

# تأثیر پیش تیمارهای جیبرلیک اسید و انجماد بر برخی ویژگی‌های تنزگی بذر دو گونه بادام وحشی در شرایط درون و برون شیشه‌ای<sup>۱</sup>

**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<sup>۲\*</sup>

## چکیده

به منظور ارزیابی اثر پیش تیمار جیبرلیک اسید (GA<sub>3</sub>) و انجماد بر تنزگی بذر و رشد گونه‌های بادام کوهی و ارزن، سه آزمایش در شرایط درون و برون شیشه‌ای<sup>۳</sup> انجام شد. در آزمایش اول، اثر سطوحهای مختلف GA<sub>3</sub> (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم در لیتر) و زمان‌های ۱۲ و ۲۴ ساعت خیستگی بذر گونه‌های بادام کوهی و ارزن مورد بررسی قرار گرفت. در آزمایش دوم و سوم به ترتیب 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 به طور معنی‌داری با کاربرد GA<sub>3</sub> و دمای انجماد نسبت به شاهد افزایش یافت. بیشترین طول شاخساره و طول ریشه در گونه بادام کوهی در تیمار ۱۵۰ میلی گرم در لیتر GA<sub>3</sub> و بازه زمانی به ترتیب ۲۴ و ۱۲ ساعت خیستگی در GA<sub>3</sub> به دست 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 می‌توان از تیمار انجماد در شرایط خاکی برای تولید پایه‌های بذری بادام کوهی و ارزن در خزانه با مدت زمان کوتاه‌تر و هزینه کمتر نسبت به روش‌های دیگر استفاده نمود.

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

## مقدمه

بادام با نام علمی *Prunus dulcis* (Mill.) D. A. Webb از تیره وردسانان<sup>۴</sup> یکی از قدیمی‌ترین درختانی است که در مناطق معتدل‌های 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 به عنوان 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 گسترهای رشد می‌کنند (۳۰). از معروف‌ترین این گونه‌ها می‌توان به گونه‌های بادام کوهی (*Prunus elaeagnifolia*) و ارزن (*Prunus scoparia*) 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 به عنوان ناقوی موقت یک بذر زنده و سالم به منظور تکمیل تنزگی در شرایط مطلوب

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

۲- به ترتیب دانشجوی پیشین کارشناسی ارشد و دانشیار بخش علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

\* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: [shekafan@shirazu.ac.ir](mailto:shekafan@shirazu.ac.ir).

تعريف شود (۱۴). از آنجایی که بازسازی طبیعی و حفظ بادام وحشی تنها به وسیله بذر انجام می‌شود خفتگی بذر به عنوان یک سازوکار سازگار در جنس *Prunus* از جمله بادام برای جلوگیری از آسیب‌های سرمایزدگی محسوب می‌شود (۱۹). اما بر طرف نمودن خفتگی بذرها بهویژه در نزادگان‌های وحشی برای استفاده به عنوان پایه و بهره‌مندی از آن‌ها با دشواری‌هایی روبرو است. یکی از مهم‌ترین دشواری‌ها، طولانی بودن دوره تنشگی بذرهای جنس *Prunus* به دلیل وجود خفتگی مرکب فیزیکی و فیزیولوژیک است. حذف پوسته باعث رفع خفتگی فیزیکی و افزایش درصد تنشگی در بذر بسیاری از گونه‌های *Prunus* می‌شود (۲۱، ۱۸). عمل تنشگی 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 تنشگی اند (۱۵). در این راستا، استفاده از سرماده‌ی مرطوب به مدت ۴۵ روز سبب بهینه شدن درصد تنشگی بذر گونه‌های مختلف جنس *Prunus* شده است (۷). تیمار تنظیم کننده‌های رشد مانند GA<sub>3</sub> برای سرعت بخشیدن به تنشگی بذرها به همراه دیگر روش‌ها مثل خراش دهی مورد استفاده قرار گرفته است (۲۳). گزارش‌هایی در ارتباط با اثر انجماد در افزایش تنشگی بذرهای مختلف موجود است، اما به دانسته ما تا امروز گزارشی برای جنس *Prunus* ارایه نشده است. از آنجایی که در شرایط برون شیشه‌ای تنشیدن بذر نزادگان‌های ارزش و بادام کوهی بدون پوسته حتی در گلخانه زیر تأثیر عوامل متغیر محیطی قرار می‌گیرد و اختلال در تنشگی بذرها و رشد بعدی آن‌ها می‌توان از پتانسیل کشت بافت گیاهی برای تنشگی بذرها در مدت زمان کوتاه استفاده کرد. بنابراین در این پژوهش اثر پیش تیمارهای GA<sub>3</sub> و انجماد بر تنشگی 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 ارزش نامیده شدند. بذر بادام کوهی از ارتفاعات ناحیه دروازه قران در شیراز و بذر ارزش از منطقه خانه زنیان در بخش دشت ارزش جمع‌آوری شد. برای بررسی تنشگی بذرها و رشد بعدی آن‌ها سه آزمایش به صورت زیر انجام شد.

### آزمایش اول: اثر سطوح‌های مختلف GA<sub>3</sub> بر تنشگی بذر دو گونه بادام کوهی و ارزش

بذرهای بادام کوهی و ارزش بدون پوسته سخت زیر تیمار GA<sub>3</sub> در ۴ سطح (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) و دو بازه زمانی ۱۲ و ۲۴ ساعت خیسنده‌گی قرار گرفتند. سپس در شرایط سترون به این ترتیب گندزدایی شدند: به مدت ۱ دقیقه در الكل ۷۰٪ و سپس در محلول تجاری کلاراکس ۲۰٪ (دارای هیپوکلرید سدیم٪/۵) به مدت ۱۰ دقیقه به صورت غوطه‌وری قرار گرفته و پس از آن سه مرحله شستشو با آب مقطر سترون انجام شد. بذرهای گندزدایی شده روی محیط کشت موراشیگی و اسکوگ ۱٪ (MS/2) نیم غلظت (۲۵) کشت شدند.

### آزمایش دوم: اثر تیمار انجماد بر تنشگی بذر بادام کوهی و ارزش

بذرهای ارزش 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  $2^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  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  $2^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  و رطوبت نسبی ۷۰٪ قرار گرفتند.

### ویژگی‌های مورد بررسی

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

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

$$\text{GP} = \frac{\sum_{\text{شمارندهای جوانه‌زده تارو}}{(\text{شمارندهای جوانه‌زده تارو})} \times 100$$

$$\text{GR} = \frac{\sum_{n} (\text{نی}}{n} - 1)}{n} \times 100$$

n : تعداد روز

زمان لازم برای انجام ۵۰ درصد تنزگی (T50) بر اساس رابطه زیر محاسبه شد

$$T50 = t_i + (N/2 - n_i) / (t_j - t_i) / n_j - n_i$$

N : شمار کل بذر تنزیده، n<sub>i</sub> و n<sub>j</sub> شمار بذر تنزیده به صورت تجمعی در وضعیت n<sub>j</sub> < N/2 < n<sub>i</sub>، t<sub>j</sub>-t<sub>i</sub> زمان (روز) به ترتیب برای شمارش‌های n<sub>i</sub> و n<sub>j</sub>.

### واکاوی داده‌ها

آزمایش‌ها به صورت فاکتوریل در قالب طرح به طور کامل تصادفی (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<sub>3</sub> بر درصد و سرعت تنزگی

نتیجه‌های مقایسه میانگین‌ها (جدول ۱) نشان داد که به طور کلی بدون در نظر گرفتن تیمار GA<sub>3</sub> و مدت زمان تیمار، درصد تنزگی بدام کوهی به طور معنی‌داری بیشتر از ارزن بود. بالاترین درصد تنزگی (۱۰۰) در هر دو گونه در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر GA<sub>3</sub> در بازه زمانی ۲۴ ساعت به دست آمد. همچنین شمار روزهایی که ۵۰٪ تنزگی (T50) اتفاق می‌افتد با افزایش جیبرلیک اسید کاهش یافت. در بadam کوهی در هر دو بازه زمانی ۱۲ و ۲۴ ساعت با افزایش غلظت GA<sub>3</sub> به ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سرعت تنزگی به طور معنی‌داری افزایش یافت. سرعت تنزگی بذرها دو گونه مورد بررسی در سطحهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم تفاوت معنی‌داری را با یکدیگر نشان ندادند اما در سطح ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک اسید، بالاترین میزان سرعت تنزگی در بadam کوهی مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری را با دیگر سطحهای این تنظیم‌کننده رشد گیاهی داشت و در گونه ارزن اگرچه افزایش غلظت جیبرلیک اسید سبب افزایش سرعت تنزگی بذر شد اما تفاوت‌ها معنی‌دار نبود. به نظر می‌رسد یکی از دلایل تفاوت در میزان تنزگی بذرها در گونه‌های مختلف بadam 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 جیبرلیک اسید برای غلبه بر خفتگی فیزیولوژیک در بسیاری از جنس‌های گیاهی از جمله جنس Prunus به اثبات رسیده است (۴). بیان شده است که مشکل تنزگی بذرها به دلیل وجود بازدارنده‌های تنزگی در رویان است. تیمار بذرها با جیبرلیک اسید باعث افزایش نسبت جیبرلیک اسید به آبسیزیک اسید درون بذر و در نتیجه باعث افزایش درصد تنزگی بذرها می‌گردد (۱۸). جیبرلین‌ها در کنترل و تسريع تنزگی بذر به طور مستقیم دخالت دارند و رشد یاخته را با افزایش ضربی کشسانی دیواره پتانسیل آب یاخته و در نتیجه تسهیل ورود آب به درون یاخته می‌شود. به دنبال این فرآیند طولی شدن یاخته رخ می‌دهد. جیبرلین اثر تسريع کننده در کاهش دوره چینه سرمایی و شکستن خفتگی و تنزگی بذرها داشته است که نشان دهنده ماهیت

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

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

Table 1. Effects of species, duration and GA<sub>3</sub> on percentage of germination, germination rate and shoot and root length in *in vitro* condition.

گونه Species	زمان Time (h)	جیبرلیک اسید GA <sub>3</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	% T50 (Day)	درصد تنزگی Germination (%)	سرعت تنزگی Germination rate	طول شاخصاره Shoot length (cm)	طول ریشه Root length (cm)
<b>بادام کوهی</b>							
<i>Prunus scoparia</i>	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
	24	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
		ارزن					
		<i>Prunus elaeagnifolia</i>	12	0	10.3 cde	45 c	0.02 g
		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
		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
<b>اثرهای اصلی</b>							
Main effects	گونه Species	بادام کوهی <i>Prunus scoparia</i>	9.7 B	82.5 A	0.11 A	2.97 A	13.5 A
		ارزن <i>Prunus elaeagnifolia</i>	11.1 A	68.7 B	0.03 B	2.28 B	15.5 A
GA <sub>3</sub>	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 برهمنکنش‌ها و حرفهای بزرگ برای اثرهای اصلی) در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

### طول شاخصاره 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 شاخصاره افزوده شد (جدول ۱). بیشترین طول شاخصاره در گونه بادام کوهی ( $4/48$  سانتی‌متر) در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر جیبرلیک اسید و بازه زمانی ۲۴ ساعت بدست 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 بدست 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 اثار همسو می‌باشد. بیان شده است که  $GA_3$  فعالیت آنزیم ریبولوز بی‌فسفات کربوکسیلاز-اکسیژناز (ربوبیکتو) که آنزیم اصلی فتوسنتری 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 جیبرلیک اسید 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 بی دارد (۱).

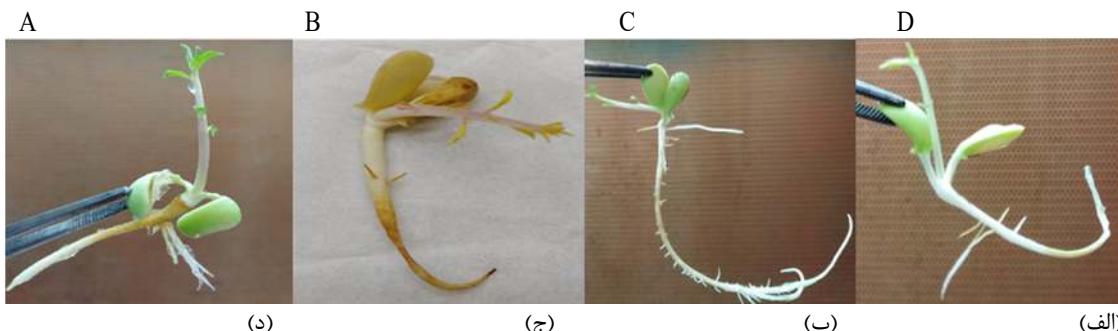


Fig. 1. Effect of  $GA_3$  ( $150 \text{ mg L}^{-1}$ ) on *in vitro* seed germination and growth of Badam Kohi and Arjan. A-B) control and  $GA_3$  treatment in Arjan; C-D) control and  $GA_3$  treatment in Badam kohi.

شکل ۱- اثر  $GA_3$  (۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) بر تنیزگی 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 شاخصاره و ریشه

به طور کلی اختلاف معنی‌داری در وزن تر شاخصاره 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 شاخصاره به طور معنی‌داری افزایش یافت. برهمکنش  $GA_3$  و زمان و گونه گیاهی بر وزن تر شاخصاره نشان داد که کمترین میزان وزن تر شاخصاره مربوط به شاهد و بیشترین وزن تر شاخصاره 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 فتوسنتری کننده گیاه و افزایش میزان ماده‌های غذایی ساخته شده و در نتیجه افزایش وزن تر می‌شود (۹). در گزارشی Rout و همکاران (۲۸) نشان دادند جیبرلین با افزایش رشد دانه‌های باعث افزایش وزن تر می‌شود. جیبرلین در غلظت مناسب پیش از تنیزگی بذر، افزون

بر این که فرآیند تنزگی 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 ارزن ۱۵۳ میلی‌گرم و در بادام کوهی ۱۸۵ میلی‌گرم) در اثر کاربرد ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر در زمان ۲۴ ساعت مشاهده شد که تفاوت معنی داری را نسبت به شاهد خود نشان دادند (جدول ۲). برهمکنش گونه، زمان و تیمار<sub>۳</sub> نشان داد که بیشترین وزن خشک ریشه (۲۱۴ میلی‌گرم) در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد که نسبت به تیمارهای دیگر تفاوت معنی داری را نشان داد. در هر دو گونه و در هر دو بازه زمانی ۱۲ و ۲۴ ساعت، میزان ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر<sub>۳</sub> به طور معنی داری سبب افزایش وزن خشک ریشه نسبت به شاهد خود شد. تأثیر GA<sub>3</sub> 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<sup>۱</sup> و کلخونگ<sup>۲</sup> نشان داد که GA<sub>3</sub> 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<sub>3</sub> 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<sub>3</sub> به احتمال، افزایش در رشد و تقسیم یاخته‌ای از راه تأثیر بر ساخت و فعالیت هورمون اکسین و سایتوکاینین باشد. در تیمارهایی که تنزگی سریع‌تر انجام می‌شود، بخشی از آن به معنای شروع رشد و افزایش ویژگی‌ها در مقایسه با گیاهچه‌هایی است که تنزگی را دیرتر آغاز کرده‌اند.

### اثر انجماد بر تنزگی و رشد دانهال‌ها در شرایط برون شیشه‌ای

نتیجه‌ها نشان داد که تیمار انجماد (-۱۶ °C) در هر دو گونه به طور معنی داری سبب افزایش درصد و سرعت تنزگی و کاهش T50 شد. بیشترین درصد (۹۶) و سرعت تنزگی (۱/۴) بذر در روز) در گونه بادام وحشی اتفاق افتاد (جدول ۳). تیمار انجماد نیز به طور معنی داری سبب افزایش طول شاخساره و طول ریشه در هر دو گونه گیاهی نسبت به شاهد شد.

### اثر انجماد بر تنزگی و رشد دانهال‌ها در شرایط برون و درون شیشه‌ای

#### اثر انجماد بر میزان و سرعت تنزگی

نتیجه‌های پیش تیمار انجماد بر درصد تنزگی بذر نشان داد که تیمار انجماد در دو شرایط درون و برون شیشه‌ای سبب افزایش معنی دار درصد تنزگی نسبت به شاهد شد (جدول ۴). اگرچه بالاترین درصد تنزگی (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 معنی داری را در سرعت تنزگی نسبت به شاهد در هر دو گونه بادام کوهی و ارزن و در شرایط خاک ایجاد کرد، اما در شرایط درون شیشه‌ای این تفاوت معنی دار 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 تنزگی و شکستن خفتگی بذر ایفا می‌کند (۲۰). دمای پائین (۴ درجه سلسیوس) باعث بیان زن مسئول ساخت جیبرلین می‌شود که به منظور تسريع فرآیند تنزگی 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 فعل سازی هیدرولیتیکی برای تجزیه پروتئین‌ها و نشاسته ذخیره شده در بذر برای تغذیه رویان می‌شود و بدین روش بر تنزگی اثر مثبت می‌گذارد (۳۱). برخی بذرها باید با سرمای یخ‌بندان مواجه شوند تا پوسته آن‌ها شکاف بردارد و تنزگی در آن‌ها آغاز گردد (۱۵). سرماده‌ی کوتاه مدت در دماهای زیر صفر به عنوان 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 به طور چشمگیری سبب تنزگی و هم‌چنین رشد بذرهای چندساله شود (۱۷). سرماده‌ی در برطرف کردن خفتگی فیزیولوژیک رویان مؤثر است و منجر به کاهش ABA و افزایش هورمون‌های محرك رشد مانند هورمون جیبرلین می‌شود (۸). عامل سرما،

افزون بر تحریک ساخت جیبرلین درون‌زا، محرک‌های دیگری را فعال می‌کند که سبب افزایش سرعت تنفسی می‌شود و با کاهش تراز هورمون‌های بازدارنده و افزایش تراز هورمون‌های محرک سبب افزایش پتانسیل تنفسی 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 شاخصاره و ریشه در شرایط درون شیشه‌ای.

Table 2. Effect of species, time and GA<sub>3</sub> on shoot and root fresh weight (FW) and dry weight (DW) in *in vitro* condition.

گونه Species	زمان Time (h)	جیبرلیک اسید GA <sub>3</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	وزن تر شاخصاره Shoot FW (mg)	وزن تر ریشه Root FW (mg)	وزن کل Total FW (mg)	وزن خشک شاخصاره Shoot DW (mg)	وزن خشک ریشه Root DW(mg)	وزن خشک کل Total DW (mg)
<b>بادام کوهی</b>								
<i>Prunus scoparia</i>	12	0	†608 d	470 ede	1080 efg	136 ab	36 f-h	172 bc
24	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	
	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	
ارزén	150	1322 a	1206 b	2528 b	185 a	98 b	254 ab	
	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
اثرهای اصلی	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	
	>Main effects	گونه Species	بادام کوهی <i>Prunus scoparia</i>	950 A	930 A	1880 A	150 A	80 A
		ارزén <i>Prunus elaeagnifolia</i>	690 B	410 B	1110 B	120 B	40 B	180 B
		GA <sub>3</sub>	0	490 C	270 C	760 C	110 B	20 D
زمان		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
	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 برهمنکنش و حرف‌های بزرگ برای اثرهای اصلی) در سطح احتمال ۰.۵٪ آزمون LSD دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

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

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

گونه Species	دما Temperature Celsius (°C)	زمان ۵۰ در صد تنزگی (روز) T50 (day)	درصد تنزگی Germination %	سرعت تنزگی (بذر در روز) Germination rate	طول شاخصاره Shoot length (cm)	طول ریشه Root length (cm)
بادام کوهی <i>Prunus scoparia</i>	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
ارزن <i>Prunus elaeagnifolia</i>	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 <i>Prunus scoparia</i>	5.2 B	68 A	0.8 A	12.2 A	8.6 A
	ارزن <i>Prunus elaeagnifolia</i>	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 (حروف‌های کوچک برای برهمنکش و حروف‌های بزرگ برای اثرهای اصلی) در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

### طول شاخصاره و ریشه

طول شاخصاره هر دو گونه بادام کوهی و ارزن در پیش تیمار انجماد افزایش یافت، اما میزان این افزایش در شرایط برون شیشه‌ای معنی‌دار نبود (جدول ۴). تیمار انجماد و محیط خاک سبب افزایش معنی‌دار طول شاخصاره نسبت به شاهد شد. به طور کلی رشد شاخصاره در محیط خاک بیشتر از محیط برون شیشه‌ای بود. شرایط انجماد و محیط MS سبب افزایش طول ریشه در گونه ارزن (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 فروکوتوز افزایش می‌یابد که سرماده‌ی بذر باعث افزایش غلظت فروکوتوز و گلوکز 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 تنزگی و رفع موائع فیزیولوژیکی می‌شود، کاری که جیرلین به تنها بی 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 جیرلین خواهد شد که خود پس از انتقال به لایه آلورون با فعال‌سازی آنزیم‌های تجزیه‌کننده ذخیره‌گذاری 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، انجماند و محیط کشت بر درصد و سرعت تنفسی، 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 سد تنفسی T50 (day)	درصد تنفسی Germinati on %	سرعت تنفسی Germination rate	طول شاخصاره Shoot length (cm)	طول ریشه Root length (cm)
بادام کوهی <i>Prunus scoparia</i>	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
		18	9.3 bcd	20 b	0.12 bc	10.4 b	2.4 de
	Soil	-16	4.7 e	92 a	0.32 a	13.8 a	10.5 ab
		18					
		-16					
ارزن <i>Prunus elaeagnifolia</i>	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
		18					
	Soil	-16	12.5 ab	16 b	0.05 c	6.1 c	1.2 e
		18					
		-16	9.2 cd	80 a	0.17 b	13.1 a	8 bc
اثرهای اصلی Main effect	گونه species						
بادام کوهی <i>Prunus scoparia</i>	MS		8.7 B	65.7 A	0.11 A	5.7 A	7.6 A
ارزن <i>Prunus elaeagnifolia</i>	Soil		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
	Soil		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 حروفهای مشترک (حروفهای کوچک برای برهمنکش و حروفهای بزرگ برای اثرهای اصلی) در سطح احتمال ۵٪ آزمون

LSD دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

### وزن تر و خشک شاخصاره و ریشه

در هر دو گونه گیاهی تیمار انجماند ( $16^{\circ}\text{C}$ )- به طور معنادار سبب افزایش وزن تر شاخصاره نسبت به شاهد خود شد (جدول ۵). بیشترین وزن تر شاخصاره مربوط به بادام کوهی (۱۲۲۷ میلی‌گرم) در شرایط انجماند بود. به همان روند وزن تر ریشه، تیمار انجماند سبب افزایش وزن خشک ریشه شد اما این افزایش معنادار نبود. به طور کلی وزن خشک ریشه ارزش  $80$  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. به طور کلی گونه ارزن 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 بنفسه (*Viola odorata*) در تیمار دمایی ۱۴-۱۸ °C در شرایط درون شیشه‌ای 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 وزن تر و خشک شاخصاره 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 شاخصاره Shoot fresh weight (mg)	وزن تر ریشه Root fresh weight (mg)	وزن خشک شاخصاره Shoot dry weight (mg)	وزن خشک ریشه Root dry weight (mg)	طول ریشه Root length (cm)
بادام کوهی						
<i>Prunus scoparia</i>	18	†837 b	212 b	80 b	22 b	5.6 c
	-16	1227 a	275 b	176 a	65 ab	12 a
ارزن						
<i>Prunus elaeagnifolia</i>	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					
	<i>Prunus scoparia</i>	1030 A	240 B	120 A	40 B	4.9 CD
	ارزن					
	<i>Prunus elaeagnifolia</i>	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 برهمنکش و حرف‌های بزرگ برای اثرهای اصلی) در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

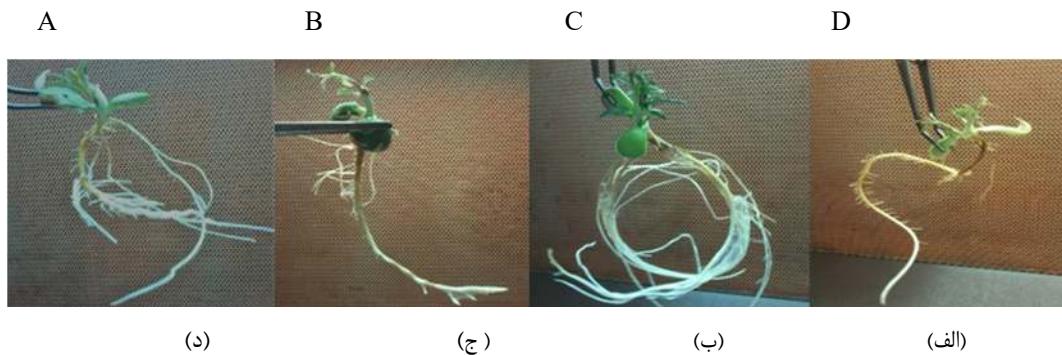


Fig. 2. The effect of freezing on Badam Kohi and Arjan seed germination under *in vitro* conditions. A and B, freezing and control treatments in Arjan respectively. C and D, freezing and control treatments in Badam Kohi, respectively.

شکل ۲- اثر انجماد بر تنزگی بذر بادام کوهی و ارزن 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 ارزن.

## نتیجه‌گیری

در این پژوهش، کاربرد پیش تیمار بذر با  $GA_3$  بهویژه در سطح  $150$  میلی‌گرم در لیتر و پیش تیمار انجماد سبب کاهش در  $T_{50}$  و افزایش درصد و سرعت تنزگی و همچنین طول شاخصاره و ریشه در هر دو گونه بادام کوهی و ارزن نسبت به شاهد شد. تیمار انجماد بذرهای هر دو گونه و کشت در خاک (با درون بر) نسبت به کشت در شرایط درون شیشه‌ای (بدون درون بر) 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 به عنوان راهی مناسب با میزان کمتری هزینه و زمان برای تولید پایه‌های بذری بادام کوهی و ارزن در خزانه برای پیوند زدن استفاده نمود.

## References

## منابع

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 برشی تیمارها بر شکست خواب و جوانه‌زنی بذرهای *Ferula gummosa* و *Ferula assafoetida*.
۳. آهنی، ح.، ح. جلیلوند و ج. واعظی. ۱۳۹۴. تأثیر تیمارهای مختلف بر جوانه‌زنی بذر گونه سنجد تلخ (*Hippophae rhamnoides*) در آزمایشگاه. مجله جنگل ایران، انجمن جنگل‌بانی ایران، ۴۵-۵۶: 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. ۱: ۲۷-۳۳.
۵. ترکاشوند، ع.، ب. زاهدی و ع. احتشام نیا. ۱۳۹۴. تأثیر اسید جیبرلیک بر زمان و قدرت تنزگی بذر گردی ایرانی (*Juglans regia* L) همایش بین‌المللی پژوهش‌های کاربردی در کشاورزی، خرداد ماه ۱۳۹۴.
۶. رسولی، م.، ر. توکلی بنیزی و ع. ایمانی. (۱۳۹۴). تأثیر برشی تیمارهای شیمیایی و هورمونی بر شکستن خفتگی بذر گونه‌های بادام و هلو (*Prunus spp*). علوم باغبانی ایران.
۷. فتحی، ن.، حیدری، م. و ک. بهنام فر. ۱۳۹۶. اثر سرماده‌ی بر جوانه‌زنی بذر و رشد اولیه دانهال برشی ژنتیک‌های بادام کوهی (Prunus scoparia Spach) بومی استان خوزستان (ایران). نشریه علوم و فناوری بذر ایران. ۲۶: ۱۹۹-۲۱۱.
۸. مجتهدی، م. و ح. لسانی. 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 اسیدجیرلیک بر رشد نهال‌های بلوط (*Quercus brantii* var. *persica*). فصلنامه تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران ۳: ۲۵۴-۲۵۳.
۱۰. نظامی، ا.، م. کیخا آخر، ج. موسوی، ا. ایزدی، س. نظامی، و. م. یوسف ثانی. ۱۳۹۰. اثر تنش یخزدگی بر گیاه بنفسه زیر شرایط آزمایشگاهی. نشریه بوم‌شناسی کشاورزی ۴۳۸: ۴۳۰-۴۳۸.
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. Martínez-Gómez 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<sub>3</sub>) 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.

## **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<sup>\*1</sup>**

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<sup>-1</sup>  $GA_3$  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, germination.

1. Former M. Sc. Student and Associate Professor, Department of Horticultural Science, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran, respectively.

\* Corresponding author, Email: (shekafan@shirazu.ac.ir).