بررسی اثر تیمار سرمادهی و اسید جیبرلیک بر جوانه‌زنی بذور پنیرباد

طیبه زنده‌دل[*1]، ابراهیم گنجی مقدم [2]، مریم تاتاری [3]
[*1] دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی و اصلاح گیاهان دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیروان
[2] عضو هیئت‌علمی مرکز تحقیقات کشاورزی خراسان رضوی
[3] عضو هیئت‌علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیروان
[*]نویسنده مسئول: t.zendedel@yahoo.com

چکیده

ویتانیا (*Withania somnifera*) یکی از باارزش‌ترین گیاهان خانواده سولاناسه (*Solanaceae*) است که رویش بذرهای آن بسیار ضعیف بوده و سرعت جوانه‌زنی آن در شرایط میدانی بسیار پایین است. در این راستا به‌منظور تعیین مناسب‌ترین روش برای شکستن خواب این گیاه، آزمایشی در قالب طرح فاکتوریل و کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل سرمادهی مرطوب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در سه سطح زمانی (۳، ۶ و ۹ روز)، خیساندن بذرها در هورمون اسید جیبرلیک (۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم در لیتر) به مدت ۲۴ساعت بود. طبق نتایج به‌دست آمده بیشترین درصد (۵۴ درصد) و سرعت جوانه‌زنی (۰/۹ عدد بذر جوانه زده در روز) بذرها در اثر متقابل اسیدجیبرلیک (۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و سرمادهی مرطوب به مدت ۶ روز بود. علاوه بر این سرمادهی مرطوب و اسید جیبرلیک به‌تنهایی بر شکست خواب بذرهای ویتانیا تأثیر معنی‌داری داشتند و به ترتیب جوانه‌زنی را تا ۱۷/۲ و ۱۹/۶ درصد و سرعت جوانه‌زنی را نیز تا ۰/۲ و ۰/۳ عدد بذر جوانه زده در روز افزایش دادند.

***کلمات کلیدی:* ویتانیا سونیفرا، سرمادهی، درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، خواب بذر،**

مقدمه

ویتانیا گیاهی علفی و یکی از گیاهان بومی منطقه بلوچستان است که به دلیل داشتن خاصیت انعقاد شیر، از سوی افراد محلی به‌عنوان مایه پنیر استفاده می‌شود (Ranjbar et al, 2011). این گیاه به‌طورکلی به‌عنوان داروی سقط جنین، ضد آمیبی، ضد باکتریایی و به‌عنوان وسیله جلوگیری از آبستن مفید بوده است (Asthana and Raina, 1989; Devi, 1996).

از مهم‌ترین خصوصیات کیفی بذر که از نظر زراعی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است می‌توان به قدرت جوانه‌زنی بذر و بنیه بذر اشاره کرد. خواب و جوانه‌زنی بذر گیاهان به عوامل ژنتیکی و شرایط محیطی مؤثر بر رشد و نمو بذر بر روی بوته مادری و شرایط پس از برداشت بستگی دارد. به همین جهت در گونه‌ها، ژنوتیپ‌ها، اکوتیپ‌ها و همچنین شرایط محیطی مختلف گزارش‌های متفاوتی وجود دارد (Ranjbar et al, 2011).

به‌منظور ارائه یک روش سریع برای جوانه‌زنی روان و بهینه ویتانیا آزمایشاتی توسط پونیت کانا و همکاران (2013) انجام شد که شامل تأثیر کشت‌های شیمیایی و فیزیکی مختلف، دما، دوره تابش و تنظیم‌کننده‌های رشد و نمو بر توانایی جوانه‌زنی بذر این گونه، که مؤثرترین محیط کشت اسید جیبرلیک با غلظت ۱۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود و دمای بهینه جوانه‌زنی نیز ۲۵ درجه سانتی‌گراد اعلام شد.

بنابراین توسعه روش‌های پرورش و کشت سریع برای این گیاه کاملاً ضروری به نظر می‌رسد تا بهره‌برداری دائمی از آن را تضمین کند (Kambizi et al, 2006). لذا هدف از انجام این پژوهش شناسایی تیمارهای مناسب برای شکستن خواب بذر و جوانه‌زنی روان و بهینه این گیاه چندمنظوره می‌باشد.

مواد و روش‌ها

ارزیابی میزان زنده‌بودن بذرها با محلول ۰/۱ درصد تترازولیوم مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش در قالب طرح فاکتوریل و کاملاً تصادفی با ۴ تکرار (تعداد ۵۰ عدد بذر در هر تکرار) برای تیمارهای زیر انجام گردید.

۱- پیش سرمادهی بذور مرطوب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در سه سطح زمانی (۳، ۶، ۹ روز).

۲- خیساندن بذرها در هورمون اسید جیبرلیک با غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۲۴ ساعت.

محیط‌های کشت شامل دوره‌های خنک‌سازی اولیه ۳، ۶ و ۹ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد بودند. بذرهای ضدعفونی شده به‌طور جداگانه و در زمان ۲۴ ساعت تحت تیمارهای هورمونی با غلظت‌های فوق‌الذکر قرار داده شدند و سپس به انکوباتور (۱ ± ۲۵ درجه سانتی‌گراد) منتقل شدند. در اثر تلفیقی سرمادهی مرطوب و اسید جیبرلیک در سه زمان (۳، ۶، ۹ روز)، بذرهای ضدعفونی و مرطوب شده با غلظت‌های مختلف اسید جیبرلیک در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد درون یخچال آزمایشگاه قرار داده شدند. بعد از طی شدن زمان‌های مذکور، بذرها به ظروف پتری دیش حاوی کاغذ صافی (واتمن) مرطوب منتقل شدند. در نهایت بذور تحت تیمارها، برای جوانه‌زنی به انکوباتور (۱ ±۲۵ درجه سانتی‌گراد با ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) منتقل شدند. نخستین شمارش جوانه‌زنی در نهمین روز و آخرین شمارش سی روز پس از اعمال تیمارها انجام گرفت. بذرهایی که ریشه‌چه آن‌ها قابل‌رؤیت بود (خروج حدود ۲ میلی‌متر ریشه‌چه)، به‌عنوان بذر جوانه زده شمارش و نتایج یادداشت شد. سپس با دو فرمول زیر به ترتیب درصد و سرعت جوانه‌زنی محاسبه گردید (Nabaee et al, 2013).

درصد جوانه‌زنی = (تعداد بذر جوانه زده / تعداد کل بذرها) × ۱۰۰

سرعت جوانه‌زنی = ∑ (تعداد بذر جوانه زده در روز n ام / روز n ام)

داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS تحت آنالیز قرار گرفتند و اختلاف میانگین‌ها با روش دانکن ($P< ۰/۰۵$) مقایسه شدند.

نتایج و بحث

با بررسی نتایج بدست آمده از تیمارهای اعمال شده مشخص گردید که غلظت‌های هورمون به کار رفته و مدت زمان‌های سرمادهی و اثر متقابل آن‌ها بر درصد و سرعت جوانه‌زنی تأثیر معنی‌داری ($P<۰/۰۱$) داشت (جدول ۱).

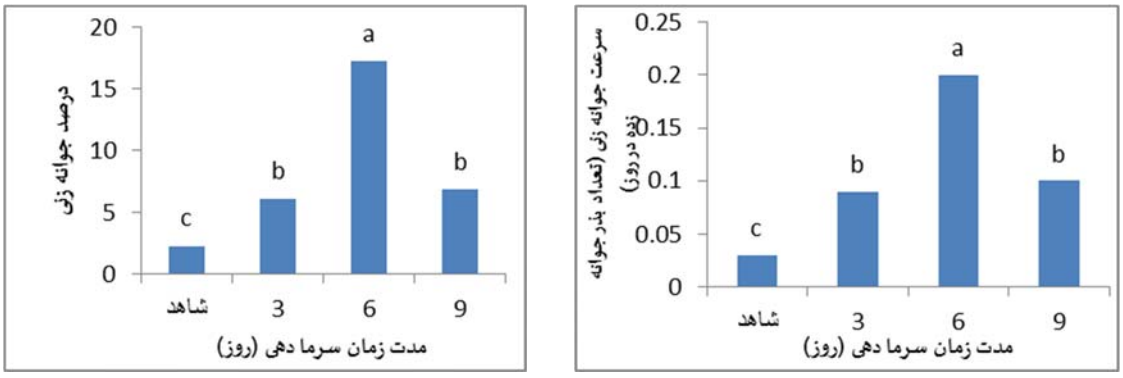
جدول ۱- جدول تجزیه واریانس اثر عوامل آزمایشی و اثر متقابل آن‌ها بر درصد و سرعت جوانه‌زنی بذور پنیرباد.

منابع تغییر	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی
غلظت اسید جیبرلیک	۳	۴۸/۹۲**	۴۹/۵۶**
سرمادهی	۳	۳۰/۳۰**	۳۱/۱۱**
غلظت اسید جیبرلیک+سرمادهی	۹	۲۸/۸۹**	۲۷/۷۳**
خطا	۴۸		

ns، * و ** به ترتیب نشان دهنده غیر معنی‌داری و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد می‌باشد.

تیمار پیش سرمادهی بذور مرطوب

بهترین نتیجه مربوط به سطح زمانی ۶ روز بود که باعث افزایش درصد جوانه‌زنی (۱۷/۲ درصد) شد. بالاترین میزان سرعت جوانه‌زنی یعنی ۰/۲ عدد بذر جوانه زده در روز نیز مربوط به همین تیمار بود (شکل ۱).



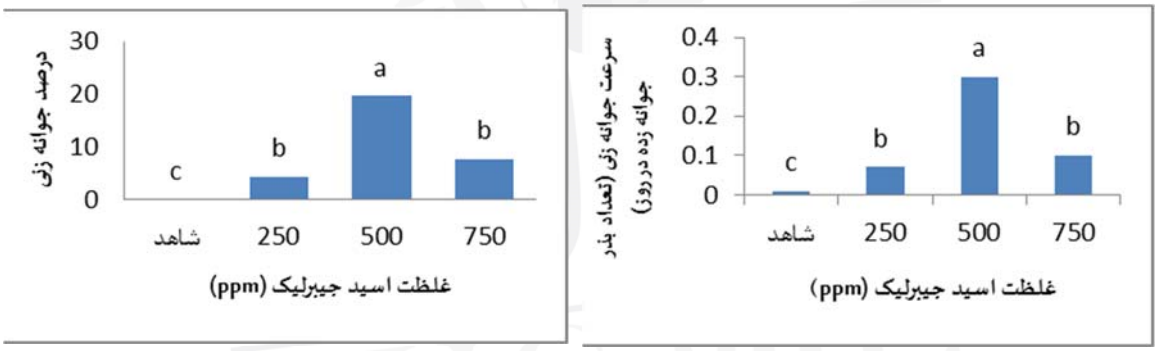
الف ب

شکل ۱- اثر مدت زمان سرمادهی بر الف) سرعت جوانه‌زنی، ب) درصد جوانه‌زنی بذرهای پنیرباد.

مکانیسم واقعی رفع خواب در اثر سرما هنوز شناخته نشده است (Mohammadi, et al, 2011). بعضی از دانشمندان تغییر شکل‌هایی را که در ساختار آنزیمی یا در متابولیسم نوکلئیک اسیدها و یا در ساختار کلوئیدی با افزایش آبدوستی و غیره روی می‌دهند را عامل این امر دانسته‌اند. همچنین کاهش یا حذف بازدارنده‌های جوانه‌زنی درون بذر مثلاً کاهش میزان آبسزیک اسید و یا فعال کردن و سنتز جیبرلین را نیز از جمله تأثیرات سرما دانسته‌اند (Koornneff et al, 2002 ; Yamaguchi and Kamiya, 2000).

تیمار اسید جیبرلیک

مطابق شکل (۲)، بهترین سرعت جوانه‌زنی برای غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام به دست آمده است اما در غلظت ۷۵۰ پی پی ام تا اندازه زیادی از درصد و سرعت جوانه‌زنی کاسته شد که این بیانگر این موضوع می‌باشد که غلظت هورمون تا یک حدی باعث افزایش جوانه‌زنی در این بذور می‌شود و بیش‌تر از آن اثر منفی داشته و جوانه‌زنی را کاهش می‌دهد.



الف ب

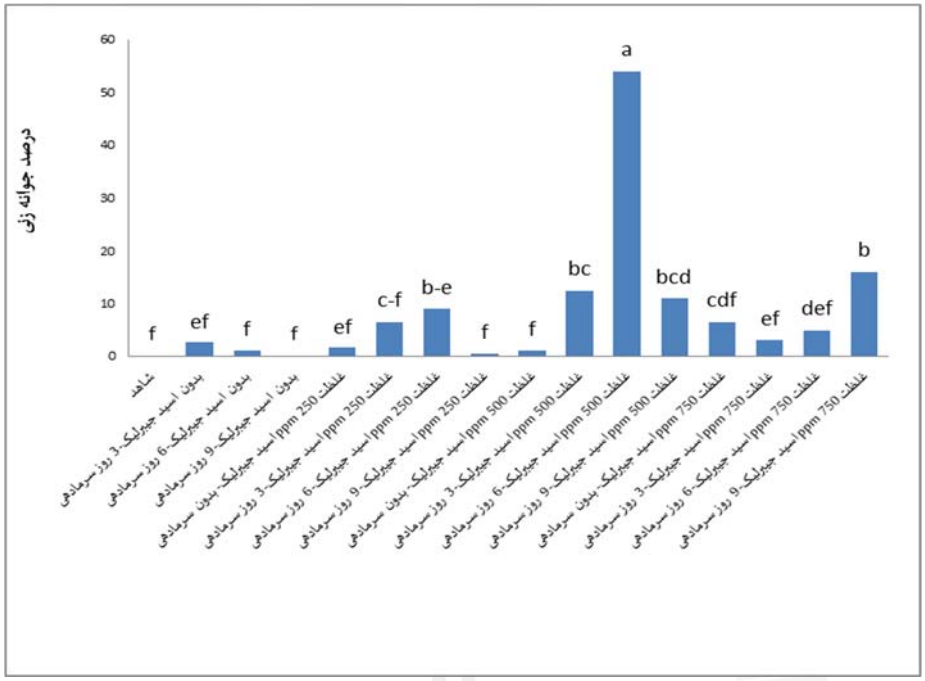
شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف اسید جیبرلیک بر الف) سرعت جوانه‌زنی، ب) درصد جوانه‌زنی بذرهای پنیرباد.

یکی از دلایل اثر مثبت محرک‌های شیمیایی مانند اسید جیبرلیک بر جوانه‌زنی احتمالاً مربوط به تعادل رسیدن نسبت هورمونی در بذر و کاهش مواد بازدارنده‌های رشد مانند اسید آبسزیک می‌باشد. به‌عبارت‌دیگر اسید جیبرلیک به‌عنوان یک محرک شیمیایی می‌تواند سبب شکستن خواب فیزیولوژیکی بذر شود. اسید جیبرلیک از طریق القا بیوسنتز آنزیم آلفا آمیلاز باعث شروع جوانه‌زنی و در نتیجه شکست خواب بذر گیاهان می‌شود. در دانه در حال جوانه‌زنی، اسید جیبرلیک توسط رویان ساخته می‌شود و از رویان به اسکوتلوم می‌رود و سپس به درون اندوسپرم منتشر می‌شود تا به لایه آلرون برسد. در آنجا اسید جیبرلیک باعث آزاد شدن آنزیم‌های هیدرولیتیکی، از جمله α-آمیلاز می‌شود که متعاقباً این آنزیم‌ها باعث شکسته شدن نشاسته به الیگوساکاریدها می‌شوند. پس از آن الیگوساکاریدها طی مراحلی به گلوکز شکسته می‌شوند. این امر باعث کاهش پتانسیل آب سلول و در نتیجه تسهیل

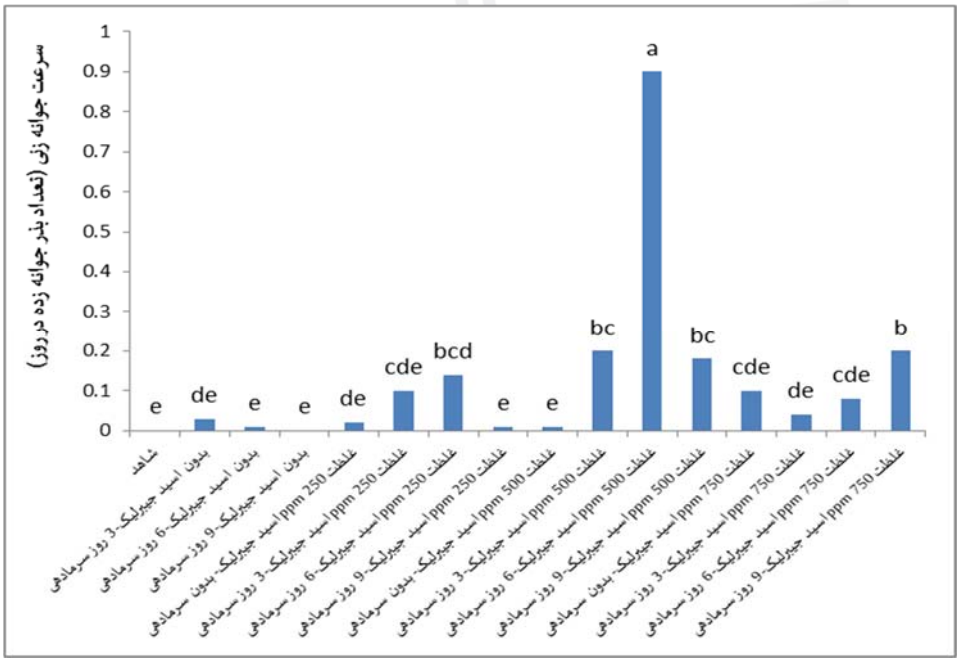
ورود آب به درون سلول می‌شود. به دنبال این فرآیند طویل شدن سلول رخ می‌دهد (Nabaee et al, 2011). مشابه این نتایج در تحقیقات عدالت فر و همکاران (2014) نیز اثبات شده است.

اثر متقابل اسید جیبرلیک و سرمادهی مرطوب

بیشترین درصد جوانه‌زنی (۵۴ درصد) از اثر متقابل اسید جیبرلیک (در غلظت ۵۰۰ پی پی ام) و سرمادهی به مدت ۶ روز به دست آمد. همچنین بیشترین سرعت جوانه‌زنی (۰/۹ عدد بذر جوانه زده در روز) نیز مربوط به همین تیمار بود که این افزایش نسبت به تیمار شاهد معنی‌دار بود. (شکل ۳).



الف



ب

شکل ۳- اثر تیمارها بر الف) درصد جوانه‌زنی ، ب) سرعت جوانه‌زنی.

ازآنجاکه بذرهای تحت تیمار سرما و اسید جیبرلیک که نوعی جایگزین سرما می‌باشد دارای اثر مثبت بر جوانه‌زنی بودند، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که خواب بذر از نوع فیزیولوژیک است و عامل دخیل در این خواب، وجود عامل بازدارنده در بذر بوده است. از این رو به نظر می‌رسد که سرما باعث افزایش ترشح هورمون جیبرلین (GA3) در بذر شده و افزایش نسبت GA3 به اسید آبسزیک (ABA) سبب افزایش فعالیت آنزیمی شکسته شدن قندها شده و نشاسته بذر را به مواد قابل استفاده جنین تبدیل می‌کند (Hashemi dezfuli and Aghaalikhani, 1999) که در نهایت جوانه‌زنی شروع می‌گردد. به‌عبارت‌دیگر سرما و اسید جیبرلیک منجر به تشکیل، آزادسازی یا فعال کردن آنزیم‌های هیدرولتیکی برای تجزیه پروتئین‌ها و نشاسته ذخیره در بذر جهت تغذیه جنین می‌شوند (Nasiri, 1995). نتایج مشابه نیز توسط نبئی و همکـاران (2011) در بذر گیاه ریواس گزارش شده است.

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی بر اساس نتایج کسب شده در پژوهش حاضر، اسید جیبرلیک ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر و سرمادهی ۶ روزه به‌عنوان بهترین تیمار هورمونی برای شکستن خواب و افزایش جوانه‌زنی بذرهای گیاه پنیرباد پیشنهاد می‌شود.

منابع

Asthana, R., Raina, M.K., 1989. Pharmacology of *Withania somnifera* (L.) Dunal—a review. Indian Drugs 26, 199–205.

Devi, P.U., 1996. *Withania somnifera* Dunal (Ashwagandha): potential plant source of a Promising drug for cancer hemotherapy and radiosensitization. Indian Journal of Experimental Biology 34, 927–932.

Edalatifard, L. Modares Sanavy, A. Askari, H. 2014. The optimum condition under light and Media for Seed germination of Withania coagulans. International Journal of Farming and Allied Sciences 3, 722-728.

Hashemi dezfuli, c. Aghaalikhani, M. 1999. Seed dormancy and germination. Martyr Chamran University Press; 246.

Kambizi L, Adebola PO and Afolayan AJ. 2006. Effects of temperature, pre-chilling and light on seed germination of Withania somnifera; a high value medicinal plant. South African Journa l of Botany 72, 11–14.

Koornneff, M., L. Bentsink, and H. Hilhorst. 2002. Seed dormancy and germination. Current Opinion in Plant Biology. 5: 33-36.

Mohammadi, GH. Jalali honarmand, A. Mohammadkhah, GH. Ahmadi, 2011. Seed germination.
Agricultural Extension and Education Publications

Nabaee, M. Roshandel, P. Mohammad khani, A. 2013. The effect of plant growth regulators on seed dormancy plant Milk thistle (Silybum marianum L.). Journal of cells and tissues; 4: 45-54.

Nabaee, M. Roshandel, P. Mohammad khani, A. 2011. Effective ways to increase seed germination and dormancy in rhubarb (*Rheum ribes* L.). Investigation of Medicinal and Aromatic Plants; 27(2): 212-223.

Nasiri,M. 1995. The effects of various factors on breaking dormancy white flax (*Linum album Boiss*). Research and development; 28: 42-47.

Punit K. Khanna. Arun Kumar. Ratna Chandra. V. Verma. 2013. Germination behaviour of seeds of Withania somnifera (L.) Dunal: a high value medicinal plant. Physiol Mol Biol Plants 19, 449-454.

Ranjbar, F. et al. 2011. Effect of different treatments sulfuric acid on seed germination and seedling growth Pnyrbad (*Withania somnifera).* Second National Conference on Science and Technology Seed Islamic Azad University of Mashhad.

Yamaguchi, S., and Y. Kamiya. 2000. Gibberellin biosynthesis: its regulation by endogenous and environmental signals. Plant Cell Physiology. 41(3): 251-257.

Effect of Chilling and Gibberellic Acid on Seed Germination of Withania Somnifera

Tayebeh Zendehdel [1]*, Ebrahim Ganji Moghaddam [2], Maryam Tatari [3]
[1*] M.A student of physiology and modified medicinal herbs, Islamic Azad University of Shirvan
[2] The faculty member at the Agricultural Research Center of KhorasanRazavi
[3] The faculty member of the Scientific Islamic Azad University of Shirvan
Corresponding Author: t.zendedel@yahoo.com

Abstract

Withania somnifera **is one of the most valuable plants of Solanaceae' which have very poor seed germination and it's speed of germination is very low in field conditions. In this regard, to determine the best method for breaking dormancy of the plant, factorial experiment was conducted in a and completely randomized design with four replications. Treatments includes moist chilling in four ° C temperature at three levels (3, 6 and 9 days), soaking seeds in gibberellic acid (250, 500 and 750 mg/liter) for 24 hours. According to the results, the highest percentage (54%) and germination rate (0.9 germinated seeds per day) of seeds belongs to Interaction gibberlic acid (500 mg/liter), and moist chilling for six days. In addition moist chilling and gibberellic acid had a significant effect alone on seed dormancy of withania seeds and increased germination to 17/2 and 19/6 respectively and speed of germination of seeds to 2.0 and 3.0 germinated seeds per day.**

Keywords**: *Withania Somnifera*, Seed germination, The germination rate, Dormancy, Chilling.**