

بررسی خصوصیات جوانه‌زنی بذر خشخاش ایرانی و اثر سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات بر روی ویژگی‌های فیزیولوژیکی

یوسف حکیمی^۱، محمدرضا فتاحی مقدم^{۲*}، محمدرضا نقوی^۳، ذبیح‌اله زمانی^۴

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد (گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران)

^{۲،۴} استاد (گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران)

^۳ استاد (گروه زراعت، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران)

*نویسنده مسئول: fattahi@ut.ac.ir

چکیده

خشخاش ایرانی (*Papaver bracteatum* Lindl.) گیاه دارویی چند ساله متعلق به خانواده Papaveraceae می‌باشد که بومی مناطق کوهستانی شمال ایران است و به دلیل مقادیر بالا آکالوئید با ارزش تبائین شناخته شده است. در این پژوهش جوانه‌زنی بذر خشخاش ایرانی و اثر ایسیتورهای سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات بر روی رنگدانه‌های فتوستتزی و محتوای آنتوسیانین‌ها مورد بررسی قرار گرفت. تیمارهای دمایی مختلف بر شاخص‌های درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه، وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه و همچنین شاخص بنیه بذر تأثیر معنی‌داری می‌گذارد. بیشترین میزان ضریب تغییرات به ترتیب با مقدار ۳۶/۸۴، ۳۲/۴۸ و ۳۱/۷۹ درصد در شاخص بنیه بذر، سرعت جوانه‌زنی و درصد جوانه زنی بذور مشاهده شد که علت آن به درصد جوانه‌زنی و همچنین سرعت جوانه‌زنی پایین جمعیت سوم برمی‌گردد. تیمارهای ایسیتوری مختلف به صورت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر روی تمامی رنگدانه‌های فتوستتزی و آنتوسیانین‌ها تأثیر می‌گذارد. بیشترین میزان ضریب تغییرات به ترتیب با مقدار ۳۴/۸۲، ۳۰/۶۴ و ۲۴/۱۹ درصد مربوط به کلروفیل a، کاروتنوئیدها و کلروفیل b می‌باشد که علت آن می‌تواند اثر سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات بر سیستم‌های جمع‌آوری کننده نور و افزایش کارایی فتوستتز باشد. همچنین با توجه به مقایسات میانگین می‌توان نتیجه گرفت بین تمامی تیمارهای ایسیتوری اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد در شاخص‌های اندازه‌گیری شده مشاهده شد. به طور کلی مشاهده شد که کاربرد ایسیتورهای به صورت محلول‌پاشی می‌تواند تأثیر مثبتی بر روی رنگدانه‌های فتوستتزی و آنتوسیانین داشته باشد و سبب بهبود کارایی سیستم فتوستتزی شود.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین‌ها، جوانه‌زنی بذر، رنگدانه‌های فتوستتزی، گیاهان دارویی

مقدمه

خشخاش ایرانی با نام علمی *Papaver bracteatum* یکی از سه گونه متعلق به بخش Oxytona از خانواده Papaveraceae است. تمام گونه‌های موجود در Oxytona چند ساله هستند و به راحتی از سایر گونه‌های خشخاش جدا می‌شوند. به وسیله بذر تکثیر می‌شود و معمولاً در اواخر تابستان و اوایل پاییز با بارندگی پاییزه در ارتفاعات جوانه زده و پیش از زمستان با یک رشد مطلوب به حالت رزت در آمده و در بهار ساقه گل‌دهنده ایجاد می‌نماید و رشد رزت مناسب پیش از زمستان سبب تولید گل و میوه فراوان در فصل بهار می‌شود (Goldblatt, 1974). به طور عمده به دلیل تجمع زیاد آکالوئید تبائین به عنوان متابولیت ثانویه اصلی در ریشه‌ها و کپسول‌ها شناخته می‌شود که از طریق مسیر بیوستتز بنزیل‌ایزوکینولین ایجاد می‌شود. آکالوئیدهای مهم دارویی دیگر که از طریق این مسیر تولید می‌شوند شامل مورفین، کدین، ناکوتین، اوری‌پاوین، پاپاورین، نوسکاپین و غیره هستند (Koukal et al., 2017). به دلیل ماهیت غیرنارکوتیکی و غیر اعتیاد آور تبائین و همچنین سهولت تبدیل مصنوعی به سایر داروهای پرتقاضا، تقاضا بین المللی فزاینده‌ای برای گیاهان حاوی تبائین وجود دارد (Shukla et al., 2015).

بذر عامل اصلی تولید مثل و حفظ ذخایر ژنتیکی گیاه است که در پراکندگی و استقرار گیاهان در مناطق مختلف، حفظ و بقای تولید مثل در شرایط نامساعد طولانی مدت نقش مهمی دارد (Bewley *et al.*, 2013). هدف از این پژوهش بررسی جوانه‌زنی بذر خشخاش ایرانی و اثر الیستورهای سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات بر روی رنگدانه‌های فتوسنتزی و محتوای آنتوسیانین‌ها می‌باشد.

مواد و روش‌ها

آزمایش خصوصیات جوانه‌زنی بذور سه جمعیت خشخاش ایرانی در گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران انجام شده است. ۵۰ عدد بذر در هیپوکلریت سدیم دو و نیم درصد به مدت سه دقیقه ضدعفونی و چندبار با آب مقطر استریل شسته شدند. رژیم دمایی مورد استفاده شامل سه سطح (۲۰، ۲۵، ۳۰ درجه سانتی‌گراد) بر روی سه جمعیت مختلف بود. رژیم نوری به صورت ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی اعمال شد. برای محاسبه درصد جوانه‌زنی از فرمول $GP=100(Ni/N)$ استفاده شد جایی که GP درصد جوانه‌زنی، Ni تعداد بذرهای جوانه‌زده شده تا روز i و N تعداد بذرهای می‌باشد (Hartmann & Kester, 2014). سرعت جوانه‌زنی نیز از معادله $RS = \frac{\sum (ni \cdot t_{(x-i)})}{\sum ni}$ محاسبه شد. در این فرمول RS میزان جوانه‌زنی (تعداد بذور جوانه‌زده در روز)، ni تعداد بذور جوانه زده در روز i و x کل روزهای آزمون است (Bewley *et al.*, 2013). علاوه بر این، شاخص بنیه بذر با استفاده از رابطه $V = (GP/100) \times (Lr/2 + Ls/2)$ محاسبه شد. از این جهت، V شاخص بنیه بذر، Lr طول ریشه‌چه، Ls طول ساقه‌چه و GP درصد جوانه‌زنی می‌باشد.

آزمایش اثر الیستورها بر روی ویژگی‌های فیزیولوژیکی خشخاش ایرانی بر مبنای آزمایش فاکتوریل در طرح بلوک‌های کامل تصادفی آرایش گرفت. سه سطح تیمار محلول پاشی اسید سالیسیلیک اسید (شاهد، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار) و سه سطح تیمار محلول پاشی جاسمونیک اسید (شاهد، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار) به طور همزمان و در چهار مرتبه با فاصله زمانی یک ماه و پس از استقرار مناسب گیاهان، بر روی سه جمعیت اعمال شدند. در مجموع ۸۱ عدد گلدان چهار لیتری برای نه تیمار آزمایشی، هر کدام با سه تکرار (هر تکرار سه واحد آزمایشی یا سه گلدان و هر گلدان دو بوته) در نظر گرفته شد. اندازه‌گیری رنگدانه‌های فتوسنتزی به روش آرنون (1949) صورت گرفت. همچنین به منظور اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین‌ها از روش واگنر (1979) استفاده شد.

نتایج و بحث

تیمارهای دمایی مختلف به صورت معنی‌داری بر روی تمام صفات اندازه‌گیری شده تأثیر می‌گذارد. بیشترین میزان ضریب تغییرات به ترتیب با مقدار ۳۶/۸۴، ۳۲/۴۸ و ۳۱/۷۹ درصد در شاخص بنیه بذر، سرعت جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی بذور مشاهده شد که علت آن به درصد جوانه‌زنی و همچنین سرعت جوانه‌زنی پایین جمعیت سوم برمی‌گردد. بیشترین درصد جوانه‌زنی (۷۹ درصد)، سرعت جوانه‌زنی (۱۳/۰۰) و شاخص بنیه بذر (۱۱۸۲) در تیمار دمایی ۲۵ درجه سانتی‌گراد در جمعیت اول بدست آمد و کمترین مقدار به ترتیب با مقدار ۳۰/۰۰، ۵/۱۱ و ۳۷۳ در تیمارهای دمایی ۳۰ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد در جمعیت سوم بدست آمد (جدول ۴-۲). بیشترین طول ساقه‌چه (۱۹/۱۰ میلی‌متر) و طول ریشه‌چه (۱۱/۲۰ میلی‌متر) در تیمار دمایی ۲۰ درجه سانتی‌گراد در جمعیت اول بدست آمد و کمترین مقدار به ترتیب با مقدار ۱۴/۴۰ و ۷/۵۶ در تیمار دمایی ۲۵ درجه سانتی‌گراد در جمعیت سوم بدست آمد (جدول ۴-۲). بیشترین وزن خشک ساقه‌چه (۲/۳۱ میلی‌گرم) و وزن خشک ریشه‌چه (۰/۲۰ میلی‌گرم) در تیمار دمایی ۲۵ درجه سانتی‌گراد در جمعیت اول بدست آمد و کمترین مقدار به ترتیب با مقدار ۱/۸۰ و ۰/۱۵ میلی‌گرم در تیمار دمایی ۳۰ درجه سانتی‌گراد در جمعیت سوم بدست آمد.

سجدول ۱- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه تحت تیمارهای دمایی ۲۰، ۲۵ و ۳۰ درجه سانتی گراد در سه جمعیت خشخاش ایرانی

| متغیرها | df | درصد جوانه زنی | سرعت جوانه زنی | طول ساقه چه | طول ریشه چه | وزن خشک ساقه چه | وزن خشک ریشه چه | شاخص بینه بذر |
|------------------|----|----------------|----------------|-------------|-------------|-----------------|-----------------|---------------|
| تکرار | ۲ | ۰/۷۸ | ۰/۴۷ | ۸/۰۷** | ۰/۹۰ | ۰/۳۲** | ۰/۰۰ | ۰/۲۳ |
| جمعیت | ۲ | ۳۸۹۶/۳۳** | ۱۰۶/۹۱** | ۷/۳۶** | ۲/۰۳ | ۰/۱۰** | ۰/۰۰۱ | ۸۴/۳۶** |
| دما | ۲ | ۲۲۶/۳۳** | ۳/۸۶* | ۲۳/۵۶** | ۱۹/۰۶** | ۰/۰۸** | ۰/۰۰۲* | ۹/۲۳** |
| جمعیت*دما | ۴ | ۱۱/۳۳** | ۰/۲۰ | ۰/۰۲** | ۰/۰۲ | ۷/۹۳E-۵ | ۳/۷۰E-۶ | ۰/۵۳* |
| خطا | ۱۶ | ۰/۷۸ | ۰/۶۶ | ۰/۰۰۲ | ۰/۹۰ | ۷/۸۷E-۵ | ۰/۰۰ | ۰/۱۷ |
| ضریب تغییرات (%) | | ۳۱/۷۹ | ۳۲/۴۸ | ۱۰/۱۹ | ۱۶/۷۸ | ۹/۹۲ | ۱۲/۳۲ | ۳۶/۸۴ |

** تفاوت معنی داری در سطح ۱ درصد، * تفاوت معنی داری در سطح ۵ درصد

تیمارهای الیستوری مختلف به صورت معنی داری در سطح احتمال یک درصد بر روی تمامی رنگدانه های فتوسنتزی و آنتوسیانین ها تأثیر می گذارد. بیشترین میزان ضریب تغییرات به ترتیب با مقدار ۳۴/۸۲، ۳۰/۶۴ و ۲۴/۱۹ درصد مربوط به کلروفیل a، کاروتنوئیدها و کلروفیل b می باشد که علت آن می تواند اثر سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات بر سیستم های جمع آوری کننده نور و افزایش کارایی فتوسنتز باشد. همچنین با توجه به مقایسات میانگین می توان نتیجه گرفت بین تمامی تیمارهای الیستوری اختلاف معنی داری در سطح پنج درصد در شاخص های اندازه گیری شده مشاهده شد.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس رنگدانه های فتوسنتزی و آنتوسیانین ها تحت تیمارهای سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات در سه جمعیت خشخاش ایرانی

| متغیرها | df | کلروفیل a | کلروفیل b | Chla/Chlb | کاروتنوئیدها | آنتوسیانین ها |
|------------------------------------|----|-----------|-----------|-----------|--------------|---------------|
| بلوک | ۲ | ۰/۰۰* | ۰/۰۰ | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۰۰** | ۰/۰۴ |
| جمعیت | ۲ | ۲/۶۷** | ۰/۲۹** | ۰/۶۸** | ۰/۰۱۴** | ۸۰/۶۹** |
| بلوک*جمعیت | ۴ | ۴/۸۷E-۵ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۶/۷۹E-۸ | ۰/۰۲ |
| سالیسیلیک اسید | ۲ | ۰/۳۶** | ۰/۰۳** | ۰/۱۲** | ۰/۰۰۲** | ۴/۰۲** |
| متیل جاسمونات | ۲ | ۱/۰۸** | ۰/۰۹** | ۰/۴۶** | ۰/۰۰۶** | ۲۴۱/۳۳** |
| جمعیت*سالیسیلیک اسید | ۴ | ۰/۰۴** | ۰/۰۰۲** | ۰/۰۷** | ۰/۰۰** | ۶۲/۵۶** |
| جمعیت*متیل جاسمونات | ۴ | ۰/۲۲** | ۰/۰۲** | ۰/۱۲** | ۰/۰۰۱** | ۱۸۵/۲۳** |
| سالیسیلیک اسید*متیل جاسمونات | ۴ | ۰/۷۱** | ۰/۰۶** | ۰/۲۵** | ۰/۰۰۳** | ۲۸۵/۹۲** |
| جمعیت*سالیسیلیک اسید*متیل جاسمونات | ۸ | ۰/۱۶** | ۰/۰۱** | ۰/۱۱** | ۰/۰۰۱** | ۸۹/۴۴** |
| خطا | ۴۸ | ۵/۰۵E-۵ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۳/۵۵E-۸ | ۰/۰۳ |
| ضریب تغییرات | | ۳۴/۸۲ | ۲۴/۱۹ | ۱۱/۳۴ | ۳۰/۶۴ | ۱۹/۸۷ |

** تفاوت معنی داری در سطح ۱ درصد، * تفاوت معنی داری در سطح ۵ درصد

بیشترین مقدار کلروفیل a و b در جمعیت اول (به ترتیب ۱/۷۵ و ۰/۷۰ میلی گرم بر گرم وزن تر) تحت تیمار ۲۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید و ۲۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات و در جمعیت دوم (۱/۸۴ و ۰/۶۸ میلی گرم بر گرم وزن تر) و سوم (۱/۲۷ و ۰/۵۴ میلی گرم بر گرم وزن تر) تحت تیمار ۱۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید و ۲۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات مشاهده شده است. بیشترین میزان کاروتنوئیدها در جمعیت اول (۰/۱۹۰ میلی گرم بر گرم وزن تر)، دوم (۰/۱۳۳ میلی گرم بر گرم وزن تر) و سوم (۰/۰۹۸ میلی گرم بر گرم وزن تر) تحت تیمار ۱۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید و ۲۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات مشاهده شده است. به طور کلی مشخص شد که افزایش غلظت سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات سبب افزایش مقدار کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها در هر سه جمعیت شد. در تیمارهای اشاره شده مشاهده شد که کلروفیل کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها به ترتیب ۳۲/۵۷، ۵۶/۴۴ و ۵۳/۱۶ درصد در جمعیت اول، ۴۲/۹۳، ۳۵/۲۹ و ۴۱/۳۵ درصد در جمعیت دوم و نسبت به حالت شاهد افزایش داشتند.

بیشترین میزان آنتوسیانین ها در جمعیت اول (۴۵/۰۳ میلی گرم بر گرم وزن تر)، دوم (۴۰/۱۱ میلی گرم بر گرم وزن تر) تحت تیمار ۱۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید و ۲۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات و جمعیت سوم (۴۶/۶۷ میلی گرم بر گرم وزن تر) تحت

تیمار ۲۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید و ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات مشاهده شده است. با توجه به روند تغییرات میزان آنتوسیانین ها می توان نتیجه گرفت که افزایش غلظت سالیسیلیک اسید سبب کاهش میزان آنتوسیانین ها و افزایش غلظت متیل جاسمونات سبب افزایش مقدار آن ها می شود. همچنین میزان آنتوسیانین ها در تیمارهای منتخب به ترتیب ۶/۱۹ درصد در جمعیت اول، ۱۴/۶۳ درصد در جمعیت دوم و ۳۴/۴۱ درصد در جمعیت سوم نسبت به حالت شاهد افزایش داشتند.

منابع

- Arnon, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. PLANT PHYSIOLOGY, 24(1): 1.
- Bewley, J. D., Bradford, K. J., Hilhorst, H. W., Nonogaki, H. 2013. Seeds: physiology of development and germination. Springer Science & Business Media.
- Goldblatt, P. 1974. Biosystematic studies in *Papaver* section *Oxytona*. Annals of the Missouri Botanical Garden 61: 264–296.
- Hartmann, H. T., Kester, D. E. 2014. Plant propagation: Principles and practices (8th ed.). Pearson.
- Koukal, P., Hájíček, J., Gupta, S., Hudlický, T. 2017. Model studies toward the total synthesis of thebaine by an intramolecular cycloaddition strategy. ChemistrySelect, 2(26): 7783–7786.
- Shukla, S., Mishra, B. K., Mishra, R., Siddiqui, A., Pandey, R., Rastogi, A. 2015. Comparative study for stability and adaptability through different models in developed high thebaine lines of opium poppy (*Papaver somniferum* L.). Industrial Crops and Products, 74: 875–886.
- Wagner, G. J. 1979. Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin in protoplasts. PLANT PHYSIOLOGY, 64(1): 88–93.

Investigation of *Papaver bracteatum* seed germination characteristics and the effect of salicylic acid methyl jasmonate elicitation on physiological characteristics

¹Yousef Hakimi, ^{2*}MohammadReza Fatahi Moghadam, ³MohammadReza Naghavi, ⁴Zabihollah Zamani,
¹M. Sc. Graduate (Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran)

^{2,4} Professor (Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran)

³ Professor (Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran)

*Corresponding Author: fattahi@ut.ac.ir

Abstract:

Persian poppy (*Papaver bracteatum* Lindl.) is a perennial medicinal plant belonging to the Papaveraceae family that is endemic to the mountainous areas in Northern Iran. It is known for high amounts of the valuable benzylisoquinoline alkaloid thebaine. In this study, the germination of Iranian poppy seeds and the effect of salicylic acid and methyl jasmonate elicitors on photosynthetic pigments and anthocyanin content were investigated. Different temperature treatments have a significant effect on germination percentage, germination rate, stem and root length, shoot and root dry weight, and seed vigor index. The highest coefficients of variation with 36.84, 32.48, and 31.79% were observed in seed vigor index, germination rate, and seed germination percentage, respectively, due to the germination percentage and low germination rate of the third population. Different treatments of elicitors significantly affect all photosynthetic pigments and anthocyanins at the level of 1%. The highest coefficients of variation with 34.82, 30.64, and 24.19%, respectively, are related to chlorophyll a, carotenoids, and chlorophyll b, which can be due to the effect of salicylic acid and methyl jasmonate on light-collecting systems and increase the photosynthetic efficiency. Also, according to the mean comparisons, it can be concluded that a significant difference of five percent was observed between all elicitor treatments in the measured indices. In general, it was observed that the use of foliar sprays can have a positive effect on photosynthetic pigments and anthocyanins and improve the efficiency of the photosynthetic system.

Keywords: Anthocyanins, Medicinal plants, Photosynthetic pigments, Seed germination