اثر جیبرلیک اسید و سرمادهی مرطوب بر درصد و سرعت جوانه زنی بذر گیاه دارویی پیچکه (*Allium longisepalum*)

مجاهد کمالی‌زاده*[۱] و بهزاد حاج‌اقراری[۱]
[۱]استادیار (گروه مهندسی تولید و ژنتیک، دانشگاه جهرم، جهرم، ایران)
*نویسنده مسئول: mkamalizadeh@jahromu.ac.ir

چکیده

پیچکه با نام علمی *Allium longisepalum* از گیاهان ارزشمند دارویی، بومی و در معرض انقراض کشور می‌باشد که اطلاعات جامع و مدونی در مورد آن بخصوص جوانه‌زنی بذر در منابع علمی معتبر وجود ندارد. با توجه به اهمیت تکثیر گیاهان دارویی و نقش بذر در تولید و پرورش این گیاهان، و به منظور شناخت سطح خواب بذر گیاه پیچکه و واکنش آن به تیمارهای هورمون جیبرلیک اسید و زمان سرمادهی، آزمایش فاکتوریل (پنج در چهار) در قالب طرح پایه کامل تصادفی با سه تکرار فاکتور اول (شـــاهد، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ روز در دمای چهار درجه سلسیوس) و فاکتور دوم (جیبرلیک اسید با سطوح شاهد، ۱۰۰، ۲۰۰ و۳۰۰ پی‌پی‌ام) بر شکستن خواب و جوانه‌زنی بذر این گیاه در محل آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه جهرم در سال ۱۳۹۹ به مرحله اجرا درآمد. نتایج این آزمایش نشان داد که بیشترین درصد جوانه‌زنی (۷۶درصد) در تیمار ۳۰۰ پی‌پی‌ام جیبرلیک اسید و ۱۲ روز سرمادهی مرطوب و بیشترین سرعت جوانه‌زنی در تیمار ۳۰۰ پی‌پی‌ام جیبرلیک اسید و ۱۲ روز سرمادهی مرطوب به دست آمد. علاوه بر این افزایش زمان سرمادهی تا ۱۲ روز و غلظت جیبرلیک اسید از صفر به ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر، دمای پایه را کاهش، دمای مطلوب جوانه‌زنی را افزایش داد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت با سرمادهی مرطوب به طول ۱۲ روز به مراه تیمار ۳۰۰ پی‌پی‌ام اسید جبیرلیک، بالاترین میزان جوانه‌زنی خواهیم داشت.

واژه‌های کلیدی: پیچکه، جبیرلیک اسید، جوانه‌زنی، سرمادهی مرطوب

مقدمه

پیچکه با نام علمی .*Allium eriophyllum* Boiss (مترادف با *Allium longisepalum* Bertol) از گیاهان ارزشمند دارویی نادر، بومی و در معرض انقراض کشور می‌باشد. گیاهان دارویی و مشتقات آن‌ها اگر چه از دیر باز در درمان دیابت قندی و عوارض ناشی از آن مطرح بوده‌اند و در مورد اثرات آنها بر دیابت شواهد متعددی یافت می‌شود لکن قطعی بودن اثرات و ماهیت دقیق پاسخ ایجاد شده در حضور آن‌ها نیاز به مطالعه بیشتر دارد از این نظر برای گیاه پیچکه و اثرات سودمند آن در بیماری‌های مختلف شواهد تحقیقاتی متعدد وجود دارد (Sendl *et al.*, 1992). دریک تحقیق مشخص شد که برخی مواد مؤثره این گیاه نظیر ترکیبات دارای سولفور مثل دی آلیل دی سولفید، آجوئن‌ها و آلیسین می‌توانند از سنتز کلسترول در محیط برون تن جلوگیری کند که این خود در کاهش کلسترول سرم می‌تواند موثر باشد که از این نظر با همان قدرت سیر اثر می‌کند. هم‌چنین مشخص شده است که این گیاه علاوه بر دارا بودن خواص آنتی اکسیدانی و محافظت‌کنندگی قلب، می‌تواند آنزیم تبدیل‌کننده آنژیوتانسین ۱ را مهار کند و از این طریق فشار خون شریانی را کاهش دهد (Stajner *et al.*, 2008). یک مطالعه دیگر نشان داده است که این گیاه مشابه سیر موجب مهار آنزیم‌های سیکلواکسیژناز و لیپواکسیژناز شده و از تجمع ترومبوسیت‌ها جلوگیری می‌کند. به علاوه، وجود مقادیر بالا از فلاونوئیدها نظیر کمپفرول با خاصیت آنتی اکسیدانی، ضددیابتی و محافظت‌کنندگی سیستم قلب و گردش خون اثبات شده است. هم‌چنین مصرف خوراکی این گیاه در مدل تجربی فشار خون بالا (هیپرتانسیون) به مدت ۴۵ روز موجب کاهش سطح فشار خون سیستولی و افزایش میزان انسولین خون گردید (Hiyasat *et al.*, 2009). بررسی دیگری حاکی از این است که گیاهانی نظیر پیچکه به علت دارا بودن سطح بالا از انواع

فلاونوئیدها دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و محافظت‌کنندگی بافتی قوی می‌باشند. از طرف دیگر خاصیت محافظت‌کنندگی سیستم گردش خون و ضد تجمع پلاکتی پیچکه مشابه خود سیر اخیراً مورد تایید قرار گرفته است (Stajner *et al.*, 2008).

یکی از موانع عمده استفاده بهینه از گیاهان دارویی در خارج از رویشگاه طبیعی، محدودیت میزان جوانه‌زنی و طولانی بودن خواب بذر آن‌ها می‌باشد. طی دوره خواب حتی اگر شرایط مناسب محیطی (رطوبت، دما و ..) نیز فراهم باشد، جوانه‌زنی صورت نمی‌گیرد. این امر در شرایط نامساعد رویشی سودمند است، زیرا بذر غیرفعال است و در نتیجه بسیاری از تنش‌های محیطی و شرایط نامناسب اقلیمی را بهتر تحمل کرده، تداوم نسل و بقای گونه گیاهی تضمین می‌شود. هورمون‌ها در ایجاد و کنترل خواب فیزیولوژیکی بذر نقش کلیدی دارند. در بین هورمون‌های مورد بررسی، اسید جیبرلیک از طریق القاء جوانه‌زنی خواب بذر را کنترل می‌نماید. گاهی تیمار سرمادهی به تنهایی یا همراه با تیمارهای دیگر از جمله اسید جیبرلیک برای شکست خواب و افزایش جوانه‌زنی بذرها مورد استفاده قرار می‌گیرد. سرمادهی (۴ درجه سانتی‌گراد) سبب افزایش بیان ژن GA3ox1 (آنزیم تولیدکننده شکل فعال GA3) در ریشه‌چه و لایه آلرون می‌شود. ابراهیمی و همکاران (۲۰۱۴) با آزمایشی بر بذرهای *Allium hirtifolium* Boiss، اعمال تیمارهای خراش دهی، سرمادهی، نیترات پتاسیم و جیبرلیک اسید را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد اعمال تیمارهای خراشدهی، سرمادهی و کاربرد جیبرلیک اسید (۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) در شکست خواب بذر و افزایش طول گیاهچه بذر موسیر مؤثر بود (Ebrahimi *et al.*, 2014).

به دلیل بهره‌برداری بی‌رویه و بیش از حد گیاه پیچکه نسل آن در معرض انقراض قرار دارد، که متأسفانه هر ساله شاهد کاهش تعدا رویشگاه‌های طبیعی این گیاه دارویی هستیم. علاوه بر این گیاه پیچکه به شدت تحت تأثیر میزان بارندگی متوازن طول سال قرار دارد طوری که در سال‌های کم بارش بندرت شاهد رویش این گیاه دارویی ارزشمند هستیم. بنابراین حفظ این گونه گیاهی ضروری است. تکثیر پیچکه در طبیعت احتمالا از طریق پیازچه و یا رویش بذر و پس از طی مرحله خواب صورت می‌گیرد. یکی از راهکارهای مفید برای تکثیر این گیاه دستیابی به تیمارهای فیزیکی و شیمیایی مناسبی است که شکست خواب بذر را تسهیل و در کوتاه‌ترین زمان بیشترین درصد جوانه‌زنی را فراهم نماید. طبق بررسی منابع موجود، تاکنون اطلاعات مدون و جامعی درباره شکستن خواب بذر این گیاه ارائه نگردیده است. در تحقیق حاضر، برای دستیابی به روش‌های مناسب شکست خواب بذر این گیاه دارویی ارزشمند، اثرات غلظت‌های مختلف GA3 به شکل پیش تیمار آزمون گردید. هم‌چنین کشت بذرها روی کاغذ صافی مرطوب در دو دمای ۴ و ۲۴ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

بذرهای گیاه پیچکه با نام علمی Allium longisepalum در اردیبهشت ۱۳۹۹ از جمعیت‌های طبیعی در یکی از آخرین رویشگاه‌های طبیعی این گیاه ارزشمند در معرض انقراض در اطراف گلدامچه شهرستان جهرم استان فارس جمع‌آوری شدند. سپس به منظور شکستن خواب بذر آزمایش فاکتوریل (۵*۴) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه جهرم انجام گردید. فاکتور اول تیمار سرمادهی مرطوب (شاهد، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ روز در دمای چهار درجه سلسیوس)، فاکتور دوم تیمار جیبرلیک اسید (غلظت‌های شاهد، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ قسمت در میلیون) بودند. برای اعمال تیمار جیبرلیک اسید به ظروف حاوی بذرها جیبرلیک اسید در غلظت‌های معین شده اضافه شد. در تیمار سرمادهی، بذرها ابتدا بر روی پارچه نخی تمیز و ضدعفونی شده و مرطوب شده قرار گرفتند و سپس به دمای چهار درجه سلسیوس منتقل شدند. نمونه‌های بذر پس از اعمال تیمارهای مورد نظر به داخل دستگاه ژرمیناتور (۲۵ درجه سانتی‌گراد) منتقل شدند. سپس شمارش بذرهای جوانه‌زده ۲۴ ساعت پس از شروع آزمایش انجام و به صورت روزانه یادداشت گردید. معیار جوانه‌زنی، خروج ریشه‌چه به میزان یک میلی‌متر در نظر گرفته شد. پس از مراحل فوق و در پایان آزمایش درصد جوانه‌زنی کل با رابطه: ($GP = (N/S) \times 100$) محاسبه شد که در آن GP: درصد جوانه‌زنی، N: تعداد بذور جوانه‌زده در روز آخر و S: تعداد کل بذور کشت شده است. سرعت جوانه‌زنی با رابطه

($GR = \sum Ni/Ti$) محاسبه شد که در آن GR:سرعت جوانه‌زنی (برحسب تعداد بذر جوانه‌زده در روز) ، Ni:تعداد بذور جوانه‌زده در روز iام و Ti:تعداد روز تا شمارش iام است(Bajji *et al.*, 2002).

پس از جمع‌آوری داده‌ها و اطمینان از نرمال بودن آنها، داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار مینی‌تب مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته و مقایسه میانگین‌ها نیز با آزمون توکی انجام گردید.

نتایج و بحث

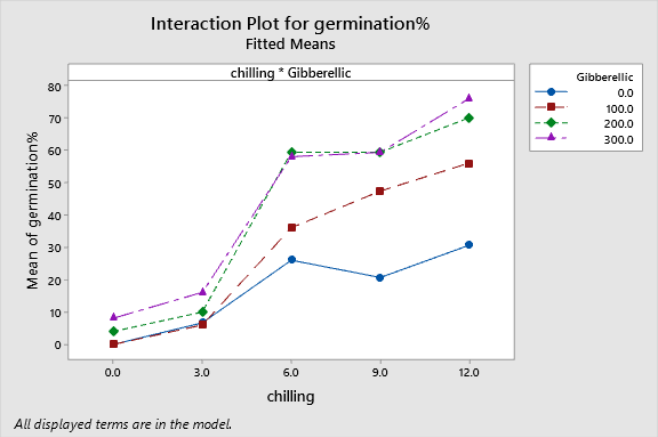
نتیجه تجزیه واریانس در جدول شماره یک خلاصه شده است. همان گونه که مشاهده می‌کنید همه تیمارها شامل تیمار سرمادهی مرطوب، غلظت جبیرلیک اسید و اثرات متقابل برای هر دو صفت درصد و سرعت جوانه‌زنی دارای اختلاف معنی‌دار آماری هستند. بیشترین درصد جوانه‌زنی به میزان میانگین ۵۸/۲ درصد برای تیمار سرمادهی مرطوب ۱۲ روز به دست آمد. این عدد برای تیمار غلظت ۳۰۰ پی‌پی‌ام جبیرلیک اسید به ۴۳ درصد رسید و در اثر متقابل سرمادهی مرطوب ۱۲ روز و غلظت اسید جبیرلیک ۳۰۰ پی‌پی‌ام یعنی هر دو فاکتور اصلی در بالاترین سطح درصد جوانه‌زنی بطور میانگین به ۷۶ درصد رسید قابل ذکر است که این عدد با غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام نیز تفاوت معنی‌دار آماری نداشت. در مورد صفت سرعت جوانه‌زنی نیز اثرات تیمارها از الگوی مشابه پیروی می‌کنند یعنی اثرات اصلی به تنهایی باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی می‌شوند و اثرات متقابل مثبت باهم دارند (نمودار ۱ و ۲). در آزمایشی که ابراهیمی و همکاران (۲۰۱۴) بر روی موسیر انجام دادند نیز تأثیر مثبت سرمادهی مطلوب و جبیرلیک اسید بر میزان جوانه‌زنی موسیر مشاهده کردند (Sendl *et al.*, 1992). آقابابانژاد و همکاران (۲۰۱۸)) بیان داشتند که تیمار ۸ هفته سرمادهی به همرا غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک اسید سبب افزایش صفات جوانه‌زنی گیاه لاله واژگون گردید و اثر آن از هر یک از این تیمارها به تنهایی بیشتر بود (Sendl *et al.*, 1992).

بنابراین می‌توان با انجام آزمایش‌های بیشتر نسبت به دستیابی به ترکیبات تیماری موثر بر شاخص‌های جوانه‌زنی گیاه دارویی پیچکه امیدوار بود.

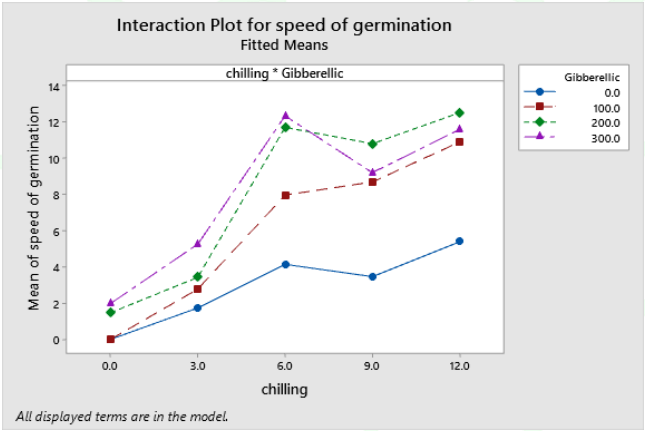
جدول ۱: تجزیه واریانس تأثیر سرمادهی مرطوب و جبیرلیک اسید بر صفات درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر پیچکه.

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات درصد جوانه‌زنی	میانگین مربعات سرعت جوانه‌زنی
سرمادهی مرطوب	۴	۷۲۰۹/۶**	۱۸۹/۶**
جبیرلیک اسید	۳	۲۲۱۵/۴**	۸۵/۹**
اثر متقابل	۱۲	۲۳۱**	۶/۷*
خطای آزمایشی	۴۰	۱۳/۸	۰/۱۹۸
کل	۵۹	–	–

* و ** به ترتیب یعنی معنی داری در سطح ۵ درصد و یک درصد



نمودار ۱: اثرات متقابل فاکتورها بر صفت درصد جوانه‌زنی در گیاه پیچکه.



نمودار۲: اثرات متقابل فاکتورها بر صفت سرعت جوانه‌زنی در گیاه پیچکه.

منابع

Aghababanejad, Z., Abbasi Surki, A. and Tahmasebi, P. 2018. Studying interaction of Moist-Chillingand gibberellic acid on germination of *Fritillaria imperialis*. Iranian Journal of Seed Science and Technology, 6: 257-266.

Bajji, M., Kinet, J.M. and Lutts, S. 2002. Osmotic and ionic effects of NaCl on germination, early seedling growth, and ion content of *Atriplex halimus* (Chenopodiaceae). Canadian Journal of Botany, 80(3): 297-304.

Ebrahimi, R., Hassandokht, M., Zamani, Z., Kashi, A., Roldan-Ruiz, I. and Bockstaele, E.V. 2014. Seed morphogenesis and effect of pretreatments on seed germination of Persian Shallot (*Allium hirtifolium* Boiss.), an endangered medicinal plant. Horticulture and Environment Biotechnology, 55(1): 19-26.

Hiyasat, B., Sabha, D., Grotzinger, K., Kempfert, J., Rauwald, J.W. and Mohr, F.W. 2009. Antiplatelet activity of Allium ursinum and Allium sativum. Pharmacology, 83(4): 197-204.

Sendl, A., Schliack, M., Loser, R., Stanislaus, F. and Wagner, H. 1992. Inhibition of cholesterol synthesis in vitro by extracts and isolated compounds prepared from garlic and wild garlic. Atherosclerosis, 94(1): 79-85.

Stajner, D., Igic, R., Popovic, BM. and Malencic, Dj. 2008. Comparative study of antioxidant properties of wild growing and cultivated Allium species. Phytother Res, 22: 113-7.

The Effects of GA3 and chilling on percentage and germination rate of Allium longisepalum seeds

Mojahed Kamalizadeh[*1] and Behzad Hajieghrari[1]

[1]Assistant professor (Department of Agricultural Biotechnology, College of Agriculture, Jahrom University, Jahrom, Iran)

[*]*Corresponding Author: mkamalizadeh@jahromu.ac.ir*

Abstract

Allium longisepalum is a valuable medicinal, indigenous, and exposed to extinction plant in Iran, which is not comprehensive information *i.e.*, the seed germination reliable scientific resource about it. Considering the importance of the proliferation of medicinal plants and the role of seed in their production and development, identifying the seed dormancy level and its response to acid Gibberellic treatments and cold stratification studied. The stratification (control, 3, 6, 9 and 12 days) and the concentration of acid gibberellic 0, 100, 200, and 300 mgL^{-1}) effects on the seed dormancy were analyzed based on the factorial (five in four) experiment. The experimental design was a completely randomized design (CRD) with three repeats. It was carrying out at the biotechnology laboratory of the Department of Biotechnology, College of Agriculture, Jahrom University, in 2020. The results showed the highest mean germination (percentage and rate) in the 300 mgL^{-1} of Gibberellic acid and 12 days of stratification (76%). In addition, the highest mean seed germination rate was showed in 300 ppm of Gibberellic acid and 12 days stratification. Moreover, stratification up to 12 days and acid concentration from zero to 300 mgL^{-1} decreased the base temperature, increasing the optimal germination temperature. Therefore, we can conclude that we germinate the highest germination with wet chickens in 12 days with 300 mgL^{-1} Gibberellic acid treatment, the highest germination rate.

Keywords: *Allium longisepalum*, Germination and chilling, Gibberellic Acid