اثر دمای نگه‌داری و تیمار هورمونی بر صفات جوانه‌زنی و رشد اولیه بذر کاج سیاه (*Pinus nigra* var. *caramanica*)

زینب جوانمرد [۱]، مسعود طبری کوچکسرایی [۲،*]، فاطمه احمدلو [۳]

[۱] دانشجوی دکتری جنگل‌شناسی دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
[۲] استاد گروه جنگلداری دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
[۳] دکتری جنگلداری دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
[*]پست الکترونیک نویسنده مسئول: mtabari@modares.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۷/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۰/۱۳

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر دمای نگهداری، نوع و غلظت هورمونی بر پارامترهای جوانه‌زنی و رشد اولیه بذرهای ذخیره شده کاج سیاه (*Pinus nigra* var. *caramanica*)، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل سه عاملی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. بذرها به مدت سه سال در دو شرایط دمایی (یخچال با دمای ۴ °C و اتاق با دمای °C ۲۵-۲۰) نگهداری و در محلول‌های هورمونی اسید جیبرلیک (GA_3) و بنزیل آمینوپورین (BAP) با غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۲۴ ساعت آغشته شدند و سپس به مدت ۴۰ روز در ژرمیناتور (دمای °C ۲۰) نگهداری شدند. به‌طور کلی، هر دو محلول هورمونی موجب بهبود مشخصه‌های جوانه‌زنی در مقایسه با شاهد شدند. بزرگ‌ترین اندازه درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، قدرت جوانه‌زنی، طول گیاهچه، وزن خشک گیاهچه و شاخص بنیه در بذرهای نگهداری شده در یخچال به غلظت‌های ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر GA_3 و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر BAP، و در بذرهای نگهداری شده در اتاق به غلظت‌های ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر GA3 اختصاص داشت. از نتایج این تحقیق استنتاج گردید که در صورت محدودیت وجود سردخانه در نهالستان‌های مناطق نیم‌خشک و نیم‌مرطوب، می‌توان اقدام به نگهداری بذر این زیر گونه حداقل به مدت سه سال در محیط اتاق نمود.

واژه‌های کلیدی: اسید جیبرلیک، بنزیل آمینوپورین، بنیه بذر، ذخیره‌سازی، کاج سیاه

مقدمه

ذخیره‌سازی بذر با اهداف مختلف، طی سه دوره زمانی ۱) دوره‌های خیلی کوتاه بین ذخیره و کاشت، ۲) دوره چندساله (۱۰ سال یا کمتر به جهت اطمینان از تأمین بذر در فاصله بین سال‌های بذردهی و ۳) دوره ۱۰ و تا بیشتر از ۵۰ سال به جهت حفظ ژرم پلاسم، انجام می‌گیرد. طی ذخیره‌سازی، بذر دچار زوال می‌شود، اما شدت آن بسته به دمای ذخیره‌سازی، میزان رطوبت و نوع گونه متفاوت است (Tang *et al*., 1999). به‌طور کلی، بذرِ اغلب کاج‌ها ارتدوکس هستند و می‌توانند تا سطح رطوبتی ۷-۶ درصد خشک شده و نگهداری شوند. در این سطحِ رطوبت و دمای °C ۵-۳ بیشترِ بذرهای ارتدوکس طی ۱۵-۵ سال ذخیره‌سازی دچار زوال می‌شوند (Gosling, 2007). بذرهای ارتدوکس همچنین می‌توانند تا محتوای رطوبتی ۱۰ درصد یا کمتر، خشک و با موفقیت در دماهای زیر صفر نگهداری شوند (Bonner, 2008).

در خصوص تأثیر شرایط نگهداری بر جوانه‌زنی بذر گونه‌های جنس کاج، تحقیق زیادی انجام شده است. Pousujja و همکاران (۱۹۸۶) گزارش کردند بذر

Pinus merkusii Jungh. با رطوبت نسبی ۸-۶ درصد در شرایط خشک سرد (دمای ۴°C-۳) حداقل ۵ سال و با رطوبت ۸-۶ درصد در ظرف نفوذناپذیر یا کیسه‌ی پلاستیک، در دمای اتاق (۳۰°C-۲۰) بدون کاهش در زنده‌مانی برای حداقل یک سال نگهداری شود. در آزمایشی روی *Pinus nigra* subsp. *pallasiana* توسط Temel و همکاران (۲۰۱۱) معلوم شد بذر با محتوای رطوبتی ۸-۶ درصد پس از ۱۰ سال نگهداری در دمای ۱°C±۴، درصد جوانه‌زنی از ۹۶ به ۵۸/۴ درصد و قدرت جوانه‌زنی آن از ۷۹/۹ به ۳۰/۷ درصد کاهش یافت. در تحقیقی روی *Pinus ponderosa* توسط Pasquini و Defossé (۲۰۱۲) با نگهداری بذر (با محتوای رطوبتی ۷ درصد) به مدت ۴ سال در دمای اتاق، میزان زنده‌مانی تا ۶۹ درصد حفظ شد. Malik و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی روی *Pinus gerardiana* Wall. مشاهده کردند بیشینه جوانه‌زنی (۵۸/۳ درصد) و رشد گیاهچه در ذخیره‌ی سرد (۹ ماه در دمای °C ۱±۰) و کمینه آن (۸ درصد) در ذخیره محیط گرم (۱۲ ماه در دمای ۲۲°C-۱۹) به دست آمد. یافته‌های Tomaskova و همکاران (۲۰۱۴) روی *Pinus sylvestris* L. نشان داد که با ذخیره بذر در یخچال (دمای °C ۶-۴) به مدت ۱۰ سال، درصد جوانه‌زنی از ۷۹ به ۳۵ درصد و قدرت جوانه‌زنی از ۵۸ به ۱۸ درصد کاهش یافت. با مطالعه اثر ذخیره بذر *Pinus kesiya* Royle Ex. Gordon در کیسه‌های پلی‌اتیلنی در دمای ۱°C±۴ به مدت صفر، ۴ و ۱۰ ماه و در سطوح رطوبتی ۳، ۷، ۱۴ و ۲۰ درصد مشاهده شد درصد و قدرت جوانه‌زنی با کاهش رطوبت تا ۷ درصد، افزایش یافتند و با افزایش طول دوره ذخیره‌سازی روند کاهشی نشان دادند (Missanjo & Kapira, 2015).

با استناد به گزارش‌های بالا اگرچه طی ذخیره‌سازی، میزان جوانه‌زنی کاهش می‌یابد اما با اعمال تیمارهای مناسب می‌توان آن را بهبود بخشید. کاربرد مواد شیمیایی از جمله هورمون‌های گیاهی و یا تنظیم‌کننده‌های رشد مانند اسید جیبرلیک (GA_3) و بنزیل‌آمینوپورین (BAP) که به‌ترتیب جزو جیبرلین و سیتوکینین‌ها می‌باشند، از راهکارهای مؤثر در افزایش جوانه‌زنی محسوب می‌شوند. در بررسی روی *Pinus kesiya*، Verma و Tandon (۱۹۹۸) دریافتند که GA_3 در غلظت ۱۵۰ و BAP در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر (به مدت ۲۴ ساعت) درصد جوانه‌زنی را نسبت به شاهد به‌ترتیب ۱۸ و ۲۲ درصد افزایش دادند. Kumar و همکاران (۲۰۱۴) با بررسی غلظت‌های ۰، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر GA_3 در مدت ۸، ۱۶ و ۲۴ ساعت روی بذر *Pinus gerardiana* Wall. بیشترین درصد جوانه‌زنی (۷۷/۳۳ درصد) را در غلظت ۷۵ میلی‌گرم در لیتر و مدت آغشتگی ۲۴ ساعت مشاهده کردند.

کاج سیاه (*Pinus nigra* var. *caramanica*) متعلق به خانواده *Pinaceae*، از مهم‌ترین گونه‌های کوهستانی است که در جنوب اروپا از غرب تا شرق مدیترانه، شمال آفریقا و بخش کوچکی از آسیا پراکنش دارد و به‌عنوان گونه پرستار در پروژه‌های احیای جنگل در رویشگاه‌های با خاک کم‌عمق و ضعیف استفاده می‌شود. به دلیل کم نیاز بودن و سازگاری به شرایط نامساعد محیطی (Leege & Murphy, 2000) در اقلیم‌های نیمه‌خشک و نیمه‌مرطوب کشور، از جمله استان‌های حوزه رویشی زاگرس، به‌عنوان توسعه فضای سبز مناطق شهری و برون‌شهری و احیای جنگل‌های مخروبه و نیز برنامه‌های تولید نهال مورد استفاده قرار می‌گیرد. با توجه به لزوم نگهداری بذر آن و نیز نقش هورمون‌های گیاهی در بهبود جوانه‌زنی، پژوهش حاضر صفات جوانه‌زنی و بنیه بذرآن را که قبلاً در دو محیط دمایی متفاوت (یخچال و اتاق) ذخیره‌سازی شده بودند، تحت تأثیر غلظت‌های مختلف هورمون‌های GA_3 و BAP مورد بررسی قرار داده است.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در آزمایشگاه اکوفیزیولوژی بذر پژوهشکده گل و گیاهان زینتی محلات انجام شد. بذرهای تهیه شده از مرکز بذر جنگلی خزر (آمل) پس از سه سال ذخیره در یخچال و اتاق (به‌ترتیب با

محتوای رطوبتی ۹/۹ و ۹/۵ درصد) مورد آزمایش قرار گرفتند.

برای انجام آزمایش، ابتدا ۳۰۰ عدد بذر که در دمای اتاق (دمای $^{\circ}C$ ۲۵-۲۰) و ۳۰۰ عدد بذر که در یخچال (دمای $^{\circ}C$۴) به مدت سه سال در کیسه‌های نخی مناسب نگهداری شده بودند، تهیه شد. بذرها با قارچ‌کش کربوکسین تیرام (دو گرم در هزار میلی‌لیتر) به مدت پنج دقیقه ضدعفونی و سه مرتبه با آب مقطر شستشو شدند. بذرهای هر یک از شرایط نگهداری، در هر یک از محلول‌های هورمونی GA3 و BAP با غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۲۴ ساعت خیسانده و سپس سه مرتبه با آب مقطر شستشو شدند.

آنگاه برای انجام آزمایش جوانه‌زنی استاندارد، بذرهای خیسانده شده در هر یک از غلظت‌های ذکر شده، در سه تکرار ۲۵ عددی، در داخل پتری دیش‌هایی با قطر نه سانتی‌متر و دو لایه کاغذ صافی واتمن قرار داده شد و به هر پتری‌دیش پنج میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد (نصیری، ۱۳۹۳). پتری دیش‌های حاوی بذر به مدت ۴۰ روز به دلیل اطمینان از سبز شدن تمامی بذرهای دارای قوه نامیه (احمدلو و همکاران، ۱۳۸۸)، در محیط ژرميناتور با شرایط استاندارد جوانه‌زنی هشت ساعت تاریکی و شانزده ساعت روشنایی، شدت ۳۰۰۰ لوکس نوری، دمای $^{\circ}C$۲۰ و رطوبت نسبی ۶۵ درصد در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. طی مدت آزمایش، به‌منظور جلوگیری از رشد قارچ و پاک نگه‌داشتن پتری‌دیش‌ها، کاغذهای صافی هر سه روز یک‌بار تعویض شدند. سپس یادداشت‌برداری‌ها با توجه به تاریخ اولین جوانه‌زنی تا پایان مدت آزمایش ادامه یافت. ملاک جوانه‌زنی، داشتن طول ریشه‌چه حداقل دو میلی‌متر بود (Tomaskovca *et al*., 2014).

محاسبه متغیرهای مورد بررسی

صفات درصد جوانه‌زنی (GP)[1]، سرعت جوانه‌زنی (GS)[2]، قدرت جوانه‌زنی (GE)[3] و شاخص بنیه (VI)[4] با استفاده از روابط ذکر شده در جدول ۱ اندازه‌گیری شدند. برای اندازه‌گیری طول گیاهچه، از هر پتری‌دیش تعداد هفت گیاهچه به‌طور تصادفی انتخاب و طول و وزن خشک گیاهچه به‌ترتیب با استفاده از خط‌کش و دستگاه آون اندازه‌گیری شد.

آنالیز داده‌ها

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (Ver. 17) صورت گرفت. شرط نرمال بودن داده‌ها با آزمون کولموگروف- اسمیرنوف و همگنی واریانس داده‌ها به‌وسیله آزمون لون تست شد. برای آزمون تجزیه واریانس داده‌ها لز فاکتوریل سه‌عامله و برای مقایسه میانگین‌ها در صورت همگنی واریانس‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در صورت عدم همگنی واریانس‌ها از آزمون دانت‌تی۳[5] استفاده شد.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر دمای ذخیره بذر، نوع هورمون و اثر متقابل دمای ذخیره بذر × غلظت هورمون روی هیچ یک از مشخصه‌های مورد مطالعه معنی‌دار نبود (جدول ۲). اختلاف معنی‌دار آماری در تمامی مشخصه‌های مورد مطالعه در تأثیر غلظت هورمون، اثر متقابل دمای ذخیره بذر × نوع هورمون و تأثیر متقابل سه‌طرفه دمای ذخیره بذر × نوع هورمون × غلظت هورمون وجود داشت (جدول ۲).

بیشترین میانگین درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، قدرت جوانه‌زنی، طول گیاهچه، وزن خشک گیاهچه و شاخص بنیه در بذرهای نگهداری‌شده

[1] Germination Percentage
[2] Germination Speed
[3] Germination Energy
[4] Vigor Index
[5] Dunett' T3

جدول ۱- فرمول محاسباتی شاخص‌های جوانه‌زنی و بنیه بذر *P. nigra*

Table 1. Formula of seed germination and vigor of *P. nigra*

پارامتر Parameters	منبع References	فرمول Equations
Germination percentage	(Barnett & Vozzo, 1985)	GP= n/(N×100)
Germination rate	(Muscolo *et al*., 2007)	GR= ∑(ni/ti)
Germination energy	(Muscolo *et al*., 2007)	GE= Mcgr/(N ×100)
Vigor index	(Abdul-Baki & Anderson, 1970)	SVI= GP × Mean (Sl+Rl)/100

n= تعداد کل بذرهای جوانه‌زده در طی دوره، ni= تعداد بذرهای جوانه‌زده در یک فاصله زمانی مشخص ti، N= تعداد بذرهای کاشته شده، Mcgr= ماکزیمم درصد تجمعی بذرهای جوانه‌زده، ti = تعداد روزهای پس از شروع جوانه‌زنی، Sl= طول ساقه‌چه و Rl= طول ریشه‌چه

n= total number of germinated seeds during the germination test, ni= number of germinated seeds on day ti, N= number of seeds sown, Mcgr= maximum of cumulative percentage germination, ti = the number of days during the germination period (between 0 and 40 days), SL= shoot length and RL= root length

جدول ۲- تجزیه واریانس شاخص‌های جوانه‌زنی و بنیه بذر *P. nigra* تحت محیط ذخیره بذر، نوع و غلظت هورمون‌ها و اثرات متقابل آن‌ها

Table 2. Analysis of variance of seed germination and vigor of *P. nigra* under seed storage temperature, type and concentration of hormones, and their interaction

منبع تغییر Source of variation	درجه آزادی Degree of freedom	جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	قدرت جوانه‌زنی Germination energy	طول گیاهچه Seedling length	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight	شاخص بنیه Vigor index
Seed storage temperature	1	1.369^{ns}	0.676^{ns}	0.235^{ns}	0.77^{ns}	3.426^{ns}	0.226^{ns}
Hormone Type (T)	1	1.829^{ns}	0.007^{ns}	2.723^{ns}	0.445^{ns}	1.203^{ns}	1.743^{ns}
Hormone concentratio	3	35.599^{**}	16.02^{**}	31.053^{**}	112.19^{**}	41.993^{**}	102.74^{**}
(S) × (T)	1	8.009^{**}	47.55**	15.975^{**}	9.35^{**}	4.964^{*}	16.81^{**}
(S) × (H)	3	0.456^{ns}	0.325^{ns}	0.232^{ns}	0.22^{ns}	1.794^{ns}	0.721^{ns}
(T) × (H)	3	0.72^{ns}	0.236^{ns}	3.241*	0.402^{ns}	3.339*	1.002^{ns}
(S) × (T) × (H)	3	23.523**	27.588**	37.742**	50.116**	22.75**	32.593**
Error	32	22.76	0.130	18.670	47.882	28.607	0.001

^{ns}،* و ** به ترتیب عدم اختلاف معنی‌دار و معنی‌دار بودن اختلاف بین میانگین‌ها در سطح ۰/۰۱ و ۰/۰۵ است.

^{ns},** and * respectively, non-significant and significant at 1 and 5 percent of probability level

در یخچال به غلظت‌های ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر GA3 و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر BAP و در بذرهای نگهداری شده در اتاق به غلظت‌های ۵۰ میلی‌گرم در لیتر GA3 و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر BAP تعلق داشت (جدول ۳).

جدول ۳- نتایج مقایسه میانگین شاخص‌های جوانه‌زنی بذر *P. nigra* تحت اثرات متقابل محیط ذخیره بذر، نوع و غلظت هورمون‌ها

Table 3. Means results of seed germination and vigor of *P. nigra* under effects seed storage temperature, type and concentration of hormones

دمای ذخیره بذر Seed storage temperature	نوع هورمون Hormone Type	غلظت هورمون (میلی‌گرم در لیتر) Hormone concentration (mg l^{-1})	جوانه‌زنی (درصد) Germination (Percentage)	سرعت جوانه‌زنی (بذر در روز) Germination rate (seed/day)	قدرت جوانه‌زنی (درصد) Germination energy (percentage)	طول گیاهچه (میلی‌متر) Seedling length (mm)	وزن خشک گیاهچه (گرم) Seedling dry weight (gr)	شاخص بنیه Vigor index
Storage in refrigerator temperature	GA_3	0	53.8f (1.12)	3.7b (0.12)	40.52g (0.28)	104.63e (4.8)	0.13g (0.01)	56.3f (2.2)
		50	68.02cd (3.42)	4.59a (0.29)	49.38ef (2.96)	137.8c (1.4)	0.17efg (0.008)	93.82bc (4.54)
		100	69.13bcd (1.3)	4.66a (0.22)	58.21bcd (3)	139.3bc (1.84)	0.22de (0.02)	96.4b (1.09)
		200	81.57a (1.72)	5.26a (0.21)	67.47a (2.7)	141.3abc (3.16)	0.31ab (0.02)	115.4a (1)
	BAP	0	53.8f (1.12)	3.7b (0.12)	40.52g (0.28)	104.63e (4.78)	0.13g (0.01)	56.3f (2.22)
		50	78.16a (2.74)	4.88a (0.18)	63.74ab (1.77)	149.87a (1.85)	0.36a (0.02)	117.3a (2.7)
		100	62.7de (0.46)	3.8b (0.2)	43.75fg (1.49)	131.87c (0.9)	0.25cd (0.03)	82.83cd (0.1)
		200	54.82ef (4.31)	3c (0.12)	39.39g (2)	113.67de (3.3)	0.2def (0.01)	62.19ef (3.67)
Storage in room temperature	GA_3	0	51.49f (2.02)	3.75b (0.22)	40.67g (1.9)	106.9e (4.29)	0.16fg (0.01)	55.08f (2.6)
		50	74.53abc (2.96)	4.83a (0.2)	60.8abc (2.36)	148.83ab (2.4)	0.29bc (0.01)	111.23a (5.57)
		100	64.07d (2.33)	3.52bc (0.8)	53.91cde (1.61)	133.63c (3)	0.29bc (0.03)	85.92bc (4.96)
		200	60.4def (6)	2.9c (0.34)	42.67fg (6)	120.2d (4.1)	0.22de (0.01)	73.18de (9.48)
	BAP	0	51.49f (2.02)	3.75b (0.22)	40.67g (1.9)	106.9e (4.3)	0.17efg (0.01)	55.08f (2.6)
		50	64.16d (2.87)	4.59a (0.24)	51.78de (2.35)	138.4c (2.3)	0.21def (0.01)	89.65bc (5.05)
		100	65.76d (2.74)	4.64a (0.28)	52.8de (2.24)	138.51c (1.7)	0.24cd (0.01)	92.13bc (4.09)
		200	77.22ab (1.49)	4.93a (0.09)	64.51ab (1.75)	140.52abc (0.69)	0.3b (0.01)	110.76a (0.73)

در هر ستون بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن (۵٪) و دانت‌تی میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند، نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار است.

In each column means with same letters are not significantly different, based on Dancan's test and Dunett' T3.

اعداد داخل پرانتز معرف اشتباه معیار از میانگین (±) هستند.

The numbers in parentheses represent the standard error of the mean (±)

در یخچال، تمام صفات مورد مطالعه در هورمون GA_3 از شاهد تا غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر روند افزایشی داشت در حالی که در تنظیم‌کننده رشد BAP، غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر روند کاهشی داشت. در شرایط دمای اتاق، تمامی صفات مورد مطالعه در هورمون GA_3، غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر روند کاهشی داشتند در حالی که در تنظیم‌کننده رشد GA3، از شاهد تا غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر روند افزایشی داشتند.

بحث

بر اساس نتایج تحقیق حاضر در شرایط یخچال با افزایش غلظت GA_3 و در شرایط اتاق با افزایش غلظت BAP صفات جوانه‌زنی بهبود یافت. نتایج تحقیقات Grover (۱۹۶۲) و Little و MacDonald (۲۰۰۳) روی کاج جنگلی (*Pinus sylvestris* L.) در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر GA_3 و Kabar (۱۹۹۸) روی *P. brutia* در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر GA_3 با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد.

جیبرلین‌ها از جمله فیتوهورمون‌هایی هستند که در کنترل و تسریع جوانه‌زنی به‌طور مستقیم دخالت دارند. نقش بهبوددهنده جیبرلین روی درصد جوانه‌زنی بذر احتمالاً به دلیل فعال‌شدن ژن کدکننده آنزیم‌های هیدرولیزکننده (از جمله آنزیم آلفا آمیلاز) در بذر و در نتیجه تبدیل نشاسته به قندهای ساده و تغذیه جنین، افزایش فعالیت آنزیم کاکتول اکسیداز (کاهش‌دهنده میزان مواد فنولی بذر)، افزایش اسیدهای چرب غیراشباع، تغییرات آنزیمی فسفولیپیدها همراه با پروتئین‌های غشاء محیطی و انتقال سیگنال می‌باشد (Ghayyad *et al*., 2010).

از دیگر دلایل اثر مثبت محرک‌های شیمیایی از جمله GA_3 بر جوانه‌زنی، احتمالاً به تعادل رسیدن نسبت هورمونی در بذر و کاهش میزان مواد بازدارنده‌های رشد مانند اسید آبسیزیک (ABA) است. GA_3 به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد گیاهی احتمالاً به‌واسطه‌ی تقسیم سلولی باعث افزایش جذب مواد غذایی می‌شود. در حقیقت، در زمان تقسیم سلولی نیاز بیشتری به مواد غذایی است و همین امر موجب طویل شدن سلول‌ها و افزایش رشد گیاهچه می‌شود (Bewley & Black, 1994). از طرفی، GA_3 با تحریک فعالیت برخی آنزیم‌های پروتئاز موجب تبدیل پروتئین‌ها به اسیدهای آمینه از جمله تریپتوفان که پیش ساز اکسین است، می‌شود؛ بنابراین، برخی اثرات خود را روی رشد گیاه، به‌صورت غیرمستقیم از طریق اکسین اعمال می‌کند (Lester *et al*., 2002).

در تحقیق حاضر، مشخصه‌های جوانه‌زنی در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر GA_3 نسبت به غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر آن در شرایط دمای اتاق کاهش و نسبت به شاهد افزایش داشته است. به‌طور کلی، ذخیره در دمای اتاق سبب پس‌رسی و افزایش میزان جیبرلین داخلی شده و خصوصیات پوشش بذر و سطوح هورمون‌های درونی را تغییر می‌دهد (Dasti *et al*., 2001). برخی منابع نیز به فعالیت‌های تنفسی و فرآیندهای اکسیداتیو در بذرهای ذخیره‌شده در دمای اتاق اشاره کرده‌اند. احتمال می‌رود با افزایش غلظت جیبرلین درون بذر، غلظت‌های بالاتر GA_3 به‌کار برده شده در تحقیق پیش رو، تأثیر منفی روی جوانه‌زنی بذر گذاشته باشد.

در تحقیق حاضر، در شرایط یخچال غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر BAP نسبت به غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر BAP کاهش، اما نسبت به شاهد افزایش نشان دادند که با نتایج Tandon (1988) & Verma روی *Pinus kesiya* همسو است. BAP نوعی سیتوکینین است که در تنظیم فرآیندهای مختلف رشد و نمو حائز اهمیت است و در شرایط سرد، میزان آن افزایش می‌یابد. از میان فعالیت‌های متعدد این هورمون، اثر آن بر جوانه‌زنی بذر قابل توجه است. اثر محرک سیتوکینین‌ها (در غلظت‌های مناسب) روی جوانه‌زنی بذر از طریق تحریک سنتز DNA و RNA، تسهیل رشد و تقسیم سلولی در رویان، افزایش فعالیت آلفا آمیلاز، هیدرولیز نشاسته، افزایش نفوذپذیری غشاء سیتوپلاسمی و در نتیجه

انتقال سریع‌تر مواد می‌باشد (Hocart & Letham, 1990).

علت کاهش متغیرهای مورد بررسی در غلظت‌های بالاتر از ۵۰ میلی‌گرم در لیتر BAP را می‌توان این گونه توجیه کرد که زیاد بودن غلظت BAP در اثر کاربرد غلظت‌های بالاتر و یا تولید در اثر سرما، ممکن است ضمن ایجاد تنش ضعیف در بذر، سبب آسیب احتمالی به غشای سلولی، DNA و پروتئین‌های بذر در اثر تولید رادیکال‌های آزاد، پراکسیداسیون لیپیدها، و در نتیجه تولید ترکیبات جانبی سمی در بذر شود (Verma & Tandon, 1998). در شرایط دمای اتاق، تمام مشخصه‌های مورد مطالعه در کاربرد تنظیم‌کننده رشد BAP از شاهد تا غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر BAP روند افزایشی را نشان دادند. در این راستا می توان اظهار داشت که در طی ذخیره خشک در دمای اتاق، تغییرات بیوشیمیایی از جمله افزایش سیتوکینین‌ها به آهستگی رخ می‌دهد؛ از این رو، بذرها نسبت به کاربرد غلظت‌های بالاتر BAP واکنش مثبت نشان می‌دهند (Qaderi *et al*., 2003).

نتیجه‌گیری

یافته‌های تحقیق نشان داد که هم محلول GA3 و هم محلول BAP صفات جوانه‌زنی را ارتقاء دادند. به‌طوری که بزرگ‌ترین اندازه درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، قدرت جوانه‌زنی، طول گیاهچه، وزن خشک گیاهچه و شاخص بنیه در بذرهای نگهداری شده در یخچال، تعلق به غلظت‌های ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر GA3 و غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر BAP و در بذرهای نگهداری شده در اتاق، تعلق به غلظت‌های ۵۰ میلی‌گرم در لیتر GA3 و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر BAP داشت. نظر به عدم تأثیر محیط ذخیره‌سازی روی تمامی صفات مورد بررسی، می‌توان توصیه کرد که در نهالستان‌های مناطق نیم خشک و نیم مرطوب کشور به‌ویژه در نواحی رویشی ایرانی- تورانی، در صورت محدودیت وجود سردخانه، می‌توان اقدام به نگهداری بذر *P. nigra* var. *caramanica* در محیط اتاق نمود. تحقیق برای نگهداری طولانی‌تر این بذر توسط پژوهشگران آتی توصیه می‌شود.

منابع

احمدلو، ف.، طبری، م.، رحمانی، ا. و رزاق‌زاده، م. ۱۳۸۸. تأثیر ترکیب بستر کاشت بر صفات جوانه‌زنی بذر کاج حلب (*Pinus halepensis* Mill.). تحقیقات جنگل و صنوبر ایران، ۱۷(۳): ۴۰۳-۳۹۴.

نصیری، م. ۱۳۹۳. بررسی کاهش جوانه‌زنی بذر طی دو دوره نگهداری ۱۰ و ۲۲ ساله در تعدادی از گونه‌های درختی و درختچه‌ای ارتدوکس موجود در بانک ژن منابع طبیعی ایران. دو فصلنامه تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۲۲(۱): ۱۱۶-۱۰۹.

Abdul-Baki, A.A. & Anderson, J.D. 1970. Viability and leaching of sugars from germinating barley. Crop Science, 10(1): 630-633.

Barnett, J.P. & Vozzo, J.A. 1985. Viability and vigor of slash and shortleaf pine seeds after 50 years of storage. Forest Science, 31(2): 316-320.

Bewley, J.D. & Black, M. 1994. Seeds: physiology of development and germination, Plenum Press, New York, 1-33.

Bonner, F.T. 2008. Storage of seeds. The woody plant seed manual. Washington, DC, US: Department of Agriculture, Forest Service, Agriculture Handbook, 727: 85-95.

Dasti, A.A., Fatima, K. & Malik, S.A. 2001. Storage time on seed dormancy and germination in Eti mutants of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. Journal of Research, 12(1): 34-42.

Ghayyad, M., Kurbysa, M. & Napolsy, G. 2010. Effect of endocarp removal, gibberelline, stratification and sulfuric acid on germination of Mahaleb (*Prunus mahaleb* L.) seeds. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science, 9(2): 163-168.

Gosling, P. 2007. Raising trees and shrubs from seed: practice guide. Forestry Commission Publisher, UK, 28 p.

Grover, R. 1962. Effect of gibberellic acid on seed germination of elm, Scotch pine, Colorado and white spruce. Forest Science, 8(2): 187-190.

Hocart, C.H. & Letham, D.S. 1990. Biosynthesis of cytokinin in germinating seeds of *Zea mays*. Journal of Experimental Botany, 41(12): 1525–1528.

Kabar, K. 1998. Comparative effects of kinetin, benzyladenine, and gibberellic acid on abscisic acid inhibited seed germination and seedling growth of red pine and arbor vitae. Turkish Journal of Botany, 22(1): 1-6.

Kumar, R., Shamet, G.S., Mehta, H., Alam, N.M., Tomar, J.M.S., Chaturvedi, O.P. & Khajuria, N. 2014. Influence of gibberellic acid and temperature on seed germination in Chilgoza pine (*Pinus gerardiana* Wall.). Indian Journal of Plant Physiology, 19(4): 363-367.

Leege, L.M. & Murphy, P.G. 2000. Growth of the non-native *Pinus nigra* in four habitats on the sand dunes of lake Michigan. Forest Ecology and Management, 126(2): 191-200.

Lester, D.C., Carter, O.G., Kelleher, F.M. & Laing, D.R. 2002. The effect of gibberellic acid on apparent photosynthesis and dark respiration of simulated swards of *Pennisetum clandestinum* Hochst. Crop and Pasture Science, 23(2): 205-213.

Little, C.H.A. & MacDonald, J.E. 2003. Effects of exogenous gibberellin and auxin on shoot elongation and vegetative bud development in seedlings of *Pinus sylvestris* and *Picea glauca*. Tree Physiology, 23(2): 73–83.

Malik, A.R., Shamet, G.S., Butola, J.S., Bhat, G.M., Mir, A.A. & Nabi, G. 2013. Standardization of seed storage conditions in chilgoza pine (*Pinus gerardiana* Wall.): an endangered pine of Hind Kush Himalaya. Trees, 27(5): 1497-1501.

Missanjo, E. & Kapira, D. 2015. Research article storage conditions and period effects on quality of *Pinus kesiya* seeds from Malawi. Scholars Academic Journal of Biosciences, 3(3): 315-319.

Muscolo, A., Sidari, M., Mallamaci, C. & Attin, E. 2007. Changes in germination and glyoxylate and respiratory enzymes of *Pinus pinea* seeds under various abiotic stresses. Journal of Plant Interactions, 2(4): 273-279.

Pasquini, N.M. & Defossé, G.E. 2012. Effects of storage conditions and pre-chilling periods on germinability of *Pinus ponderosa* seeds from Patagonia, Argentina: preliminary study. Bosque, 33(1): 99-103.

Pousujja, R., Granhof, J. & Willan, R.L. 1986. *Pinus merkusii* Jungh. & de Vriese. Seedleaflet, (7), Danida Forest Seed Centre, Humlebaek.

Qaderi, M.M., Cavers, P.B. & Bernards, M.A. 2003. Pre-and post-dispersal factors regulate germination patterns and structural characteristics of Scotch thistle (*Onopordum acanthium*) cypselas. New Phytologist, 159(1): 263–278.

Tang, S., TeKrony, D.M., Egli, D.B. & Cornelius, P.L. 1999. Survival characteristics of corn seed during storage: II. Rate of seed deterioration. Crop Science, 39(5): 1400–1406.

Temel, F., Gulcu, S., Olmez, Z. & Gokturk, A. 2011. Germination of Anatolian Black Pine (*Pinus nigra* subsp. *pallasiana*) seeds from the lakes region of Turkey: geographic variation and effect of storage. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 39(1): 267.

Tomaskova, I., Vitamvas, J. & Korecky, J. 2014. Testing of germination of spruce, pine and larch seed after 10 years from collection–Short Communication. Journal of Forest Science, 60(12): 540–543.

Verma, A.N. & Tandon, P. 1988. Effect of growth regulators on germination and seedling growth of *Pinus kesiya* Royle ex Gord. and *Schima khasiana* dyer. Indian Journal Forest, 11(1): 32-36.

Journal of Zagros Forests Researches, Vol: 2(2), 2016

The Effect of Storage Temperature and Hormonal Concentration on Seed Germination and Early Growth of *Pinus nigra* var. *caramanica*

Zeinab Javanmard[1], Masoud Tabari Kouchaksaraei[2, *], Fatemeh Ahmadloo[3]

[1] *Ph.D. Student of Silviculture, Faculty of N Natural Resources & Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran*
[2] *Professor, Faculty of Natural Resources & Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran*
[3] *Ph.D. of Forestry, Faculty of Natural Resources & Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran*
[*] Corresponding author, E-mail address: mtabari@modares.ac.ir

Received: 15.10.2015 Accepted: 03.01.2016

Abstract

In order to study the effect of storage temperature and hormonal concentration on stored seed germination and early growth of *Pinus nigra* var. *caramanica*, an experiment including 3 factors in the context of Complete Randomized Design (CRD) with 3 replications was carried out. The seeds were stored for three years at two temperature conditions (refrigerator temperature 4 ºC and room temperature 20-25 ºC). In this way, the seeds were soaked in gibberellin acid (GA_3) and benzyl amino purine (BAP) at concentrations of 0, 50, 100, and 200 mg l^{-1} for 24 h and kept out in germinator (20 $^{\circ}$C) for 40 days. In general, both hormonal solutions improved germination traits. The highest germination percentage, germination rate, germination energy, seedling length, seedling dry weight, and vigor index were obtained in refrigerator temperature and at concentrations of 200 mg l^{-1} GA_3 and 50 mg l^{-1} BAP, and in room temperature at 200 mg l^{-1} BAP and 50 mg l^{-1} GA_3. It is recommended that in nurseries of semi-arid and semi-humid regions, in the absence of refrigerator, the seeds of *P. nigra* var. *caramanica* would be better to store in the room temperature for three years.

Keywords: Gibberellin Acid (GA_3), Benzyl Amino Purine (BAP), Seed vigor, Storage, Black pine

Translated References

Ahmadloo, F., Tabari, M., Rahmani, A., Yousefzadeh, H. & Razagh Zadeh, M. 2009. Effect of soil composition on seed germination of *Pinus halepensis* Mill. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 17(3): 394-403. (In Persian with English Abstract).

Nasiri, M. 2014. Investigation of germination loss in several orthodox tree seeds preserved in natural resources gene bank of Iran. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 22(1): 109-116. (In Persian with English Abstract).