination traits of *Thymus kotschyanus* in laboratory conditions. J. Rang. Sci. 6: 221-231.
13. Ansari, O. and F. sharif-Zadeh. 2012. Does gibberellic acid (GA), salicylic acid (SA) and ascorbic acid (ASc) improve mountain rye (*Secale montanum*) seeds germination and seedlings growth under cold stress? Inter. Res. J. Appl. Bas. Sci. 3: 1651 -1657.
14. Bewley, J.D. 1997. Seed germination and dormancy. Plant Cell. 9: 1055-1066.
15. Bewley, JD and M. Black. 1994. Seed physiology of development and germination, 2nd Edn, Plenum Press.New York.
16.Baskin, J.M. and C.C. Baskin. 2004. A classification system for seed dormancy. Seed Sci. Res. 14: 1-16
17. Boyd, C.S. and J.A. Lemos. 2013. Freezing stress influences emergence of germinated perennial grass seeds. Rang. Ecol. Manag. 66(2):136-142.
18. Chetinbas, M. and A. Koyuncu. 2006. Improving germination of (*Prunus avium* L.) seeds by gibberellic acid, potassium nitrate and thiourea. HortScience, 33:119-123 .
19. Garcia-Gusano, M., P. Mart ınez-Gomez and F. Dicenta. 2004. Breaking seed dormancy in almond (*Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb). Hort. Sci. 99: 363–370.
20. Hartmann, T.H., E.D. Kester, F.T. Davies and R.L. Geneve.1997. Plant Propagation: Principles and Practices. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey. 770 p.
21. Imani, A., M. Rasouli, R. Tavakoli, E. Zarifi, R. Fatahi, G. Barba-Espín and P. Martínez-Gómez. 2011. Optimization of seed germination in *Prunus* species combining hydrogen peroxide or gibberellic acid pre-treatments with stratification. Seed. Sci. Technol. 39: 204-207.
22. Lanes, B.A.J., R.C. Ivan, J.S. Vinícius, R.P. João, T. Cristian, M.D. Simone, T.M. Mayara, C.R. Tiago, A.V. Francisco, Q.S. Velci, Z. A. Tiago and P. Tiag. 2019. Gibberellic acid utilization in seeds and Plants of Beans: Effect on Growth and Seeds Physiological Quality. J. Agr. Sci. 11:541-547.
23. Martinez-gomez, P and F. Dicenta. 2001. Mechanisms of dormancy in seeds of peach (*Prunus persica* L. Batsch cv GF305). Sci. Hort. 91: 51–58.
24. Maguire, J. D. 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. Crop Sci. 2: 176-177.
25. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth & bio assays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473- 497.
26. Rahemi, AR., R. Fatahi, A. Ebadi, T. Taghavi, D. Hassani, T. Gradziel and J. Chaparro. 2010. Genetic variation of S-alleles in wild almonds and their related *Prunus* species. Aust. J. Crop Sci. 4: 648-659.
27. Rahemi, A., Taghavi, T. Fathi, R. Ebadi, A. Hassani, D., Chapparro, J., and Gradziel, T. 2011. Seed germination and seedling establishment of some wild almond species. Afr. J. Biotech., 10:7780-7786.
28. Rout, S., S. Beura and N. Khare. 2017. Effect of seed pre-treatment with different concentrations of gibberellic acid (GA_3) on seed germination and seedling growth of *Cassia fistula* L. J. Medi. P. Stu. 5: 135-138.
29. Rawat, JMS., YK. Tomar and V. Rawat. 2010. Effect of stratification on seed germination and seedling performance of wild pomegranate. J. Amer. Sci. 6: 97- 99.
30. Sorkheh, K., B. Shiran, V. Rouhi, E. Asadi, H. Jahanbazi, H. Moradi and P. Martínez-Gómez. 2009. Phenotypic diversity within native Iranian almond (*Prunus spp*.) species and their breeding potential. Genet. Resour. Crop Ev. 56: 947
31. Taiz, L and E. Zeiger. 2013. Plant Physiology. Sinauer Associates ; 3rd edition 690 p.

Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 21 (2): 149 - 160 (2020)
Research article

Effect of Pre-treatments of Gibberellic Acid and Freezing on some Seed Germination Traits of Two Wild Almond Species under *in vitro* and *in vivo* Conditions

M. Asadi and A. Shekafandeh*[1]

Three experiments were carried out under *in vivo* and *in vitro* conditions to evaluate the effects of gibberellic acid (GA_3) and freezing on germination and growth of *Prunus scoparia* (Badam Kohi) and *Prunus elaeagnifolia* (Arjan) species. In the first experiment, treatments were 4 concentrations of GA_3 (0, 50, 100 and 150 mg/L) and two soaking duration time (12 and 24 h). In the second and third experiments, the effects of different temperatures (18 and -16 °C) on the germination and growth of different species in soil and on tissue culture MS (Murashig and Skoog) media were investigated. The results showed that both seed germination percentage and germination rate increased significantly using GA_3 and freezing treatments. The highest shoot length (4.48 cm) and root length (20.5 cm) were obtained in *P. scoparia* in 150 mg L^{-1} GA_3 and duration time of 24 and 12 h, respectively. In freezing conditions (-16 °C) and in soil medium, although the highest germination percentage (92%) was related to Badam Kohi, but it did not show any significant difference with other treatments in freezing and MS medium. Shoot length of both *P. scoparia* and *P. elaeagnifolia* species increased with freezing pretreatment, but this increase was not significant under *in vitro* condition. The results of this study make it possible to use freezing treatment in soil conditions to produce seedling rootstocks of *P. scoparia* and *P. elaeagnifolia* in the nursery with shorter duration time and lower cost than other methods.

Keyword: *Prunus elaeagnifolia*, *Prunus scoparia*, Gibberellic acid, freezing, germinaition.

1. Former M. Sc. Student and Associate Proffessor, Department of Horticultural Science, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran, respectively.
* Corresponding author, Email: (shekafan@shirazu.ac.ir).