

نقش چینه‌سرمایی و پیش‌تیمار با آرژینین و جیبرلیک اسید روی ویژگی‌های جوانه‌زنی گیاه بومی لاله واژگون گرگانی

سجاد علی پور^۱، علی تهرانی‌فر^{۲*}، محمود شور^۳، لیلا سمعی^۴، همایون فرهمند^۵

۱. دانشجوی دکتری گیاهان زینتی، دانشگاه فردوسی مشهد.

۲ و ۳. به ترتیب استاد و دانشیار گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشگاه فردوسی مشهد.

۴. استادیار پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد.

۵. دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۴/۱۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۸/۲۰)

چکیده

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

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

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

S. Alipour¹, A. Tehranifar^{2*}, M. Shoor³, L. Samiei⁴, H. Farahmand⁵

1-Ph.D Student, Department of Horticultural Science and Landscape, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

2, 3 Professor and Associate Prof, Department of Horticultural Science and Landscape, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

4- Assistant Prof, Department of Ornamental Plants, Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

5- Associate Prof. Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

(Received: Jul. 06, 2017 – Accepted: Nov. 11, 2017)

Abstract

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

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

* Email: tehranifar@um.ac.ir

مقدمه

حفاظت از آن ضروری است (Eslamzade, 2009). جوانه‌زنی بذر در بسیاری از گونه‌های گیاهی توسط سازوکاری که اصطلاحاً خواب نامیده می‌شود، تحت تأثیر قرار می‌گیرد. خواب را می‌توان به‌عنوان مانعی در جوانه‌زنی بذر گیاه محسوب نمود که حتی در شرایط مساعد محیطی، مانع جوانه‌زنی می‌شود (Nasiri et al., 2003). متداول‌ترین روش برای شکستن خواب درونی، چینه‌سرمایی مرطوب است که در برخی مواقع استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد و مواد شیمیایی می‌تواند جایگزین بخشی یا همه احتیاجات چینه‌سرمایی باشد (Baskin and Baskin, 2014). پرایمینگ بذر باعث افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی، یکنواختی سبز شدن و کاهش میانگین جوانه‌زنی می‌شود (Baskin and Baskin, 2014). جیبرلین‌ها از جمله تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی هستند که در کنترل و تسریع جوانه‌زنی مستقیماً دخالت دارند (Nicolas et al., 1996). نقش اصلی اسید جیبرلیک که توسط جنین ترشح می‌شود، فعال نمودن ژن کد کننده آنزیم‌های دخیل در جوانه‌زنی بذر به‌ویژه آنزیم آلفا آمیلاز است و این عمل را از طریق افزایش mRNAهای کد کننده این آنزیم انجام می‌دهد (Gonzalez-Benito et al., 2004). آرژینین یکی از پرکاربردترین اسیدهای آمینه در سلول‌های زنده و اجزای اصلی پروتئین‌هاست و در مقایسه با اسیدهای آمینه دیگر نقش‌های فیزیولوژیکی منحصر به فردی را در گیاه ایفا می‌کند (Chen et al., 2004). آرژینین حدود ۵۰٪ نیتروژن پروتئین دانه را به‌عنوان یک منبع نیتروژن در طول رشد بعد از جوانه‌زنی تأمین می‌نماید (Hwang et al., 2001). آرژینین علاوه بر تأمین ۵۰٪ پروتئین دانه بیش از ۹۰٪ نیتروژن آزاد در بافت‌های گیاهی را تأمین می‌کند. روحی و همکاران (Rohi et al., 2010) گزارش کردند بالاترین درصد جوانه‌زنی بذر *Tulip kaufmanniana* در تیمار ۵۰۰ ppm اسید جیبرلیک به دست آمد. بذر لاله‌های واژگون جهت جوانه‌زنی نیاز به دوره‌های سرمایی کمتر از ۴ درجه سانتی‌گراد دارند (Dehertogh and LeNard, 1993). در پژوهشی گزارشی کردند بذر لاله واژگون گونه

ایران کشور پهناوری است که از تنوع اقلیمی و زیستی خوبی برخوردار بوده و پس از ترکیه بیشترین تنوع گیاهی را در خاورمیانه دارد (Farahmand and Nazari, 2015). در رویشگاه‌های طبیعی ایران بیش از ۲۰۰ گونه گیاه پیازی از خانواده‌های سوسن‌سانان، زنبق‌سانان و نرگس‌سانان رشد می‌کنند که نقش مهمی در نمایش رنگ در دشت‌ها، کوهستان‌ها و جنگل‌ها بازی می‌کنند (Farahmand and Nazari, 2015). در ایران ۲۰ گونه لاله واژگون شناسایی شده است (Tehrani et al., 2015) که یکی از گونه‌هایی که توجه کمتری به آن شده است، لاله واژگون گرگانی با نام علمی *Fritillaria raddeana* که گیاهی چندساله، علفی و پیاز دار است و بومی ترکمنستان، افغانستان و شمال شرق ایران است (De Hertogh and LeNard, 1993). لاله واژگون گرگانی ارزش زینتی و دارویی بالایی داشته و با توجه به ویژگی‌های منحصر به فرد آن می‌تواند به‌عنوان گل شاخه بریده، گل گلدانی و گیاه بستری مورد استفاده قرار گیرد. همچنین، از دیدگاه طراحی فضای سبز و باغ نیز ارزشمند است. تاکنون مطالعات اندکی روی جنبه‌های مختلف فیزیولوژی این گیاه از جمله برطرف نمودن خواب بذر آن انجام شده است. با توجه به رویشگاه محدود این گونه که تنها در بخش کوچکی از کشور ایران گزارش شده است؛ می‌توان با مطالعه بر روی اهلی سازی و تکثیر آن گام مهمی در راستای حفظ و تجاری‌سازی آن برداشت. ویژگی‌های زیباشناختی مانند رنگ گل منحصر به فرد و زیبا (زرد کرمی)، سطح کم رویشگاه و کاهش جمعیت آن این گونه را در معرض خطر انقراض قرار داده است. در سال‌های اخیر انواع گونه‌های لاله واژگون ایران به علت پراکنش محدود و متراکم، به‌اضافه چرای دام‌ها، جاده‌سازی، بوته‌کشی، برداشت گل و سوخ، قاچاق گل و عرضه به بازار و غیره در خطر جدی انقراض قرار گرفته‌اند. لاله واژگون به‌عنوان ذخیره ژنتیکی محسوب می‌گردد و به همین دلیل

اسید تهیه و بذور به مدت ۲۴ ساعت در محلول‌ها نگهداری و پس از آن خارج گردید.

تیمار اسید آمینه آرژینین: آرژینین مورد استفاده در این پژوهش از شرکت سیگما خریداری گردید. بذرها پس از اینکه با محلول هیپوکلرید سدیم ضد عفونی گردیدند در محلول‌های آرژینین از قبل آماده شده به مدت ۲۴ ساعت نگهداری و پس از آن خارج و استفاده گردید.

روش پژوهش: پس از تیمار شدن بذور با محلول‌های جیبرلیک اسید و آرژینین آن‌ها درون نایلون‌های پلاستیکی حاوی پرلیت قرارداده شد و جهت دریافت نیاز سرمایی مورد نیاز در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. نایلون‌هایی بذرها به صورت هفتگی بررسی و پس از ۱۳ هفته به محض ظهور علائم اولیه جوانه‌زنی از یخچال بیرون و جهت بررسی جوانه‌زنی به آزمایشگاه انتقال یافت. پس از آن تعداد بذور جوانه‌زده به صورت روزانه ثبت شد. صفات اندازه‌گیری در این پژوهش شامل درصد و سرعت جوانه‌زنی، شاخص بنیه ۱، شاخص بنیه ۲، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن تر ریشه‌چه و ساقه‌چه و وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه بود.

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

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

نتایج

نتایج: تجزیه واریانس نشان داد پرایمینگ بذر قبل از سرمادهی مرطوب بر روی تمام صفات اندازه‌گیری شده در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱ و ۲).

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

مواد و روش‌ها

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

تیمار جیبرلیک اسید: جیبرلیک اسید مورد نیاز از شرکت سیگما خریداری گردید. بذرها ابتدا با محلول هیپوکلرید سدیم ضد عفونی، سپس محلول‌های جیبرلیک

جدول ۱- میانگین مربعات صفات مورد بررسی در آزمایش جوانه زنی

Table 1- Mean squares for traits investigated in germination experiment

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

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

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

جدول ۲- میانگین مربعات صفات مورد بررسی در آزمایش جوانه زنی

Table 2- Mean squares for traits investigated in germination experiment

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

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

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

معنی دار نشان داد (جدول ۱). در بین تیمارهای استفاده شده بیشترین میانگین سرعت جوانه زنی مربوط به اسید آمینه آرژینین ۵ میکرومولار بود که در مقایسه با شاهد تعداد روز تا جوانه زنی را ۱۰ روز کاهش داد. شایان ذکر هست در این صفت اسید آمینه آرژینین ۱۰ میکرومولار و غلظت های مختلف جیبرلیک اسید باهم اختلاف معنی داری نشان ندادند (شکل ۲).

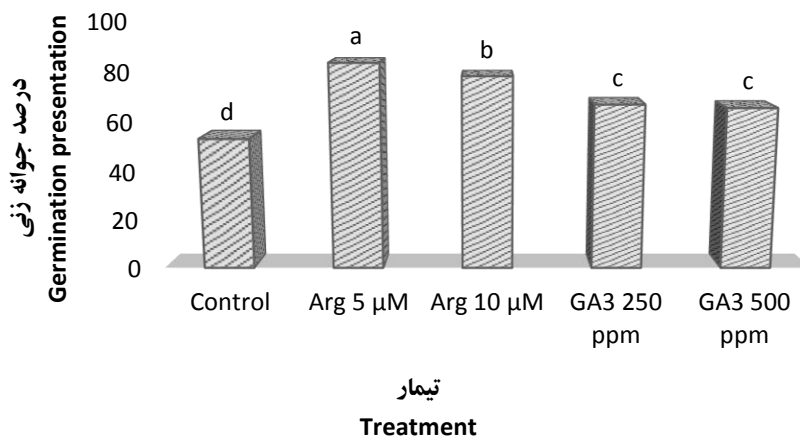
پرایمینگ بذر با غلظت های مختلف اسید آمینه آرژینین و جیبرلیک اسید منجر به افزایش طول ریشه چه در مقایسه با شاهد گردید (جدول ۳). در بین تیمارهای پرایمینگ، اسید آمینه آرژینین ۵ میکرومولار مؤثرترین بود به طوری که طول ریشه چه در این تیمار ۱۵ میلی متر بیشتر از تیمار شاهد بود (جدول ۳). همچنین غلظت بالاتر اسید آمینه آرژینین و غلظت های مختلف جیبرلیک اسید

نتایج این پژوهش نشان داد پرایمینگ کردن بذرها قبل از تیمار سرمادهی درصد جوانه زنی بذر لاله واژگون گرگانی را بهبود بخشید (جدول ۱). غلظت های مختلف اسید آمینه آرژینین و جیبرلیک اسید مورد استفاده نسبت به شاهد اختلاف معنی دار نشان دادند. بیشترین درصد جوانه زنی در تیمار اسید آمینه آرژینین ۵ میکرومولار به دست آمد (۸۳٪) که این تیمار بیش از ۱/۵ برابر نسبت به شاهد (۵۳٪) درصد جوانه زنی را افزایش داد (شکل ۱). در مجموع اسید آمینه آرژینین نسبت به جیبرلیک اسید نقش مهم تری در بهبود درصد جوانه زنی لاله واژگون گرگانی داشت (شکل ۱).

یافته های این بررسی نشان داد پرایمینگ کردن بذر لاله واژگون گرگانی با غلظت های مختلف اسید آمینه آرژینین و جیبرلیک اسید بر روی سرعت جوانه زنی اثر

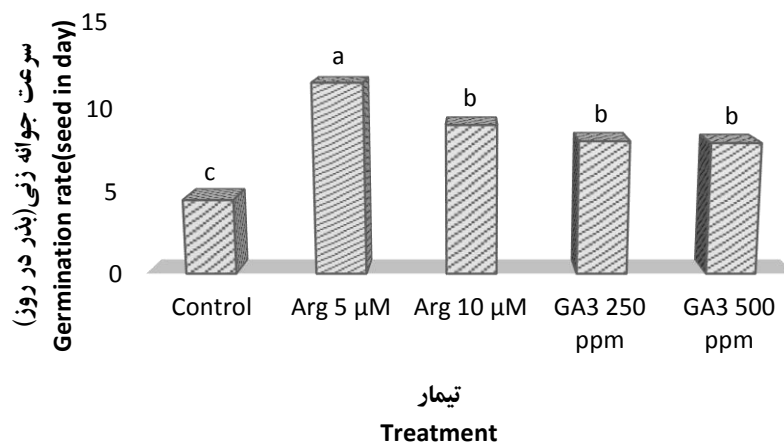
ترتیب ۱/۳، ۱/۱۶ و ۱/۱۴ برابر افزایش دادند (جدول ۳). شاخص بنیه ۱ و ۲ نشان داد پرایمینگ بذر با اسید آمینه آرژینین و جیبرلیک اسید سبب بهبود این صفات گردید (جدول ۳). با وجود این که تمام تیمارهای پرایمینگ در مقایسه با شاهد اختلاف معنی دار نشان دادند اما در بین دو ترکیب مورد استفاده، اسید آمینه آرژینین در مقایسه با جیبرلیک اسید تأثیر بیشتری نشان داد (جدول ۳). در هر دو صفت بالاترین میانگین مربوط به اسید آمینه آرژینین ۵ میکرومولار بود.

با هم اختلاف معنی دار نشان ندادند (جدول ۳). همان طور که در جدول ۳ مشاهده می گردد در صفت طول ساقه چه، به جز جیبرلیک اسید ۲۵۰ میلی گرم در لیتر سایر تیمارهای پرایمینگ در مقایسه با شاهد اختلاف معنی دار نشان دادند. به مانند صفات پیش در این صفت نیز بیشترین طول ریشه چه مربوط به تیمار اسید آمینه آرژینین ۵ میکرومولار بود. اسید آمینه آرژینین ۵ میکرومولار، اسید آمینه آرژینین ۱۰ میکرومولار و جیبرلیک اسید ۵۰۰ میلی گرم در لیتر در مقایسه با شاهد طول ساقه چه را به



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

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



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

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

جدول ۳- تأثیر پرایمینگ بذر با اسید آمینه آرژنین و جیبرلیک اسید بر برخی شاخص‌های جوانه‌زنی بذر لاله واژگون گرگانی
Table 3- The response of some germination characteristics affected by different rates of Arginine and Gibberellic acid in *Fertillaria raddeana*

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

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

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

جدول ۴- تأثیر پرایمینگ بذر با اسید آمینه آرژنین و جیبرلیک اسید بر برخی شاخص‌های جوانه‌زنی بذر لاله واژگون گرگانی
The response of some germination characteristics affected by different rates of Arginine and Gibberellic acid in *Fertillaria raddeana*

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

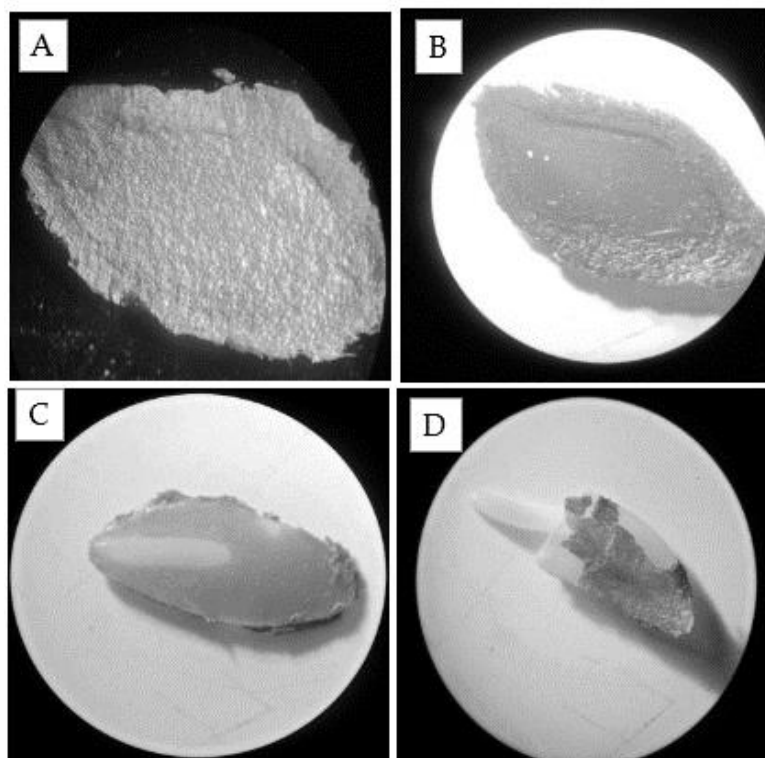
میانگین‌هایی که در ستون دارای حروف مشترک می‌باشند. اختلاف معنی‌داری با آزمون LSD در سطح ۵٪ ندارند.

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

روی این صفت تأثیر گذار بودند. همسو با صفات قبل اسید آمینه آرژنین ۵ میکرومولار در این صفات نیز بالاترین میانگین را به خود اختصاص داد. در مجموع اسید آمینه آرژنین در غلظت پایین مؤثرترین تیمار در تمام صفات اندازه گیری شده بود.

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

بررسی وزن تر ریشه‌چه و وزن تر ساقه چه نشان داد پرایمینگ بذر قبل از سرمادهی سبب افزایش وزن تر ریشه‌چه و ساقه چه گردیده است (جدول ۴). اسید آمینه آرژنین و جیبرلیک اسید در تمام غلظت‌ها سبب افزایش وزن تر (هم ریشه‌چه هم ساقه چه) در مقایسه با تیمار شاهد شدند (جدول ۴). در هر دو صفت بیشترین میانگین مربوط به تیمار اسید آمینه آرژنین ۵ میکرومولار بود. همچنین نتایج نشان داد غلظت بالاتر اسید آمینه آرژنین با غلظت پایین جیبرلیک اسید باهم اختلاف معنی‌داری نشان ندادند اما هر دو تیمار میانگین بالاتری در مقایسه با جیبرلیک اسید ۵۰۰ میلی گرم در لیتر از خود نشان دادند (جدول ۴). همان‌طور که جدول ۴ نشان داده شده است در صفت وزن خشک (ریشه‌چه و ساقه چه) در بین تیمارهای مورد استفاده تنها تیمار جیبرلیک اسید ۵۰۰ میلی گرم در لیتر با شاهد اختلاف معنی‌دار نشان نداد اما سایر تیمارها بر



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

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

خواب نیاز به دمای پایین ۴ درجه سانتی گراد دارد. بذرهای لاله واژگون پس از قرار گرفتن در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی گراد پس از ۱۳ هفته شروع به جوانه زنی کردند. نتایج به روشنی نشان داد رویان بذر لاله واژگون گرگانی طی مدت زمان قرار گرفتن در دمای پایین به تدریج از قسمت سر بذر به سمت انتهای بذر رشد می کند. و پس از اینکه به طور کامل سرمای مورد نیاز را دریافت کرد رویان پس رسی خود را کامل کرده و به اندازه نهایی خود رسیده و جوانه زنی شروع می گردد. پس از جوانه زنی ریشه چه و به دنبال آن ساقه چه رشد می کند. پس از قرارگیری بذر در گلدان ساقه چه به رشد خود ادامه داده تا زمانی که به روز بلند و دمای بالا برخورد می کند و سپس وارد خواب می شود. در سال اول در زمان خواب یک سوخک کوچک در انتهای ریشه تشکیل می شود (شکل ۴).

رویان بذر لاله واژگون گرگانی به تدریج طی دوره سرمادهی مرطوب توسعه پیدا می کند و زمانی که رویان به اندازه نهایی خود رسید جوانه زنی آغاز می گردد (Hill, 2019). در واقع با دریافت سرما رویان بذر به تدریج به صورت طولی از قسمت سر بذر توسعه پیدا کرده و پس از دریافت کامل سرمای مورد نیاز به قسمت انتهای بذر می رسد. پس از اینکه رویان به اندازه واقعی و کامل خود رسید ریشه چه از قسمت سر بذر خارج می شود (شکل ۴). شایان ذکر است که جوانه زنی بذر این گونه پیازی طی تیرماه و مردادماه نیز بررسی گردید اما جوانه زنی در آنها مشاهده نگردید که ممکن است به دلیل پس رسی این بذر و نرسیدن رویان به حداقل اندازه ممکن باشد. نتایج این پژوهش نشان داد بذر لاله واژگون گرگانی دارای خواب مورفوفیزیولوژیک هست که برای رفع این

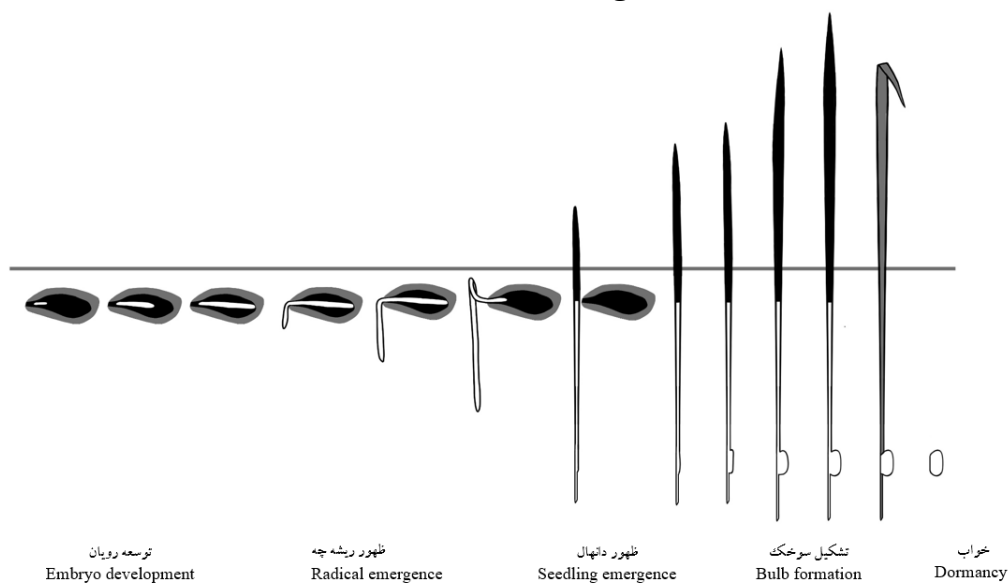


Illustration by Laurence Hill

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

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

واژگون در ایران طی چندین سال با شرایط نامساعد محیطی سازگار گردیدند. به طور کلی اغلب گونه های لاله های واژگون دارای خواب مورفوفیزیولوژیک هستند

بحث

خواب بذر یکی از فرآیندهای پیچیده در پاسخ به شرایط نامساعد محیطی هست. اغلب گونه های لاله

(Gomurgen, 2000). پرایمینگ بذر موسیر (*Allium hirtifolium* Boiss) با جیبرلیک اسید ۱۰۰ میلی گرم در لیتر سبب شکست خواب و افزایش جوانه زنی این گونه پیازی گردید (Dashti et al., 2012). پرایمینگ بذر با جیبرلیک اسید سبب بهبود شاخصه های جوانه زنی بذر موسیر ایرانی (*Allium stracheyi* Baker) گردید (Payal et al., 2013). جیبرلیک اسید، خواب ناشی از رویان و پوشش بذر را می شکند و اثرات بازدارنده آبسزیک اسید را به طور مستقیم یا غیرمستقیم مهار می کند (Kucera et al., 2005). محتوای بالای آمینواسیدهای آزاد بذر نقش مهمی در جوانه زنی آن دارند (Alhadi et al., 2012). یافته های این پژوهش نشان داد کاربرد اسید آمینه آرژنین جوانه زنی بذر لاله واژگون را به طور چشمگیری افزایش داد. در بین تیمارهای به کار برده شده اسید آمینه آرژنین ۵ میکرومولار در تمام صفات اندازه گیری شده مؤثرترین تیمار بود. کاربرد آمینواسیدهای آزاد آرژنین، گلوتامین و متیونین نقش مهمی در جوانه زنی بذر انار داشت (Alhadi et al., 2012). تیمار بذرهای کلزا با اسید آمینه آرژنین ۱۰ میکرومولار سبب بهبود ویژگی های جوانه زنی و رشدی این گیاه گردید (Nasibi et al., 2014). در پروتئین بذر گونه های مختلف گیاهی ۴۰ تا ۵۰٪ نیتروژن ذخیره ای بذر به وسیله آرژنین تأمین می شود (King and Gifford, 1997). پرایمینگ بذر گیاه منداب *Eruca sativa* با اسید آمینه آرژنین منجر به افزایش جوانه زنی بذر این گونه از ۶۰٪ به ۸۰٪ گردید (Yagi and Abdulkareem, 2006). در پژوهشی دیگر گزارش گردید پرایمینگ بذر آفتابگردان با اسید آمینه آرژنین ۵ میکرومولار به مدت ۲۴ ساعت منجر به افزایش شاخص های جوانه زنی گردید (Nejad-alimoradi et al., 2014) که با نتایج این پژوهش همسو بود. در این پژوهش بهترین تیمار از نظر شاخص های جوانه زنی تیمار پرایمینگ بذر با اسید آمینه آرژنین ۵ میکرومولار بود که این تیمار حتی از جیبرلیک اسید نیز مؤثرتر واقع شده بود. آرژنین یکی از

(Baskin and Baskin., 2014). نتایج این پژوهش نشان داد پرایمینگ بذر لاله واژگون گرگانی قبل از تیمار سرمادهی به طور معنی داری مؤلفه های جوانه زنی را بهبود بخشید اما در کوتاه کردن دوره سرمای مورد نیاز بذرها تأثیری نداشت. در بررسی حاضر پرایمینگ بذر به طور معنی داری موجب افزایش درصد جوانه زنی و سرعت جوانه زنی در مقایسه با شاهد شد. گزارش شده است که همه یا برخی از فرآیندهای قبل از جوانه زنی به وسیله پرایمینگ شروع می شود، بنابراین بذرهای پرایم شده می توانند به سرعت آب جذب کرده و متابولیسم بذر را احیا کنند که در نتیجه آن سرعت جوانه زنی بذر افزایش و ناهمگنی فیزیولوژیکی در جوانه زنی بذر کاهش می یابد (Arif et al., 2008). اسموپرایمینگ قبل از تیمار سرمادهی سبب بهبود شاخصه های جوانه زنی بذرهای لاله واژگون اشک مریم (*Fritillaria imperialis*) گردید (Agha-babanezhad et al., 2015). احتمال داده می شود که عامل سرما علاوه بر تحریک سنتز GA3 درونزا، محرک های دیگری را فعال می کند که موجب افزایش سرعت جوانه زنی بذرها می گردد. به نظر می رسد تیمار سرما سبب کاهش تراز هورمون های بازدارنده و افزایش تراز هورمون های محرک شده و بدین ترتیب سبب افزایش پتانسیل جوانه زنی بذر می شود. این رویدادها به طور هم زمان رخ داد و جوانه زنی در بذرها نتیجه توازن بین هورمون ها هست (Gomurgen and Tipirdamaz, 2000). نتایج نشان داد پرایمینگ کردن بذر لاله واژگون گرگانی با جیبرلیک اسید به طور معنی داری صفات مورد بررسی (درصد و سرعت جوانه زنی) را تحت تأثیر قرارداد. پرایمینگ بذر لاله واژگون اشک مریم (*Fritillaria imperialis*) با جیبرلیک اسید ۵۰۰ ppm قبل از زمان سرمادهی بر تمام صفات جوانه زنی، تأثیر معنی داری داشت (Agha-babanezhad et al., 2015). کاربرد جیبرلیک اسید ۵ و ۱۰ میلی مول بر روی بذرهای گیاه پیازی خربق زمستانی (*Eranthis hyemalis*) سبب افزایش درصد جوانه زنی گردید (Tipirdamaz and

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

تشکر و قدردانی

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

پرکاربردترین اسیدهای آمینه با نسبت 4N/6C در سلول های زنده و اجزای اصلی پروتئین هاست و در انتقال ذخیره نیتروژن در گیاهان نقش دارد (Chen *et al.*, 2004). از آنجایی که آرژینین به عنوان یک منبع نیتروژن در طول رشد بعد از جوانه زنی هست (Hwang *et al.*, 2001). به نظر می رسد با توجه به این که آمینواسید آرژینین به عنوان پیش ساز پلی آمین ها، در تحریک تقسیم سلولی نقش داشته (Paschalidis and Roubelkis- Angelakis, 2005) در این پژوهش توانسته به رشد رویان کمک کرده و مدت زمان پسرسی رویان در زمان کوتاه تری طی شود. با توجه به این که پلی آمین ها نقش مهمی در تقسیم سلولی، رویان زایی و شکستن خواب غده ها و جوانه زنی بذور دارند (Kaur-Sawhney *et al.*, 2003) ممکن است در این پژوهش اسید آمینه آرژینین باعث تولید پلی آمین ها گردیده باشد و جوانه زنی افزایش یافته باشد. در کل سرمادهی مرطوب به همراه پرایمینگ تأثیر مثبتی بر بذر لاله واژگون گرگانی داشت. سرمادهی مرطوب همراه با پرایمینگ برای بهبود جوانه زنی گونه های مختلف استفاده می شود. تیمار سرمادهی بذر خواب بذر را از بین می برد همچنان که پرایمینگ مدت زمان جوانه زنی را کاهش می دهد (Khan, 1992).

نتیجه گیری

بذر اغلب گونه های لاله های واژگون دارای خواب مورفوفیزیولوژیکی هستند (Baskin and Baskin., 2014).

Reference

- Agha Baabazadeh, Z. 2015.** Optimization of treatments for improving efficiency, germination and seedling establishment of *Fritillaria imperialis* (In Persian). Msc.Thesis. Univ. of Faculty of Agriculture and Natural Resources, Shahrekord, Iran. (In Persian, with English Abstract)
- Agha Baqbanjad, Z., A.S. Abbas Soraki, and P. Tahmasebi. 2015.** Effect of gibberellic acid on seed germination of *Fritillaria imperialis* (In Persian). The 13th Iranian Conference on Plant Breeding and the 3rd Iranian Seminar on Science and Technology. Karaj.Iran.

منابع

- Alhadi, F., A. S. Al-Asbahi Adnan, S. A. Alhammad Arif, and A. A. Abdullah Qais. 2012.** The effects of free amino acids profiles on seeds germination/dormancy and seedlings development of two genetically different cultivars of Yemeni Pomegranates. *Stress Physiol. Biochem.* 8: 1-7.
- Arif, M., M.T. Jan, K.B. Marwat, and M.A. Khan. 2008.** Seed priming improves emergence and yield of soybean. *Pakistan J. Bot.* 40: 1169-1177.
- Baker, A. 2005.** An endangered alpine species of Central Himalaya, India. *Plant Biosystems.* 148: 1075-1084.
- Baskin, C. C. and J. M. Baskin. (ed.). 2014.** Seeds: ecology, biogeography, and, evolution of dormancy and germination. Elsevier.
- Canton, F. R., M. F. Suarez and F. M. Canovas. 2005.** Molecular aspect of nitrogen mobilization and recycling in trees. *Photosyn. Res.* 83: 264-278.
- Chen, H., B. C. Mc Caig, M. Melotto, H. Yang, S. He and G. A. Howo. 2004.** Regulation of plant arginase by wounding, jasmonate and the phytotoxin coronation. *Biol. Chem.* 279: 45998-46007.
- Dashti, F., H. Ghahremani-Majd, and M. Esna-Ashari (In Persian). 2012.** Overcoming seed dormancy of mooseer (*Allium hirtifolium*) through cold stratification, gibberellic acid, and acid scarification. *Forestry.* 23:707-710.
- De Hertogh, A. and M. Le Nard (Ed). 1993.** The Physiology of Flower Bulbs. Elsevier Science Publishing. The Netherlands.
- Eslamzadeh, N., S. M. Hosseini, H. R. Moradi and F. Azeri Dehkordi. 2009.** Introduction of new habitats for *Fritillaria imperialis* with using GIS. . (In Persian, with English Abstract.) *Environ. Sci. Technol.* 1: 251-261.
- Farahmand, H and F. Nazari .2015.** Environmental and Anthropogenic Pressures on Geophytes of Iran and the Possible Protection Strategies: A Review. *Hortic. Sci. Technol.* 2: 111-132.
- Gonzalez-Benito, M. E., M. J. Albert, J. M. Irionda, F. Varela and F. Perez- Garca, 2004.** Seed germination of four thyme species after conservation at low temperatures at several moisture contents. *Seed Sci. Technol.* 32: 247-254.
- Hamidi, A., D. Roodi, V. Asgari, and S. Hajilooi. 2009.** Study on applicability of controlled deterioration vigour test for evaluation of seed vigour and field performance of three oil-seed rape (*Brassica napus* L.) cultivars. *Seed Plant.* 24: 677-705. (In Persian, with English Abstract)
- Hill, L. 2019.** *Fritillaria Icones*. [Online]. Available at www.fritillariaicones.com.
- Hwang, H. J., E. H. Kim and Y. D. Cho. 2001.** Isolation and properties of arginase from a shade plant, ginseng roots. *Phytochem.* 58: 1015–1024.
- Kaur-Sawhney R., A. F. Tiburcio, and A.W. Galston. 2003.** Polyamines in plants: An overview. *Cell and Mol. Biol.* 2: 1-12.
- Khan, A.A. 1992.** Preplant physiological seed conditioning. *Hortic. Rev.* 13:131-181.
- King, J. E., and D. J. Gifford. 1997.** Amino acid utilization in seeds of loblolly pine during germination and early seedling growth (I. arginine and arginase activity). *Plant Physiol.* 113: 1125–1135.
- Kucera, B., M.A. Cohn and G. Leubner-Metzger. 2005.** Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. *Seed Sci. Res.* 15:281-307.
- Nasibi, F., K.M. Kalantari, and A. Barand. 2014.** Effect of seed pre-treatment with L-arginine on improvement of seedling growth and alleviation of oxidative damage in canola plants subjected to salt stress. *Iran J. Plant Physiol.* 5: 1217-1224.
- Nasiri, M., P. Babakhanloo, and H. Maddah-Arefi. 2003.** First report on breaking dormancy and seed germination on *Diplotaenia damavandica* Mozaffarian. *Iranian Rangelands and Forests Plant Breed. and Genet. Res.* 2: 258-274.
- Nejadalmoradi, H. A., F.A. Nasibi, K. M. Kalantari and R. O Zanganeh. 2014.** Effect of seed priming with L-arginine and sodium nitroprusside on some physiological parameters and antioxidant enzymes of sunflower plants exposed to salt stress. *Agric Commun.* 2014: 23-30.

- Nicolas, C., G. Nicolas, and D. Rodriguez. 1996.** Antagonistic effects on abscisic acid and gibberellic acid on the breaking of dormancy of *Fagus sylvatica* seeds. *Physiol. Plant.* 1996: 244-250.
- Panwar, P., and S. D. Bhardwaj. 2005.** Handbook of practical forestry. Agrobios (INDIA).
- Payal, K., R. K. Maikhuri, K. S. Rao and L. S. Kandari. 2014.** Effect of gibberellic acid- and water-based pre-soaking treatments under different temperatures and photoperiods on the seed germination of *Allium stracheyi* Baker: An endangered alpine species of Central Himalaya, India. *Societa Botanica Italiana.* 6: 148-155.
- Ranal M.A. and D. G. Santana. 2006.** How and why to measure the germination process? *Revista Brasileira de Botanica.* 29: 1-11.
- Rouhi, H. R., K. Shakarami, R. Tavakkol Afshari. 2010.** Seed treatments to overcome dormancy of waterlily tulip (*Tulipa kaufmanniana* Regel.). *Australian Crop Sci.* 4: 718-721.
- Tehrani Sharifi, M., M. Advay and L. Shabani .2015.** *Fritillaria* (Liliaceae) in Iran: distribution and Nomenclature. (In Persian, with English Abstract.) *Taxon and Biosy.* 22: 70-49.
- Tipirdamaz, R and A. N. Gömürgen. 2000.** The effects of temperature and gibberellic acid on germination of *Eranthis hyemalis* (L.) Salisb. *Seeds. Turk Jour. Botany.* 24:, 143-146.
- Todd, C. D., and D. J. Gifford. 2003.** Loblolly pine arginase responds to arginine in vitro. *Planta.* 21: 610-615.
- Yagi, M. I., and S. S. Abdulkareem. 2006.** Effects of exogenous arginine and uric acid on *eruca sativa* mill grown under saline conditions, *J. Sci. Technol.*7: 1-11.