

اثر لایه‌گذاری گرم، اسید جیبرلیک و آب اکسیژنه بر جوانه‌زنی بذر کیکم قفقازی (*Acer monspessulanum* subsp. *ibericum* M.B.)

بهرام ناصری^۱، مسعود طبری کوچکسرای^{۲*}، مهدی عابدی^۳، شیام فارتیال^۴

^۱ دانشجوی دکتری جنگل، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تربیت مدرس

^۲ استاد گروه جنگلداری دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس

^۳ استادیار گروه مرتعداری دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس

^۴ استادیار گروه جنگلداری و منابع طبیعی، دانشگاه گراهال، هند

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۲/۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۴/۲۷)

چکیده

به‌منظور بررسی شکست خواب و جوانه‌زنی بذر کیکم قفقازی، بذرها از ارتفاع ۱۹۰۰ متری جنگل گوگلی شهرستان سوادکوه جمع‌آوری شد. به‌دنبال پیش‌تیمار لایه‌گذاری گرم (۰، ۴، ۸ و ۱۲ هفته در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد)، بذرها به مدت ۲۴ ساعت در دو آزمایش جداگانه (۱) محلول اسید جیبرلیک (۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و (۲) محلول آب اکسیژنه (۰، ۱، ۲ و ۳ درصد) قرار گرفتند و بلافاصله به محیط لایه‌گذاری سرد (۴ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۴۱ هفته، با احتساب دوره پیش‌تیمار گرم) انتقال یافتند. هر دو آزمایش بر مبنای طرح پایه کاملاً تصادفی و در قالب فاکتوریل با سه تکرار انجام گرفت. نتایج نشان داد که به‌رغم پوسته سخت، بذر کیکم قفقازی مشکلی در جذب آب ندارد. نتایج حاکی از تأثیر مثبت افزایش دوره پیش‌تیمار لایه‌گذاری گرم بر مؤلفه‌های جوانه‌زنی بود، به‌طوری که جوانه‌زنی از ۱۳ به ۷۶ درصد و سرعت جوانه‌زنی از ۱/۴ به ۳/۸ عدد (در هفته) ترقی کرد. این در حالی است که زمان شروع جوانه‌زنی از ۲۰ به ۱۳ هفته و مدت زمان جوانه‌زنی ۵۰ درصد بذرها از ۱۰ به ۶ هفته کاهش یافت. تأثیر محرک‌های جوانه‌زنی با افزایش غلظت و مدت پیش‌تیمار لایه‌گذاری گرم مشهود بود، به‌طوری که جوانه‌زنی در غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید جیبرلیک برابر با ۶۴ درصد، و در غلظت‌های ۲ و ۳ درصد آب اکسیژنه به ترتیب برابر با ۵۶ و ۷۳ درصد بود. با افزایش مدت پیش‌تیمار لایه‌گذاری گرم، روند کلی سرعت جوانه‌زنی در همه غلظت‌های هر دو محرک حالت افزایشی داشت. به‌طور کلی، به‌لحاظ سهولت کار و صرفه‌جویی در هزینه‌ها، گزینه مناسب برای رفع خواب بذر کیکم قفقازی استفاده از لایه‌گذاری گرم-سرد (بدون کاربرد محرک‌های یادشده) است.

واژه‌های کلیدی: جوانه‌زنی بذر، شکست خواب، کیکم قفقازی، لایه‌گذاری گرم.

مقدمه و هدف

کیکم (*Acer monspessulanum* L.) نام عمومی یکی از گونه‌های جنس افرا، دارای گسترده‌ترین محدوده پراکنش و بیشترین تعداد زیرگونه در بین گونه‌های بومی این جنس در کشور است (ثابتی، ۱۳۸۲؛ مظفریان، ۱۳۸۵). زیرگونه‌های کیکم خشکی‌پسندترین تاکسون در تمام جنس افرا محسوب می‌شوند (Browicz, 1984). بنابراین، کیکم قفقازی یا سیاه کرکو (*Acer monspessulanum* subsp. *ibericum* (M.B.) Yaltirik) درختی مناسب برای احیای جنگل‌های خشک و نیمه‌خشک نواحی کوهستانی به‌شمار می‌آید. این گونه، درختی کوچک و نورپسند است و ارتفاع آن تا ۸ متر می‌رسد. پراکنش جهانی آن قفقاز، شمال‌شرقی ترکیه، شمال و شمال‌غرب ایران است (Van Gelderen, 1994). پایین‌ترین ارتفاع انتشار آن در ایران، رودبار (۶۰۰ متر از سطح دریا) و بالاترین آن پنجاب، واقع در دره هراز (ارتفاع ۲۰۰۰ متر از سطح دریا) است (ثابتی، ۱۳۸۱). روش اصلی ازدیاد و پراکنش کیکم قفقازی استفاده از بذر است و در رویشگاه‌های طبیعی به آسانی جوانه می‌زند، اما به دلایل بکرزایی^۱ و خواب پیچیده، موفقیت تولید نهال آن کم است (Van Gelderen, 1994).

به‌طور کلی، تغییر وضعیت از خواب به جوانه‌زنی را می‌توان با استفاده از بعضی تیمارها متناسب با شرایط طبیعی رویشگاه پایه‌های مادری برطرف کرد. این درحالی است که برخی نیازهای فیزیولوژیک بذرهای دارای خواب به کمک خراش‌دهی (مکانیکی و شیمیایی)، شست‌وشو در جریان آب، نگهداری خشک^۲، شرایط سرد و مرطوب^۳، نور، دود و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی (مانند اسید جیبرلیک و سیتوکینین و غیره) قابل برطرف شدن است (Finch-Savage and Leubner-Metzger, 2006).

جوانه‌زنی با تأخیر، از ویژگی‌های ذاتی و بارز گونه‌های جنس افرا است؛ هرچند که ماهیت و شکل ظهور خواب در همه گونه‌های آن یکسان نیست (Bewley and Black, 1982). مطالعات زیادی در مورد روش‌های شکست خواب بذر گونه‌های جنس افرا به کمک تیمارهای لایه‌گذاری و استفاده از ترکیبات شیمیایی انجام گرفته است. در این راستا می‌توان به مطالعه^۱ تأثیر لایه‌گذاری سرد در بذر گونه‌های *A. trautvetterii* Medv. (Yilmaz, 2006)، افرای هیمالیایی یا *A. caesium* Wall. ex. Brandis (Phartyal et al., 2003)، سیاه‌کرکو یا *A. monspessulanum* L. subsp. *Turcomanicum* (Pojark.) (صلواتی و همکاران، ۱۳۹۲)، کیکم *A. monsspesulanum* L. (نصیری، ۱۳۸۷؛ ۲) تأثیر دمای فراسرد در کیکم *A. monsspesulanum* L. (حاتمی و همکاران، ۱۳۸۹؛ و ۳) تأثیر تیمارهای لایه‌گذاری گرم-سرد در افرای کرب *A. campestre* L. (ناصری و طبری، ۱۳۹۴) اشاره کرد. البته، در برخی گونه‌ها، ترکیبات شیمیایی مثل اسید جیبرلیک یا اتیلن می‌توانند جایگزین اثر دمای کم برای شکست خواب بذر شده و سبب تحریک جوانه‌زنی شوند (Bewley et al., 2012).

به‌رغم تأثیر قوی محرک‌های شیمیایی و هورمونی مانند جیبرلین (Kucera et al., 2005) و آب اکسیژنه (Imani et al., 2001) بر شکست خواب و تحریک جوانه‌زنی بذر، اثر این ترکیبات در مورد بذر گونه‌های جنس افرا، به‌جز چند مطالعه محدود، کمتر بررسی شده است (Phartyal et al., 2003). با توجه به مشکلات جوانه‌زنی و ندرت اطلاعات تیمار بذر کیکم قفقازی و نیز اهمیت زیرگونه‌های کیکم در برنامه‌های توسعه جنگل، هدف این تحقیق، بررسی روش‌های غلبه بر خواب بذر و تأثیر استفاده از محرک‌های جوانه‌زنی به‌منظور معرفی تیمارهای مطلوب برای تحریک جوانه‌زنی و بهبود صفات جوانه‌زنی بذر آن است. در این راستا، دامنه‌ای از

¹ Parthenocarpy² Dry storage³ Moist chilling or cold stratification

۱۰ سانتی متری قرار گرفت. بذرها طی فواصل زمانی ۰/۵، ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت از ظرف خارج شدند و پس از خشک کردن سطحی با کاغذ صافی دوباره وزن شدند. درصد جذب آب به عنوان افزایش توده بذر بر مبنای توده خشک تعیین شد (Baskin et al., 2002).

در ادامه، بذرها را لازم به مدت ۴۸ ساعت در آب خیسانده شدند (Willan, 1985)؛ سپس به اندازه پنج برابر حجم با ماسه استریل مرطوب مخلوط شدند و در کیسه های پلی اتیلنی قرار گرفتند. کیسه های حاوی مخلوط بذر و ماسه ابتدا تحت پیش تیمار گرم (۲۰ درجه سانتی گراد) طی مدت های مختلف (۰، ۴، ۸ و ۱۲ هفته) قرار گرفتند. در پی هر یک از دوره های پیش تیمار گرم، بذرها در قالب سه تکرار ۵۰ تایی در هر یک از محلول های اسیدجیرلیک (GA3) با غلظت های ۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ قسمت در میلیون^۱ و آب اکسیژنه (H₂O₂) با غلظت های ۰، ۱، ۲ و ۳ درصد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند و پس از این مرحله در شرایط لایه گذاری سرد (۲-۴ درجه سانتی گراد) قرار داده شدند. کنترل رطوبت، مشاهده و ثبت پدیده های جوانه زنی در تیمارها به طور هفتگی و طی ۴۱ هفته (با احتساب دوره پیش تیمار گرم) انجام شد. به عبارت دیگر، بذرهایی که به مدت ۰، ۴، ۸ و ۱۲ هفته در پیش تیمار لایه گذاری گرم قرار داشتند به ترتیب به مدت ۴۱، ۳۷، ۳۳ و ۲۹ هفته در لایه گذاری سرد نگهداری شدند و جوانه زنی آنها ثبت شد. شایان ذکر است که طول دوره مناسب برای بررسی جوانه زنی جنس افرا در حدود ۱۰ هفته و حداکثر تا ۲۰ هفته در لایه گذاری سرد است (Baskin and Baskin, 2014). بنابراین، با وجود طولانی بودن زمان قرارگیری در لایه گذاری سرد (بین ۲۹ هفته تا ۴۱ هفته در تیمارهای مختلف)، تمامی بذرها دارای قابلیت جوانه زنی طی ۲۰-۱۰ هفته در خلال این زمان جوانه زدند که موکد این است که با

تیمارهای لایه گذاری گرم و سرد در دوره های زمانی مختلف و استفاده از محرک های شیمیایی به منظور یافتن پاسخ به پرسش های زیر در نظر گرفته شد:

۱. تیمارهای مختلف لایه گذاری تا چه اندازه بر شکست خواب بذر کیکم قفقازی موثرند؟
۲. استفاده از محرک های جوانه زنی تا چه حد قابل جایگزینی با تیمارهای لایه گذاری اند؟

مواد و روش ها

بذرها مورد نیاز از ۱۰ پایه مادری در تاریخ ۱۳۹۰/۸/۱ از جنگل گوگلی، بخش اشک واقع در حوزه جنگل های شرکت فریم، سوادکوه مازندران، با مختصات عرض شمالی ۵۶°۰۰'۳۶ و طول شرقی ۵۹°۱۶'۵۳ در ارتفاع ۱۹۰۰ متری از سطح دریا تهیه شد. بذرها پس از حمل به مرکز بذر جنگلی خزر (کیلومتر ۸ جاده آمل به محمودآباد) در سردخانه (۲-۴ درجه سانتی گراد) نگهداری شد. بذر پایه های مختلف با یکدیگر مخلوط شدند و از میان آنها مقدار لازم برای آزمایش های جوانه زنی و خصوصیات فیزیکی به طور تصادفی جدا شد. در ابتدا، کیفیت های فیزیکی بذر شامل تعیین رطوبت نسبی بذر (دو نمونه به روش آون در دمای ۱۰۳ درجه سانتی گراد به مدت ۱۷ ساعت)، وزن هزاردانه (توزین ۸ تکرار ۱۰۰ تایی و محاسبات بعدی)، خلوص (توزین یک نمونه ۱۰۰ گرمی، جداسازی ناخالصی ها و محاسبات لازم) و مشخصات فیزیولوژیکی توده بذر (زندهمانی به روش آزمایش تترازولیوم) براساس مقررات انجمن بین المللی آزمون بذر (ISTA, 2009)، تعیین شد. بر اساس نتایج، نمونه های بذر دارای زندهمانی ۷۰ درصد، رطوبت ۱۲/۴ درصد، خلوص ۹۰ درصد و وزن هزاردانه ۷۳/۹ گرم بودند.

برای آزمایش جذب آب، ابتدا ۴۰ عدد بذر سالم (در چهار تکرار ۱۰ تایی) با ترازوی حساس (Sartorius- TS 153S, d=0.001gr) وزن شد و در دمای اتاق روی کاغذ صافی مرطوب داخل پتری دیش

¹ Part per million (ppm)

اسیدجیبرلیک چهار سطح؛ ۲. لایه‌گذاری ۴ سطح و آب اکسیژنه چهار سطح، بر مبنای طرح پایه کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل و با سه تکرار ۵۰ تایی انجام گرفت. داده‌های حاصل از درصد جوانه‌زنی و پارامترهای آن با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۷) تجزیه آماری شدند. ابتدا شرط نرمال بودن داده‌ها به کمک آزمون Shapiro-Wilk و همگنی واریانس داده‌ها به کمک آزمون Levene بررسی شد. تجزیه واریانس با آزمون GLM (General Linear Model) و مقایسه میانگین‌ها با آزمون Tukey-HSD ($p < 0.05$) انجام گرفت.

توجه به سرشت بذره‌های افرا، جوانه‌زنی در دوره لایه‌گذاری سرد رخ داده است (Phartyal *et al.*, 2003). با این حال، بذره‌های جوانه‌زده به محیط گرم ژرمیناتور انتقال یافتند، اما در این محیط هیچ جوانه‌زنی مشاهده نشد. در این تحقیق، مولفه‌هایی چون درصد جوانه‌زنی^۱ (خروج ریشه‌چه به اندازه ۲ میلی‌متر)، زمان شروع جوانه‌زنی^۲، سرعت جوانه‌زنی^۳ و زمان جوانه‌زنی ۵۰ درصد^۴ با استفاده از فرمول‌های مربوط در جدول ۱ محاسبه و تعیین شد. هر کدام از دو آزمایش ۱. لایه‌گذاری چهار سطح و

جدول ۱- روابط استفاده‌شده در محاسبه جوانه‌زنی و مؤلفه‌های آن

منبع	فرمول	مؤلفه جوانه‌زنی
	$n*100/N$	درصد جوانه‌زنی (G)
Mathews and Powell, 2012	زمان طی شده از شروع جذب آب تا خروج ریشه‌چه	زمان شروع جوانه‌زنی
Wardle <i>et al.</i> , 1991	$S = (N_1 \times 1) + (N_2 - N_1) \times 1/2 + \dots (N_n - N_{n-1}) \times 1/n$	سرعت جوانه‌زنی
Josep and Maria, 2002	$T50 = t_i + \{(N_x/2) - n_i\} * (t_i - t_j) / n_i - n_j$	زمان جوانه‌زنی ۵۰ درصد
n		تعداد بذره‌های جوانه‌زده
N		تعداد بذره‌های کاشته‌شده
$N_1, N_2, N_3, \dots, N_n$		تعداد بذره‌های جوانه‌زده روزهای اول، دوم، سوم...
N_x		تعداد کل بذره‌های جوانه‌زده (در فرمول (T_{50}))
n_i, n_j		تعداد تجمعی بذره‌های جوانه‌زده روزهای t_i و t_j وقتی که $n_i < N/2 < n_j$

نتایج

۳۵ روند افزایشی داشت و سپس تا انتهای دوره ثابت ماند. البته، بذره‌هایی که لایه‌گذاری گرم را طی نکردند چند هفته زودتر (یعنی در هفته ۱۹) شروع به جوانه‌زنی کردند و تا هفته ۲۷ به‌طور تراکمی جوانه‌زنی داشتند. بذره‌هایی که چهار هفته لایه‌گذاری گرم شدند، جوانه‌زنی شان در هفته ۱۹ شروع شد و در هفته ۲۸ به پایان رسید و سپس تا پایان دوره ثابت ماند (شکل ۲).

بررسی روند جذب آب در بذر کیکم قفقازی طی یک دوره ۲۴ ساعته نشان داد که بیشینه افزایش توده بذر در نیم ساعت اول به حدود ۴۰ درصد و طی ۲۴ ساعت نزدیک به ۹۰ درصد وزن توده اولیه رسید (شکل ۱). به این ترتیب می‌توان گفت پوسته چوبی بذر این گونه، نسبت به آب نفوذپذیر است.

بذره‌هایی که مدت ۸ و ۱۲ هفته‌ای را در لایه‌گذاری گرم گذراندند، پس از طی دوره لایه‌گذاری سرد، جوانه‌زنی شان دیرتر و به ترتیب در هفته‌های ۲۳ و ۲۵ آغاز شد، طوری که به ترتیب تا هفته ۳۱ و

^۱ Germination percentage

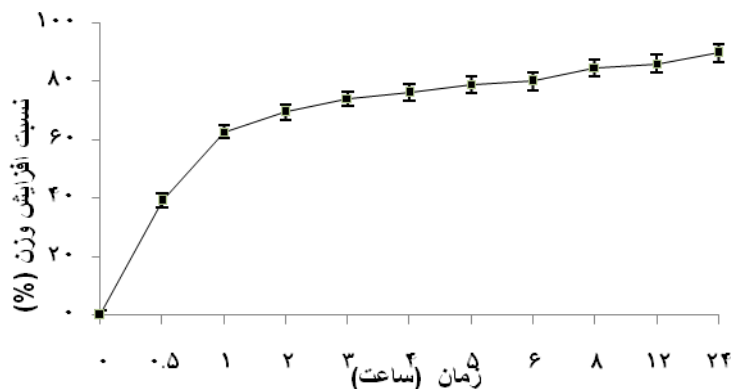
^۲ Lag time

^۳ Germination speed

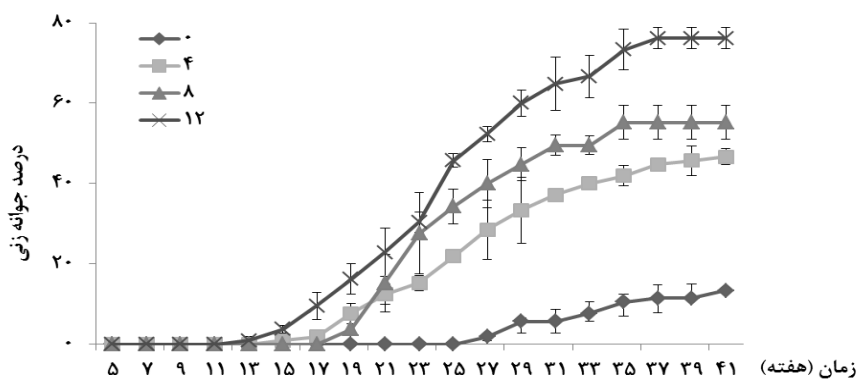
^۴ T_{50}

لایه‌گذاری و غلظت آب اکسیژنه و تأثیر متقابل آن دو بر دیگر صفات جوانه‌زنی نیز معنی‌دار بود (جدول ۲).

مطابق آنالیز واریانس، تأثیر لایه‌گذاری و غلظت اسید جیبرلیک و نیز تأثیر متقابل آن دو، بر صفات مختلف جوانه‌زنی معنی‌دار بود. به‌طور مشابه، تاثیر



شکل ۱- منحنی روند جذب آب به‌وسیله بذرهای سالم کیکم قفقازی



شکل ۲- درصد جوانه‌زنی تجمعی بذر کیکم قفقازی تحت تأثیر مدت پیش‌ تیمار گرم (در دوره لایه گذاری گرم- سرد ۴۱ هفته)

جدول ۲- آنالیز واریانس اثرهای اصلی و متقابل لایه‌گذاری و غلظت محرک‌ها بر مؤلفه‌های جوانه‌زنی بذر کیکم قفقازی

زمان جوانه‌زنی ۵۰٪		سرعت جوانه‌زنی		زمان شروع جوانه‌زنی		درصد جوانه‌زنی		d.f.	منابع تغییر	
P value	F value	P value	F value	P value	F value	P value	F value			
<۰/۰۰۲	۶/۱۵	<۰/۰۰۱	۱۶/۸	<۰/۰۰۱	۵۱/۲	<۰/۰۰۱	۳۰۳/۱	۳	لایه‌گذاری	جیبرلیک
<۰/۰۰۶	۴/۸۲	<۰/۰۱۱	۴/۳	<۰/۰۰۱	۳۶/۹	<۰/۰۰۱	۴۷/۱	۳	غلظت	
<۰/۰۴۷	۲/۲۱	<۰/۰۰۱	۸/۰۴	<۰/۰۰۱	۱۶/۶	<۰/۰۰۱	۵/۸۹	۹	لایه‌گذاری × غلظت	
<۰/۰۰۱	۱۸/۸۳	<۰/۰۰۱	۱۶/۶	<۰/۰۰۱	۱۰۷/۳	<۰/۰۰۱	۲۶۷/۴	۳	لایه‌گذاری	آب اکسیژنه
<۰/۰۰۱	۱۴/۹۶	<۰/۰۰۱	۱۷/۷	<۰/۰۰۱	۹۵/۸	<۰/۰۰۱	۷۳/۴	۳	غلظت	
<۰/۰۰۱	۱۲/۴۸	<۰/۰۰۱	۱۵/۱	<۰/۰۰۱	۳۶/۶	<۰/۰۰۱	۱۳/۴	۹	لایه‌گذاری × غلظت	

افزایشی داشت (حدود چهار بذر سبز شده در هفته در لایه‌گذاری ۱۲ هفته گرم). بر عکس، زمان جوانه‌زنی هم بدون استفاده از محرک (فقط در لایه‌گذاری)، با افزایش دوره لایه‌گذاری گرم روند کاهشی نشان داد. در حقیقت، در دوره لایه‌گذاری گرم ۱۲ هفته‌ای ۵۰ درصد بذرها در هفته ششم، و در شرایط اعمال اسید جیبرلیک و آب اکسیژنه بعد از هفته‌های هفتم و هشتم سبز شدند.

در دوره‌های لایه‌گذاری گرم (به‌ویژه ۸ و ۱۲ هفته)، جوانه‌زنی در بذرهایی که به اسید جیبرلیک و آب‌اکسیژنه آغشته نشده بودند زودتر آغاز شد (شکل ۳).

بیشترین درصد جوانه‌زنی در پیش‌تیمار لایه‌گذاری گرم به مدت ۱۲ هفته (بدون استفاده از اسیدجیبرلیک) به میزان ۷۶/۳ درصد بود. در شرایط پیشینه دوره لایه‌گذاری گرم، هنگامی که از اسیدجیبرلیک و آب‌اکسیژنه استفاده شد، در همه غلظت‌ها جوانه‌زنی به ترتیب، ۶۰ تا ۶۴ درصد (جدول ۳) و ۴۸ تا ۷۳ درصد بود (جدول ۴).

با توجه به جدول‌های ۳ و ۴ می‌توان گفت بدون استفاده از محرک (فقط در لایه‌گذاری)، با افزایش دوره لایه‌گذاری گرم، زمان شروع جوانه‌زنی زودتر آغاز شد. سرعت جوانه‌زنی بدون استفاده از محرک (فقط در لایه‌گذاری)، با افزایش دوره لایه‌گذاری گرم و نیز در شرایط استفاده از محرک، در برخی غلظت‌ها روند

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های مؤلفه‌های جوانه‌زنی بذر کیکم قفقازی تحت تأثیر مدت پیش‌تیمار گرم و اسید جیبرلیک

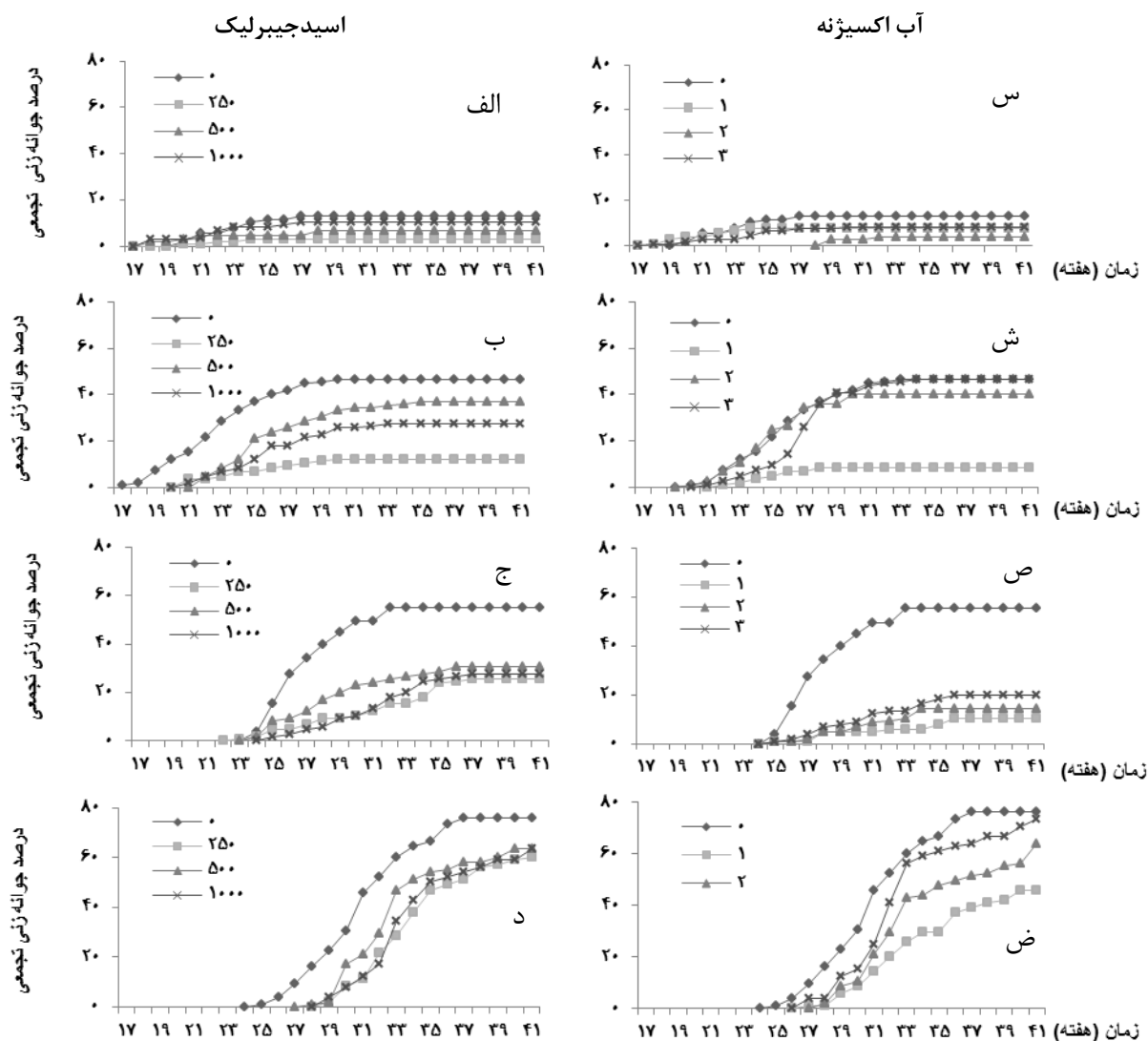
مؤلفه	غلظت (میلی‌گرم‌التر)	دوره پیش‌تیمار گرم (هفته)				.	غلظت	مؤلفه	
		۱۲	۸	۴	۰				
درصد جوانه‌زنی	۰	۷۶/۳ ± ۴/۰	Aa	۵۵/۰ ± ۲/۶	Ba	۴۵/۶ ± ۲/۶	Ba	۱۳/۰ ± ۱/۷	Ca
	۲۵۰	۶۰/۰ ± ۴/۵	Ab	۲۶/۰ ± ۱/۷	Bb	۱۲/۳ ± ۰/۹	CC	۳/۰ ± ۰/۰	Cb
	۵۰۰	۶۴/۰ ± ۲/۶	Aab	۳۰/۳ ± ۲/۳	Bb	۳۷/۰ ± ۳/۴	Bab	۸/۶ ± ۱/۴	Cab
	۱۰۰۰	۶۴/۰ ± ۲/۰	Aab	۲۷/۶ ± ۳/۲	Bb	۲۷/۶ ± ۱/۶	Bb	۱۳/۳ ± ۳/۳	Ca
زمان شروع جوانه‌زنی (هفته)	۰	۱۳/۶ ± ۰/۳	Cd	۱۶/۳ ± ۰/۳	Bb	۱۵/۰ ± ۰/۵	BCab	۲۰/۳ ± ۰/۳	Aab
	۲۵۰	۲۵/۰ ± ۰/۵	Aa	۱۹/۶ ± ۰/۸	BCab	۱۷/۶ ± ۰/۶	Ca	۲۳/۰ ± ۱/۱	ABa
	۵۰۰	۲۰/۰ ± ۰/۵	ABb	۲۱/۰ ± ۰/۹	Aa	۱۴/۰ ± ۰/۰	Cb	۱۶/۶ ± ۱/۳	BCb
	۱۰۰۰	۱۷/۰ ± ۰/۵	BC	۲۲/۳ ± ۰/۸	Aa	۱۰/۰ ± ۰/۹	CC	۱۸/۰ ± ۰/۰	Bb
سرعت جوانه‌زنی (تعداد/هفته)	۰	۳/۰ ± ۰/۴	Aa	۳/۶ ± ۰/۱	Aa	۲/۵ ± ۰/۴	Aa	۱/۴ ± ۰/۰	Ba
	۲۵۰	۴/۶ ± ۰/۳	Aa	۱/۵ ± ۰/۱	Bb	۲/۱ ± ۰/۳	Ba	۱/۰ ± ۰/۰	Ba
	۵۰۰	۴/۷ ± ۰/۶	Aa	۲/۸ ± ۰/۲	Bb	۲/۹ ± ۰/۵	Ba	۱/۴ ± ۰/۲	Ba
	۱۰۰۰	۴/۷ ± ۰/۲	Aa	۲/۱ ± ۰/۳	Bb	۲/۰ ± ۰/۲	Ba	۱/۸ ± ۰/۲	Ba
زمان جوانه‌زنی ٪۵۰ (هفته)	۰	۶/۳ ± ۰/۱	Ba	۶/۰ ± ۰/۹	Bb	۶/۹ ± ۰/۴	Ba	۹/۸ ± ۱/۱	Aa
	۲۵۰	۸/۱ ± ۱/۱	Aa	۹/۷ ± ۲/۰	Aab	۷/۸ ± ۱/۲	Aa	۱۰/۸ ± ۱/۵	Aa
	۵۰۰	۷/۰ ± ۰/۲	Aa	۷/۰ ± ۱/۹	Aab	۸/۶ ± ۰/۲	Aa	۹/۸ ± ۲/۸	Aa
	۱۰۰۰	۷/۹ ± ۱/۴	Aa	۱۰/۶ ± ۱/۰	Aa	۹/۲ ± ۱/۷	Aa	۸/۵ ± ۰/۵	Aa

حروف بزرگ مبین تفاوت‌های معنی‌دار در هر ردیف (اثر پیش‌تیمار گرم) و حروف کوچک نشان‌دهنده تفاوت‌ها در هر ستون (سطوح غلظت) است.

جدول ۴- مقایسه میانگین‌های مؤلفه‌های جوانه‌زنی بذر کیکم قفقازی تحت تأثیر مدت پیش‌ تیمار گرم و آب‌اکسیژنه

مولفه	غلظت (/.)	دوره پیش‌ تیمار گرم (هفته)			
		۱۲	۸	۴	۰				
درصد جوانه‌زنی	۰	۷۶/۳ ± ۴/۰	Aa	۵۵/۰ ± ۲/۶	Ba	۴۵/۶ ± ۲/۶	Ba	۱۳/۰ ± ۲/۰	Ca
	۱	۴۸/۵ ± ۵/۷	AC	۱۰/۴ ± ۲/۶	Bb	۸/۵ ± ۱/۶	Bb	۷/۶ ± ۰/۹	Bab
	۲	۵۶/۱ ± ۳/۴	AbC	۱۸/۰ ± ۲/۵	Cb	۳۹/۹ ± ۲/۸	Ba	۳/۸ ± ۰/۶	Db
	۳	۷۳/۳ ± ۲/۵	Aab	۲۰/۰ ± ۱/۶	Cb	۴۶/۶ ± ۳/۴	Ba	۸/۵ ± ۱/۶	Dab
زمان شروع جوانه‌زنی (هفته)	۰	۱۳/۶ ± ۰/۶	CC	۱۶/۳ ± ۰/۶	BbC	۱۵/۰ ± ۱/۰	BCa	۲۰/۳ ± ۰/۶	Aab
	۱	۲۴/۳ ± ۱/۲	Aa	۲۱/۰ ± ۱/۷	Ba	۱۸/۰ ± ۱/۰	BCa	۱۷/۱ ± ۰/۶	CC
	۲	۲۱/۰ ± ۰/۰	Bb	۱۶/۶ ± ۱/۵	Cb	۱۱/۶ ± ۰/۶	Db	۲۹/۱ ± ۰/۶	ACa
	۳	۱۵/۰ ± ۰/۰	ABC	۱۲/۶ ± ۱/۵	BCC	۹/۰ ± ۲/۰	Cb	۱۷/۶ ± ۱/۵	AC
سرعت جوانه‌زنی (تعداد/هفته)	۰	۳/۸ ± ۰/۴	Aa	۳/۶ ± ۰/۱	Aa	۲/۵ ± ۰/۴	Aa	۱/۴ ± ۰/۰	Ba
	۱	۲/۶ ± ۰/۴	Aa	۱/۲ ± ۰/۰	Bb	۱/۶ ± ۰/۱	Bb	۱/۴ ± ۰/۰	Ba
	۲	۳/۰ ± ۰/۲	Aa	۱/۶ ± ۰/۱	Bb	۲/۳ ± ۰/۱	Bab	۱/۰ ± ۰/۰	Ba
	۳	۲/۸ ± ۰/۴	Aa	۱/۹ ± ۰/۲	ABb	۳/۴ ± ۰/۳	Aa	۱/۳ ± ۰/۱	Ba
زمان جوانه‌زنی ٪۵۰ (هفته)	۰	۶/۳ ± ۰/۱	Bb	۶/۰ ± ۰/۹	Aa	۶/۹ ± ۰/۴	Ba	۹/۸ ± ۱/۱	Aa
	۱	۸/۹ ± ۱/۴	Aa	۷/۱ ± ۱/۴	Aa	۷/۱ ± ۰/۷	Aa	۶/۸ ± ۰/۷	Ba
	۲	۷/۸ ± ۰/۸	Aab	۸/۵ ± ۱/۳	Ba	۷/۲ ± ۰/۹	Ba	۱۶/۵ ± ۱/۷	Aa
	۳	۷/۶ ± ۰/۳	Aab	۷/۵ ± ۰/۵	Aa	۸/۵ ± ۱/۰	Aa	۷/۸ ± ۲/۰	Ba

حروف بزرگ مبین تفاوت‌های معنی‌دار در ردیف (اثر پیش‌ تیمار گرم) و حروف کوچک نشان‌دهنده تفاوت‌ها در ستون (سطوح غلظت) است.



شکل ۳- مقایسه اثر دوره پیش تیمار گرم (در دوره لایه‌گذاری گرم-سرد ۴۱ هفته)

و غلظت محرک‌ها بر جوانه‌زنی بذر کیکم قفقازی

(الف) اسید جیبرلیک با پیش تیمار گرم صفر هفته، (ب) پیش تیمار گرم ۴ هفته، (ج) پیش تیمار گرم ۸ هفته، (د) پیش تیمار گرم ۱۲ هفته (س) آب اکسیژنه با پیش تیمار گرم صفر هفته، (ش) پیش تیمار گرم ۴ هفته، (ص) پیش تیمار گرم ۸ هفته، (ض) پیش تیمار گرم ۱۲ هفته

بحث

این تیمار (۱۲ هفته گرم)، و در پی لایه‌گذاری سرد (۲۹ هفته)، جوانه‌زنی حداکثر (حدود ۷۶ درصد) مشاهده شد. این درحالی است که لایه‌گذاری سرد به تنهایی (بدون پیش تیمار لایه‌گذاری گرم) توانست فقط ۱۳ درصد از بذرها را به جوانه‌زنی وادارد. همچنین محققان در این زمینه به تأثیر مختلف پیش تیمار گرم در تحریک جوانه‌زنی بذر شامل

نتایج این تحقیق بر تأثیر قوی، مثبت و معنی‌دار افزایش دوره پیش تیمار گرم بر افزایش درصد جوانه‌زنی و تغییر مثبت صفات آن در بذر گونه کیکم قفقازی طی لایه‌گذاری سرد تاکید دارد. پیش تیمار لایه‌گذاری گرم سبب افزایش اثربخشی لایه‌گذاری سرد در بذرها شد، طوری که تحت تأثیر بیشینه دوره

حدود ۲۶ درصد منجر شد. در دسته‌بندی جدید خواب بذر، برای رفع شکست خواب سطوح مختلفی از خواب‌های فیزیولوژیک و مورفوفیزیولوژیک، از لایه‌گذاری گرم-سرد استفاده شده است (Baskin and Baskin, 2014). به‌طور کلی، می‌توان اظهار داشت لزوم دوره‌های طولانی لایه‌گذاری سرد (بین ۱۴ تا ۱۶ هفته) پیش از شروع جوانه‌زنی، در تمام پیش‌تیمارهای استفاده‌شده در تحقیق حاضر بر احتمال وجود خواب فیزیولوژیک عمیق در بذر این گونه دلالت دارد (Baskin and Baskin, 2004).

اصولاً، تسهیل فرایند جوانه‌زنی بذر و ارتقای صفات آن به‌کمک هورمون‌ها از فراگیرترین روش‌ها تلقی شده است (Mehanna et al., 1985). توان جیبرلین‌ها در غلبه خواب بذر تحت لایه‌گذاری سرد در گونه‌های افرا (*A. caesium*, *A. pseudoplatanus*, *A. saccharum* Marsh. Goldstein and Loescher, 1981; Phartyal et al., 2003). در بذر کیکم قفقازی اثر اسید جیبرلیک، هم در نتایج کلی و هم در روند تغییرات، تشابه زیادی با شرایط عدم استفاده از این ترکیب نشان می‌دهد. با اینکه در کلیه صفات (درصد جوانه‌زنی، زمان شروع جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و زمان جوانه‌زنی ۵۰ درصد) کاهش جزئی (بدون تفاوت معنی‌دار یا معنی‌داری اندک) نسبت به شرایط عدم استفاده از این ترکیب مشاهده می‌شود. نکته شایان توجه این است که، روند تغییرات، متناسب با افزایش دوره لایه‌گذاری گرم و نیز افزایش غلظت این ترکیب است. در مجموع، می‌توان اظهار داشت که پاسخ بذر کیکم قفقازی به اسید جیبرلیک، مشابه گونه‌های دارای خواب فیزیولوژیک عمیق از جمله افرای قندی است (Nikolaeva, 1970, 1977).

تأثیر استفاده از پیش‌تیمار آب اکسیژنه به‌عنوان یکی از ترکیبات اکسیدکننده بر شکست خواب بذر از گذشته شناخته شده است (Jann and Amen, 1977). در تحقیق پیش رو، بذره‌های کیکم قفقازی پاسخ

افزایش نفوذپذیری آندوکارپ استخوانی، نرم کردن پوسته‌های چوبی، تکمیل رشد جنین‌های نارس در گونه‌های دارای خواب مورفوفیزیولوژیک، و نیز کمک برای شکست برخی انواع خواب فیزیولوژیک، اشاره کرده‌اند (Baskin et al., 2002; Baskin and Baskin, 2004; Bonner and Karrfalt, 2008).

به‌طور کلی، استفاده از لایه‌گذاری سرد برای تحریک جوانه‌زنی بذر تیماری موفق در مورد گونه‌های افرا بیان شده است. از جمله، می‌توان به سیاه‌کرکو (صلواتی و همکاران، ۱۳۹۲)، افرای چناری یا *A. platanoides* L. (Baskin and Baskin, 2014)، افرای تراوتتری یا *A. trautvetterii* (Yilmaz, 2006)، افرای هیمالیایی یا *Acer caesium* Wall. ex. Brandis (Phartyal et al., 2003) اشاره کرد که شکست خواب فیزیولوژیک عمیق در آنها نیازمند لایه‌گذاری سرد بین ۱۲ تا ۲۸ هفته است. این درحالی است که استفاده از لایه‌گذاری گرم فقط در برخی افراها از جمله *A. circinatum* Pursh. (۶۰-۳۰ روز لایه‌گذاری گرم سپس ۱۸۰-۹۰ روز لایه‌گذاری سرد)، افرای صخره‌ای یا *A. glabrum* Torr. (تا ۱۸۰ روز لایه‌گذاری گرم و ۱۸۰ روز لایه‌گذاری سرد) گزارش شده است (Bonner and Karrfalt, 2008). در مورد افرای کرب نیز بیشترین درصد جوانه‌زنی (۵۳ درصد) در لایه‌گذاری ۸۴ روز گرم و سپس ۱۵۴ روز سرد اتفاق افتاد (ناصری و طبری، ۱۳۹۴).

در کل، از نظر مدت لایه‌گذاری گرم و سرد مورد نیاز برای تحریک جوانه‌زنی، بذر کیکم قفقازی، مشابهت زیادی با افراهای *A. ginnala* Maxim. و *A. campestre* نشان داده است. البته، نصیری (۱۳۸۷) با مطالعه بذر کیکم مبدأ چهارطاق اردل، سرمادهی در بستر ماسه به‌مدت ۶ ماه را که سبب جوانه‌زنی ۳۳ درصد بذرها شد تیمار مناسب شکست خواب بذر معرفی کرد در حالی که لایه‌گذاری گرم در دمای متناوب ۱۵-۲۵ °C و سپس اعمال سرما طی سه ماه در بستر ماسه، به جوانه‌زنی

منابع

- ثابتی، حبیب ا.، ۱۳۸۱. جنگل‌ها، درختان و درختچه‌های ایران، دانشگاه یزد، چاپ سوم، ۸۲۶ ص.
- حاتمی، فیروزه، مریم جبلی، محبت‌علی نادری شهاب، مسعود طبری و علی‌اشرف جعفری، ۱۳۸۹. نگهداری بذر کیکم (*Acer monspessulanum*) در شرایط فراسرد، تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۱۸ (۱): ۱۲-۲۳.
- صلواتی، غفار، وحیده پیام نور، محمدرضا کاوسی و علی‌رضا علی‌عرب، ۱۳۹۲. رفتار ذخیره‌ای و حساسیت به خشکی بذره‌های سیاه کرکو، جنگل و فرآورده‌های چوب، ۶۶ (۳): ۲۹۳-۳۰۴.
- ناصری، بهرام و مسعود طبری کوچکسرایبی، ۱۳۹۴. اثر اسید جیبرلیک و لایه‌گذاری بر شکست خواب بذر افرای کرب (*Acer campestre L.*)، جنگل و فرآورده‌های چوب، ۶۸ (۲): ۴۱۹-۴۲۸.
- مظفریان، ولی‌الله، ۱۳۸۳. درختان و درختچه‌های ایران، چاپ اول، فرهنگ معاصر، ۹۹۱ ص.
- نصیری، محسن، ۱۳۸۷. تعیین تیمار مطلوب جهت شکستن خواب و افزایش جوانه‌زنی بذر کیکم (*Acer monspessulanum*)، تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۱۶ (۱): ۹۴-۱۰۵.
- Baskin, C.C., and J.M. Baskin, 2014. Seeds: Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination, *Elsevier*, 1586 pp.
- Baskin, C.C., O. Zackrisson, and J.M. Baskin, 2002. Role of warm stratification in promoting germination of seeds of *Empetrum hermaphroditum* (Empetraceae), a circumboreal species with a stony endocarp, *American Journal of Botany*, 89 (3): 486-493.
- Baskin, J.M., and C.C. Baskin, 2004. A classification system for seed dormancy, *Seed Science Research*, 14: 1-16.
- Bewley, J.D., and M. Black, 1982. Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination. Vol. 2. Viability, dormancy and environmental control, *Springer-Verlag*, 387 pp.
- خوبی به آب اکسیژنه از نظر مقادیر بیشینه و روند تغییرات درصد جوانه‌زنی و صفات آن نشان دادند، طوری که تحت تأثیر بیشینه غلظت آب اکسیژنه و دوره پیش تیمار گرم، بیشینه جوانه‌زنی (۷۳ درصد) افزایش چشمگیری نسبت به اسید جیبرلیک (۶۴ درصد) نشان داد. سرعت جوانه‌زنی تحت تأثیر غلظت‌های مختلف آب اکسیژنه، با افزایش دوره پیش تیمار گرم (همانند شرایط بی‌تأثیری محرک‌ها و نیز اسید جیبرلیک) افزایش یافت.
- به‌طور کلی، با اینکه شکست خواب بذر کیکم قفقازی در شرایط سرد نیز اتفاق افتاد، پیش تیمار گرم سبب افزایش چشمگیر درصد جوانه‌زنی آن شد. از مجموع ۳۲ نوع ترکیب تیمارهای اعمال شده، فقط در هفت مورد جوانه‌زنی بیش از ۵۰ درصد مشاهده شد، که ۶ مورد آنها تحت تأثیر بیشینه دوره لایه‌گذاری گرم (۱۲ هفته) بود. با اعمال اسید جیبرلیک و آب‌اکسیژنه (بدون استفاده از لایه‌گذاری گرم)، جوانه‌زنی به‌ترتیب از ۱۳/۳ و ۸/۵ درصد و سرعت جوانه‌زنی از دو عدد در هفته تجاوز نکرد. البته، روندهای کلی نشان‌دهنده تأثیر مثبت افزایش غلظت اسید جیبرلیک و اثر افزایشی آن همراه با لایه‌گذاری گرم بر مؤلفه‌های مورد بررسی بوده است.
- به این ترتیب، می‌توان اظهار داشت برای رفع خواب بذر کیکم قفقازی استفاده از لایه‌گذاری گرم-سرد (به‌ویژه لایه‌گذاری گرم به مدت ۱۲ هفته)، به جای محرک‌های اسید جیبرلیک و آب‌اکسیژنه، به دلیل اجرای آسان‌تر کار و صرفه‌جویی در هزینه‌ها، منطقی است. ممکن است با افزایش دوره لایه‌گذاری گرم به بیش از ۱۲ هفته (در تیمار لایه‌گذاری تنها، یا همراه با افزایش غلظت‌های اسید جیبرلیک و آب اکسیژنه)، درصد جوانه‌زنی و سایر صفات جوانه‌زنی ارتقا یابد. از این رو، برای تقلیل دوره شکست خواب و افزایش جوانه‌زنی بذر کیکم قفقازی، ادامه کار یا به‌کارگیری روش‌های دیگر پیشنهاد می‌شود.

- Bewley, J.D., K.J. Bradford., H.W.M. Hilhorst, and H. Nonogaki, 2012. Seeds: Physiology of development, germination and dormancy, third ed. *Springer-Verlag*, New York, 392 pp.
- Bonner, F.T., and R.P. Karrfalt, 2008. The woody plant seed manual, Government printing office, 1222 pp.
- Browicz, K., 1984. Chorology of trees and shrubs in South-West Asia and adjacent regions-Polish Scientific Publishers, Warsaw, 87 pp.
- Finch-Savage, W.E., and G. Leubner-Metzger, 2006. Seed dormancy and the control of germination, *New Phytologist*, 171: 501-523.
- Goldstein, J., and W. Loesch, 1981. Germination requirements for *Acer macrophyllum*, bigleaf maple, *Ornamentals Northwest Newsletter* (May-June), 1-15.
- 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-treatment with stratification, *Seed Science and Technology*, 39 (1): 204-207.
- ISTA, 2009. International Rules for Seed Testing. Zurich, *Seed Science and Technology*, 13: 300-520.
- Jann, R.C., Amen, R.D., 1977. What is germination? In: Khan AA (ed.), *The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination*, North Holland publishing, Amsterdam, 7- 28.
- Josep, A.R., and M. Maria, 2002. Seed germination and reproductive features of *Lysimachia minoricensis* (Primulaceae), A wild-extinct plant, *Annals of Botany*, 89: 559-562.
- KuCera, B., M.A. Cohn, and G. Leubner-metzger, 2005. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination, *Seed Science Research*, 15: 281-307.
- Matthews, S. and A. Powell, 2011. Towards automated single counts of radicle emergence to predict seed and seedling vigour, *Seed Testing*, 142: 44-48.
- Mehanna, H.T., G.C. Martin, and C. Nishijima, 1985. Effects of temperature, chemical treatments and endogenous hormone content on peach seed germination and subsequent seedling growth, *Scientia Horticulturae*, 27(1): 63-73.
- Nikolaeva, M.G., 1970. On the hormonal nature of the regulation of deep dormancy of seeds. In: proceedings of the international symposium on seed physiology of woody plants. September 3-8, Kornik, Warszawa, 39-44.
- Nikolaeva, M.G., 1977. Factors controlling the seed dormancy pattern. In: *The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination*, Edited by Khan, A.A., *Elsevier Biomedical Press*, 547 pp.
- Phartyal, S.S., R.C. Thapliyal., J.S. Nayal, and G. Joshi, 2003. Seed dormancy in Himalayan maple (*Acer caesium*) I: Effect of stratification and phyto-hormones, *Seed Science and Technology*, 31(1): 1-11.
- Van Gelderen, D.M., P.C. de Jong, and H.J. Oterdoom, 1994. *Maples of the world*, Timber Press, 457 pp.
- Wardle, D.A., M. Ahmed, and K.S. Nicholson, 1991. Allelopathic influence of nodding thistle (*Carduus nutans* L.) seeds on germination and radicle growth of pasture plants, *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 34(2): 185-191.
- Willan, R.L, 1985. A guide to forest seed handling, with special reference to the tropics, *Forestr, Paper 20/2*. Rome: FAO. 379 p.
- Yilmaz, M., 2006. Depth of dormancy and desiccation tolerance in *Acer trautvetteri* Medv. seeds, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 31: 201-205.

Effect of warm stratification, GA₃ and H₂O₂ on seed germination of Caucasian maple (*Acer monspessulanum* subsp. *ibericum* M.B.)

B. Naseri¹, M. Tabari^{2*}, M. Abedi³, and Sh. Phartyal⁴

¹Ph.D. Student of Forest Ecology, Faculty of Natural Resources, Tarbiat Modares University, I. R. Iran

²Prof., Faculty of Natural Resources, Tarbiat Modares University, I. R. Iran

³Assistant Prof., Faculty of Natural Resources, Tarbiat Modares University, I. R. Iran

⁴Assistant Prof., Department of Forestry and Natural Resources, School of Agriculture and Allied Sciences, HNB Garhwal University, India

(Received: 21 February 2015; Accepted: 18 July 2015)

Abstract

In order to break dormancy and germinate the seeds of Caucasian maple, they were collected from altitude of 1900 m of Gooli Forest located in Savadkooh (north of Iran). Following pre-treatment of warm stratification (0, 4, 8, 12 weeks with 20°C), the seeds were soaked for 24 hours in two separate examinations 1) GA₃ (0, 250, 500, 1000 mg/lit) and 2) H₂O₂ (0, 1, 2, 3%) and immediately moved into cold stratification environment (4°C, for 41 weeks, with consideration of warm stratification period). Both examinations were carried out as factorial with three replicates based on completely randomized design. Water absorption test revealed that in spite of the hard coat, the seeds were permeable to water. Results emphasized the positive effects of warm pretreatment on germination characters, whereas seed germination increased from 13 to 76% and germination speed from 1.4 to 3.8 unit/week. However, the lag time decreased from 20 to 13 weeks and germination period of 50 percent of seeds (T₅₀) from 10 to 6 weeks. Influence of GA₃ and H₂O₂ increased with increase of concentration as well as warm stratification period, whereas GA₃ in 500 and 1000 mg/lit was 64% and H₂O₂ in 2 and 3% was 56 and 73%, respectively. With increasing warm pre-treatment period, the general trend of germination speed enhanced in all concentrations of both promoters. Generally, stratification (warm-cold) without using the promoters mentioned here is easier and more economic for dormancy breaking of Caucasian maple seed.

Keywords: *Acer monspessulanum* subsp. *Ibericum*, Dormancy breaking, Seed germination, Warm stratification.