فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲۷، شمارهٔ ۲، صفحهٔ ۲۲۳-۲۱۲ (۱۳۹۰)

روشهای مؤثر در شکست خواب و افزایش جوانه‌زنی بذر ریواس (*Rheum ribes* L.)

معصومه نبئی[1*]، پرتو روشندل[2] و عبدالرحمان محمدخانی[3]

۱*- نویسنده مسئول، فوق لیسانس فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک
پست الکترونیک: mnabaei168@yahoo.com
۲- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهرکرد
۳- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۸۸ تاریخ اصلاح نهایی: آبان ۱۳۸۹ تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۸۹

چکیده

ریواس (*Rheum ribes* L.) یکی از گونه‌های خانواده ترشک (Polygonaceae) می‌باشد که در ایران می‌روید و در طب سنتی از جایگاه ارزشمندی برخوردار است. بذرهای ریواس به‌علت خواب به سختی جوانه می‌زنند. در پژوهش حاضر یافتن مناسبترین روش برای برطرف نمودن خواب بذر این گیاه مورد مطالعه قرار گرفته است. برای این هدف تیمارهای مختلفی جهت غلبه بر خواب بذر مورد استفاده قرار گرفت، ازجمله: آب داغ (۷۰ و ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه)، سرمادهی مرطوب در دمای ۲ درجه سانتی‌گراد (۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ روز)، اسید سولفوریک ۷۵٪ (۵ و ۱۵ دقیقه)، نیترات پتاسیم ۰/۲٪، آب جاری، اسید جیبرلیک، کینتین، اکسین (۱۰۰ ppm، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰)، هورمون ۲٤- اپی‌براسینولید (۰/۵ ppm و ۱) (همگی در دو سطح تیمار ۲٤ و ٤۸ ساعت) و تیمار تلفیقی اسید جیبرلیک (۵۰۰ ppm) و سرمادهی (برای مدت زمان ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ روز). نتایج نشان داد که خواب بذرهای مذکور از نوع فیزیولوژیک است، زیرا بیشترین درصد جوانه‌زنی بذرها (۹٦٪) در اثر اعمال تیمار تلفیقی پیش سرمادهی مرطوب (به مدت ۲۵ روز) و اسید جیبرلیک (۵۰۰ ppm) بدست آمد. علاوه بر این، تأثیر سرمادهی مرطوب (به‌تنهایی) نیز بر شکست خواب بذرهای ریواس (افزایش جوانه‌زنی تا ۸۹٪) قابل توجه بود. به‌طوری که تأثیر هورمون‌های استفاده شده (در مؤثرترین غلظت و مدت زمان تیمار) اگرچه از نظر آماری بر شکست خواب این بذرها معنی‌دار ارزیابی شد ولی در مقایسه با تأثیر چشمگیر تیمار همزمان سرما و اسید جیبرلیک چندان در خور توجه نبود. از طرف دیگر عدم تأثیر نیترات پتاسیم، آب جاری، آب داغ و اسید سولفوریک بر شکست خواب بذرهای مذکور مؤید آن است که خواب این بذرها از نوع فیزیکی یا تجمع مواد بازدارنده رشد در پوسته دانه نمی‌تواند باشد.

واژه‌های کلیدی: ریواس (*Rheum ribes* L.)، شکست خواب بذر، پیش‌سرمادهی مرطوب، اسید جیبرلیک.

مقدمه

ریواس یکی از گونه‌های تیره ترشک می‌باشد. این گیاه علاوه بر داشتن خواص دارویی مهم، از نظر منابع طبیعی نیز به‌علت روییدن در عرصه‌های سرد- استپی ایران ارزشمند است. ریواس گیاهیست چند ساله با برگهای بسیار بزرگ و پهن، ساقه‌ی خزنده‌ی زیرزمینی و گلهای نر- ماده که تولید میوه فندقه سه گوش می‌کند. ریواس به‌دلیل دارا بودن ویتامین‌های C و A و املاح کلسیم، سدیم و پتاسیم و همچنین ترکیب‌های آنتراکینونی و اسید اگزالیک دارای اثرهای دارویی برای انسان می‌باشد. خوردن ریواس برای درمان بیماریهایی مانند یرقان و وسواس مفید بوده و مقوی قلب، اعصاب، معده و کبد

Archive of SID
www.SID.ir

است (زرگری، ۱۳۷۵). بذر ریواس به‌علت خواب به سختی جوانه می‌زند. بنابراین بررسی روشهای شکست خواب آن به منظور کشت وسیع آن به‌عنوان یک گیاه دارویی و یا احیای گستره‌های طبیعی آن حائز اهمیت است. روشهای متفاوتی برای شکست خواب بذر گونه‌های مختلف تیره ترشک و تسریع در جوانه‌زنی آنها توسط دانشمندان پیشنهاد شده است، ازجمله بکارگیری تیمارهای مربوط به پوست دانه، شستشو در آب، پیش‌سرمادهی، نیترات پتاسیم، نور و تناوب‌های دمایی (Ellis *et al.*, 1985).

هورمون‌های گیاهی یا مواد تنظیم‌کننده رشد در بسیاری از جنبه‌های رشد و نمو گیاه شرکت دارند. تحقیقات نشان می‌دهد که بسیاری از هورمون‌های گیاهی ازجمله اکسین، جیبرلین، سیتوکینین، اتیلن و اسید آبسیزیک (ABA) احتمالاً از راههای مشخصی که منجر به کنترل عملکرد اسیدهای نوکلئیک می‌شود، در تحریک جوانه‌زنی و یا خواب بذر نقش دارند (Koornneff *et al.*, 2002). بسیاری از پژوهشگران معتقدند که برطرف شدن خواب از طریق تعادل بین مواد بازدارنده رشد مانند ABA و مواد تحریک‌کننده رشد گیاه مانند جیبرلین (GA)، حاصل می‌شود. طبق نظریه تعادل هورمونی که بیان می‌دارد ABA و GA در مراحل مختلف تکوین دانه نقش‌های متفاوتی را ایفا می‌کند، ABA القاءکننده خواب طی بلوغ دانه است و GA نقشی کلیدی در شکست خواب و شروع جوانه‌زنی دارد. به تعبیر دیگر، نسبت GA: ABA، کنترل‌کننده پدیده جوانه‌زنی دانه‌هاست. بررسی منابع نشان می‌دهد (رحیمیان و خسروی، ۱۳۷۵) که در بسیاری از بذرهای نیازمند به سرما مانند فندق و افرای چناری، سرما منجر به کاهش مقادیر ABA و افزایش مقادیر اسید جیبرلیک در بذر می‌شود و جوانه‌زنی را تحریک می‌کند. تضاد عمل این دو هورمون می‌تواند مربوط به تشابه ساختاری آن دو باشد، زیرا اسید آبسیزیک یک سزکوئی‌ترپن است. براسینواستروئیدها (BRs) به‌عنوان یک گروه جدید از تنظیم‌کننده‌های رشد با اثرهای زیستی قابل توجه در نظر گرفته می‌شوند. براسینواستروئیدها ازجمله هورمون‌های مؤثر بر جوانه‌زنی بذرها می‌باشند. گزارش شده است که تیمار بذرهای تره‌تیزک (Held *et al.*, 1996)، اکالیپتوس (Sairam *et al.*, 1996)، گندم (Sasse *et al.*, 1995)، تنباکو (Leubner-Metzger, 2001) و گل جالیز (Takeuchi *et al.*, 1995) با BRs باعث بهبود و افزایش درصد جوانه‌زنی آنها می‌شود. از طرف دیگر، تیمار بذرها با BRs باعث جوانه‌زنی موتانت‌هایی می‌شود که در مسیر سنتز جیبرلین نقص دارند (Steber & McCourt, 2001). گزارش شده است که براسینواستروئیدها در غلظت (۰/۰۱ ppm) باعث افزایش تجزیه اندوسپرم دانه‌های خیس خورده تنباکو در نور می‌شود. البته براسینواستروئیدها باعث مهار اثرهای منفی ABA روی جوانه‌زنی نیز می‌شوند (Birgit *et.al.*, 2005). منابع متعددی به اثر سیتوکینین‌ها در بر طرف نمودن خواب اشاره داشته‌اند (Aberlence-Bertossi *et al.*, 1999؛ Bialek *et al.*, 1992؛ Naidu & Rajendrudu, 2001). در بررسی خواب بذر کرفس نقش بازدارنده‌های جوانه‌زنی در خواب بذر این گیاه مشخص شده و نشان داده شده است که سیتوکینین‌ها قادرند عمل بازدارندگی ABA را برطرف نمایند (Thomas *et.al.*, 1975). سیتوکینین‌ها با تحریک سنتز DNA و RNA در دانه‌ها رشد و تقسیم سلولی در رویان دانه را تسهیل نموده و به جوانه‌زنی کمک می‌کنند (Chiwocha *et al.*, 2005) و یا با افزایش فعالیت α- آمیلاز و هیدرولیز نشاسته و یا با افزایش نفوذپذیری غشاء سیتوپلاسمی و در نتیجه انتقال سریعتر مواد بر روی جوانه‌زنی اثرگذار هستند (Li & Leung, 2000).

برخی منابع تأثیر اکسین (IAA) را بر شکست خواب بذر ناچیز می‌دانند، اما برخی منابع دیگر معتقدند اکسین نیز می‌تواند در تحریک جوانه‌زنی بذرها نقش داشته باشد. به‌نظر می‌رسد اکسین نقش مهمتر را در جنین‌زایی ایفا

Archive of SID
www.SID.ir

می‌کند. اکسین بیان کاتالاز را در اسکوتلوم دانه‌های ذرت جوانه‌زده تنظیم می‌کند (Guan & Scandalios, 2002). وابستگی بین اکسین، خواب دانه و جوانه‌زنی در گیاه گندم گزارش شده است (Steber & McCourt, 2001). حداکثر میزان اکسین آزاد، قبل از شروع رشد ریشه بوده و همزمان با شروع تورم و طی جذب آب می‌باشد (Bialek *et al.*, 1992). گزارش شده است که اکسین طی جوانه‌زنی دانه‌های گیاه کاج اسکاتلندی از جایگاه‌های ذخیره‌ای خود آزاد می‌گردد (Li & Leung, 2000).

هدف از تحقیق حاضر تعیین تأثیر مواد شیمیایی نظیر هورمون‌های گیاهی (۲٤- اپی‌براسینولید، کینتین، اکسین و اسید جیبرلیک) و نیترات پتاسیم، اسکاریفیکاسیون اسیدی (با اسید سولفوریک) و اسکاریفیکاسیون مکانیکی (با آب داغ، آب جاری و سرمادهی مرطوب) روی جوانه‌زنی و یافتن روشهای مؤثر برای شکست خواب بذرهای گیاه ریواس به‌عنوان قدمی آغازین در اهلی کردن این گیاه است، زیرا به‌رغم اهمیت دارویی- خوراکی و اکولوژیکی گیاه ریواس در ایران، تاکنون تحقیق جامعی پیرامون غلبه بر خواب بذر آن انجام نشده است.

مواد و روشها

بذر گیاه ریواس از فروشگاه گیاهان دارویی در شهر اصفهان خریداری شد. پس از جدا کردن بذرهای یکسان از نظر اندازه، بذرها با سدیم‌هیپوکلریت ۱۰٪ ضدعفونی شدند و پس از چندین بار شستشو با آب مقطر استریل برای اعمال تیمارها مورد استفاده قرار گرفتند. با انجام آزمایش‌های اولیه (در شرایط رطوبت کافی و دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد) معلوم شد که بذرهای تازه و دارای قوه نامیه در شرایط معمولی قادر به جوانه‌زنی نیستند (بیش از ۹۸٪ بذرهای مذکور در این شرایط جوانه نزدند) و به‌عبارت دیگر این بذرها در مرحله خواب به سر می‌برند. در این تحقیق به منظور افزایش جوانه‌زنی بذرها تناوب نوری و دمایی (۸ ساعت نور و دمای °C ۲±۱٦/۲۷ ساعت تاریکی و دمای °C ۱±۲۱) نیز رعایت گردید (برای کلیه بذرها و در تمامی تیمارها). برای ایجاد شرایط مربوط به تاریکی از دستگاه انکوباتور (مدل Memmort ساخت کشور آلمان) و برای ۸ ساعت روشنایی ظروف پتری در محیط آزمایشگاه و در مجاورت نور خورشید قرار داده شدند. همچنین قابل ذکر است که برای اعمال تیمارهای هورمونی، بذرهای ریواس برای دو مدت زمان ۲٤ و ٤۸ ساعت درون هورمون‌های مذکور داخل انکوباتور (دمای °C ۱±۲۱) و شرایط تاریکی قرار گرفتند. آزمایشها در قالب طرح کامل تصادفی و به صورت فاکتوریل با سه تکرار (تعداد ۳۰ عدد بذر در هر تکرار) و تیمارهای زیر انجام گردید.

۱- تیمار تلفیقی اسید جیبرلیک (در غلظت ppm۵۰۰، زیرا در این مجموع آزمایشها مؤثرترین میزان اسید جیبرلیک، غلظت ppm۵۰۰ بود) و سرمادهی (به مدت ۵، ۱۰ ، ۱۵ ،۲۰ و ۲۵ روز).

۲- پیش‌سرمادهی مرطوب بذرها در دمای ۲ درجه سانتی‌گراد در پنج سطح زمانی (۵، ۱۰ ، ۱۵ ،۲۰ و ۲۵ روز).

۳- خیساندن بذرها در هورمون اسید جیبرلیک با غلظت‌های ppm ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ (به مدت ۲٤ و ٤۸ ساعت).

٤- خیساندن بذرها در هورمون کینیتین با غلظت‌های ppm ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ (به مدت ۲٤ و ٤۸ ساعت).

۵- خیساندن بذرها در هورمون اکسین با غلظت‌های ppm ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ (به مدت ۲٤ و ٤۸ ساعت).

٦- خیساندن بذرها در هورمون ۲٤- اپی‌براسینولید با غلظت‌های ppm ۰/۵ و ۱ (به مدت ۲٤ و ٤۸ ساعت).

۷- خیساندن بذرها در اسید سولفوریک ۷۵٪ (به مدت ۵ و ۱۰ دقیقه).

Archive of SID

www.SID.ir

۸- خیساندن بذرها در آب داغ ۷۰ و ۹۰ درجه سانتی‌گراد (به مدت ۱۵ دقیقه).

۹- قرار دادن بذرها در آب جاری (به مدت ۲٤ و ٤۸ ساعت).

۱۰- خیساندن بذرها در نیترات پتاسیم ۰/۲٪ (به مدت ۲٤ و ٤۸ ساعت).

در هر مرحله، ابتدا ظروف پتری، بالن ژوژه و کلیه وسایل و همچنین آب مقطر در اتوکلاو در دمای ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد و فشار bar ۱/۲ به مدت ۲ ساعت استریل شدند.

نخستین شمارش جوانه‌زنی در سومین روز و آخرین شمارش ۲٤ روز پس از اعمال تیمارها انجام گردید. بذرهایی که ریشه‌چه آنها قابل رؤیت بود (یعنی طولی در حدود ۲ میلی‌متر داشت)، به‌عنوان بذر جوانه‌زده شمارش و نتایج یادداشت شد. سپس با استفاده از دو فرمول زیر به‌ترتیب درصد و سرعت جوانه‌زنی محاسبه گردید (علیزاده و عیسوند، ۱۳۸۳):

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

(روز nام/تعداد بذر جوانه‌زده در روز nام) Σ =سرعت جوانه‌زنی

تجزیه و تحلیل‌های آماری براساس طرح کامل تصادفی (تیمار همزمان اسید جیبرلیک و سرمادهی) و طرح فاکتوریل کامل تصادفی (دیگر تیمارها) صورت گرفت. برای ارزیابی پیش‌تیمارهای مورد استفاده در این تحقیق روی پارامترهای اندازه‌گیری شده (درصد و سرعت جوانه‌زنی)، همه داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار Excel و SAS تحت آنالیز ANOVA قرار گرفتند و اختلاف میانگین‌ها با روش LSD (P<۰/۰۱ و P<۰/۰۵) مقایسه شدند.

نتایج

تیمار تلفیقی اسید جیبرلیک و سرمادهی مرطوب

نتایج حاصل از داده‌های تأثیر تلفیقی اسید جیبرلیک (در غلظت ۵۰۰ppm) و سرمادهی مرطوب به مدت ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ روز بر شکست خواب بذرهای ریواس نشان داد که تأثیر این تیمار بر درصد و سرعت جوانه‌زنی کاملاً معنی‌دار است (P<۰/۰۱). در این مجموع آزمایشها با افزایش مدت زمان سرما مرتباً به‌طور صعودی بر میزان جوانه‌زنی (اعم از سرعت و درصد جوانه‌زنی) افزوده شد تا در سطح تیمار ۲۵ روز به حداکثر خود رسید (یعنی ۹٦٪ جوانه‌زنی و ۵ عدد بذر جوانه‌زده در روز) (شکل ۱).

تیمار پیش‌سرمادهی مرطوب

بررسی تأثیر سطوح مختلف سرمادهی در ۲ درجه سانتی‌گراد و در پنج سطح زمانی ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ روز بر گیاه ریواس نشان داد که این تیمار باعث افزایش معنی‌داری بر درصد و سرعت جوانه‌زنی می‌شود (P<۰/۰۱). با افزایش مدت زمان سرمادهی از ۵ روز به ۲۵ روز مرتباً و به‌طور همگام بر درصد و سرعت جوانه‌زنی افزوده شد، به‌طوری‌که بیشترین درصد جوانه‌زنی (۸۹٪) و سرعت جوانه‌زنی (٦ عدد بذر جوانه‌زده در روز) در سرمادهی ۲۵ روزه مشاهده شد (شکل ۲).

تیمار هورمونی اسید جیبرلیک

طبق نتایج حاصل از اثر متقابل غلظت‌های مختلف هورمون GA_3 (۰ ppm، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰) و مدت زمان فرو بردن در هورمون (۲٤ و ٤۸ ساعت) در گیاه ریواس، مشخص شد که از لحاظ صفات مورد

Archive of SID

www.SID.ir

ارزیابی (درصد و سرعت جوانه‌زنی)، بین تیمارها اختلاف کاملاً معنی‌دار وجود دارد (P<۰/۰۱). همان‌گونه که در شکل ۳ مشخص است با افزایش غلظت این هورمون از ۱۰۰ppm تا ۵۰۰ppm مرتباً بر درصد جوانه‌زنی بذرهای ریواس افزوده شد، به‌گونه‌ای که در غلظت ۵۰۰ppm به حداکثر خود یعنی ٦۵٪ رسید. اما پس از آن با افزایش غلظت هورمون به ۱۰۰۰ppm از میزان آن کاسته شد (٤۹٪). بنابراین در تمامی تیمارها با غلظت‌های مختلف این هورمون، بهترین نتایج برای سطح زمانی تیمار برای ٤۸ ساعت بدست آمد. مطابق با شکل ۳ بیشترین سرعت جوانه‌زنی (۳ عدد بذر جوانه زده در روز) برای غلظت ۲۵۰ppm و تیمار ٤۸ ساعته بدست آمد.

تیمار هورمون کینیتین

بررسی نتایج حاصل از غلظت‌های مختلف هورمون کینیتین (۰ ppm، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰) (در دو زمان ۲٤ و ٤۸ ساعت) بر گیاه ریواس نشان داد که افزایش سطوح این تیمار باعث افزایش معنی‌داری بر درصد و سرعت جوانه‌زنی می‌شود (P<0.01). با افزودن غلظت کینتین از ۱۰۰ تا ۵۰۰ ppm مرتباً به‌طور مشخصی بر درصد و سرعت جوانه‌زنی بذرهای ریواس افزوده شد، به‌طوری که بیشترین درصد (٤۳٪) و سرعت جوانه‌زنی (۲ عدد بذر جوانه زده در روز) در تیمار ٤۸ ساعت خیساندن در غلظت ۵۰۰ ppm این تنظیم‌کننده رشد مشاهده شد (شکل ٤). اما با بالا رفتن غلظت از ۵۰۰ به ۱۰۰۰ppm به شدت از درصد و سرعت جوانه‌زنی کاسته شد.

تیمار هورمون اکسین

آزمایشهای مربوط به غلظت‌های مختلف هورمون اکسین (۰ ppm، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰) (در دو زمان ۲٤ و ٤۸ ساعت)، بر گیاه ریواس نشان داد که تأثیر این تیمار بر درصد و سرعت جوانه‌زنی کاملاً معنی‌دار است (P<۰/۰۱). همان‌طور که در شکل ۵ مشخص است بیشترین درصد جوانه‌زنی (۲۳٪) و سرعت جوانه‌زنی (۰/٦ عدد بذر جوانه زده در روز) در اثر تیمار با غلظت ۲۵۰ppm و مدت زمان ٤۸ ساعت بدست آمد. در غلظت‌های بالاتر از ۲۵۰ppm از درصد و سرعت جوانه‌زنی کاسته شد. در این مجموع آزمایشها نیز روند مشابهی بین افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی بذرهای ریواس مشاهده شد.

تیمار هورمون ۲٤- اپی‌براسینولید

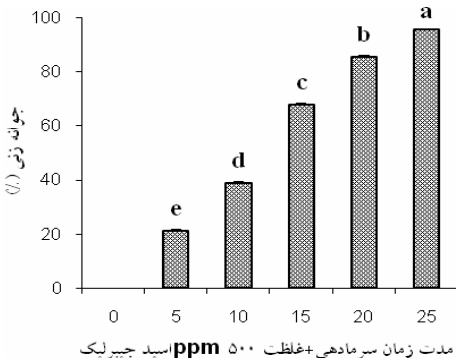
نتایج مربوط به اثرهای اصلی و متقابل هورمون ۲٤- اپی‌براسینولید (در دو غلظت ppm ۰/۵ و ۱) و مدت فرو بردن در هورمون (در دو زمان ۲٤ و ٤۸ ساعت) بر بذرهای ریواس نشان داد که از نظر درصد و سرعت جوانه‌زنی بین تیمارها اختلاف کاملاً معنی‌دار است (P<۰/۰۱). به‌طوری که بیشترین درصد جوانه‌زنی (۱۷٪) در اثر تیمار با این هورمون در غلظت ۰/۵ppm و مدت زمان ۲٤ ساعت بدست آمد (شکل ٦). از این رو بیشترین سرعت جوانه‌زنی (۰/۷تعداد بذر جوانه زده در روز) هم مربوط به همین تیمار بود (شکل ٦).

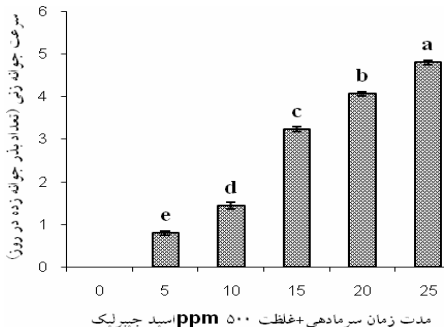
تیمارهای اسید سولفوریک، آب داغ، آب جاری و نیترات پتاسیم

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که دیگر تیمارهای بکار رفته یعنی نیترات پتاسم ۰/۲٪، آب جاری، آب داغ و اسید سولفوریک ۷۰٪ برای شکست خواب بذرهای ریواس فاقد هر گونه تأثیر معنی‌دار و قابل ملاحظه است.

Archive of SID

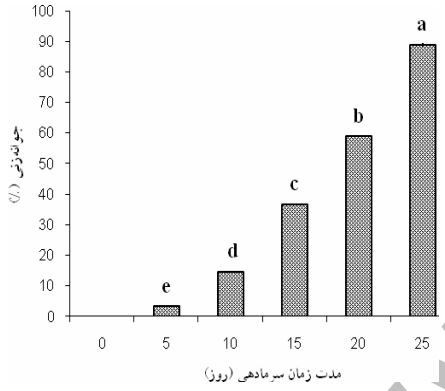
www.SID.ir

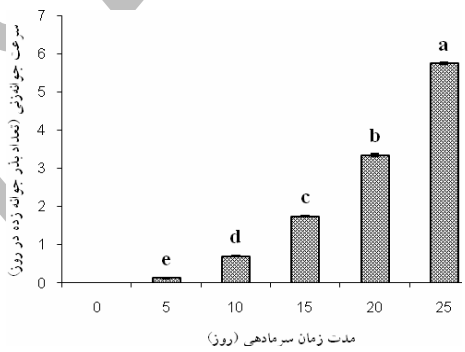




شکل ۱- اثر همزمان سرمادهی و اسید جیبرلیک بر درصد و سرعت جوانه‌زنی بذرهای خفته ریواس

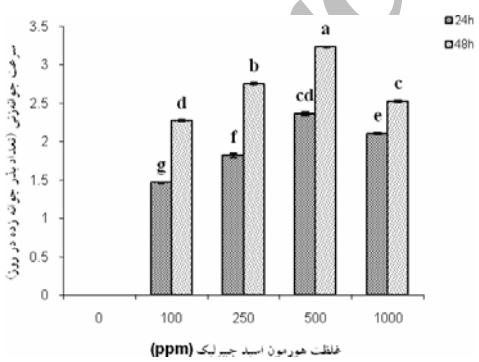
حروف غیریکسان بر روی ستون‌ها بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون LSD است (بار عمودی: میانگین سه تکرار± خطای معیار).

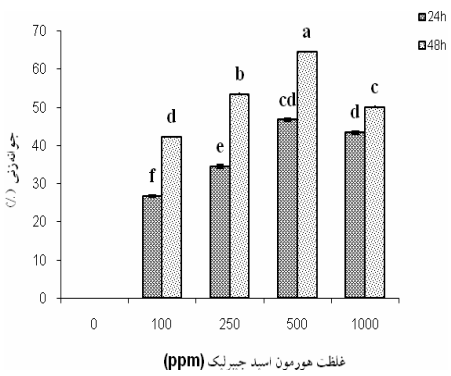




شکل ۲- اثر پیش سرمادهی مرطوب بر درصد و سرعت جوانه‌زنی بذرهای خفته ریواس

حروف غیریکسان بر روی ستون‌ها بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون LSD است (بار عمودی: میانگین سه تکرار ± خطای معیار).

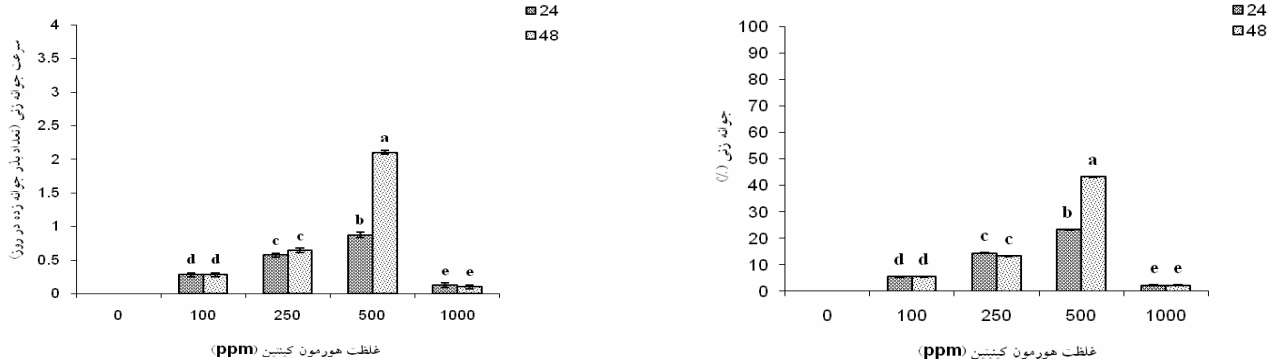




شکل ۳- اثر متقابل هورمون اسید جیبرلیک و زمان بر درصد و سرعت جوانه‌زنی بذرهای خفته ریواس

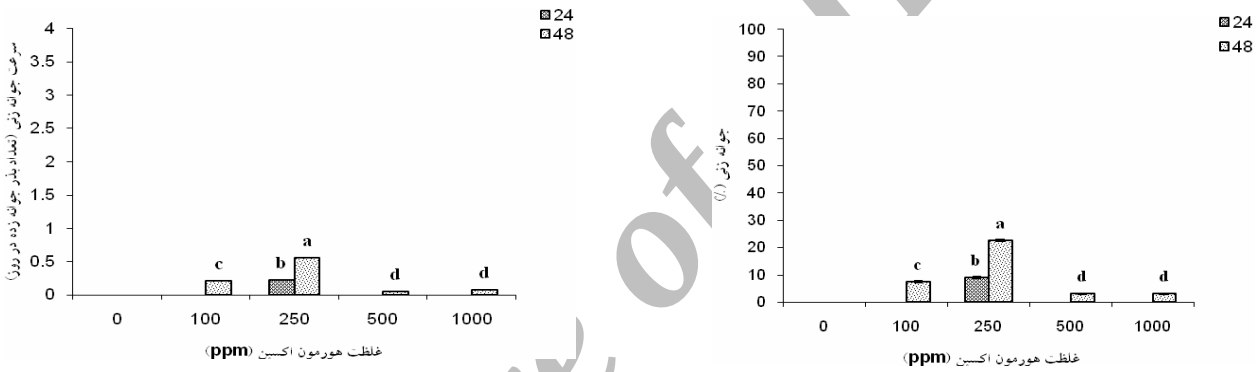
حروف غیریکسان بر روی ستون‌ها بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون LSD است (بار عمودی: میانگین سه تکرار ± خطای معیار).

Archive of SID
www.SID.ir



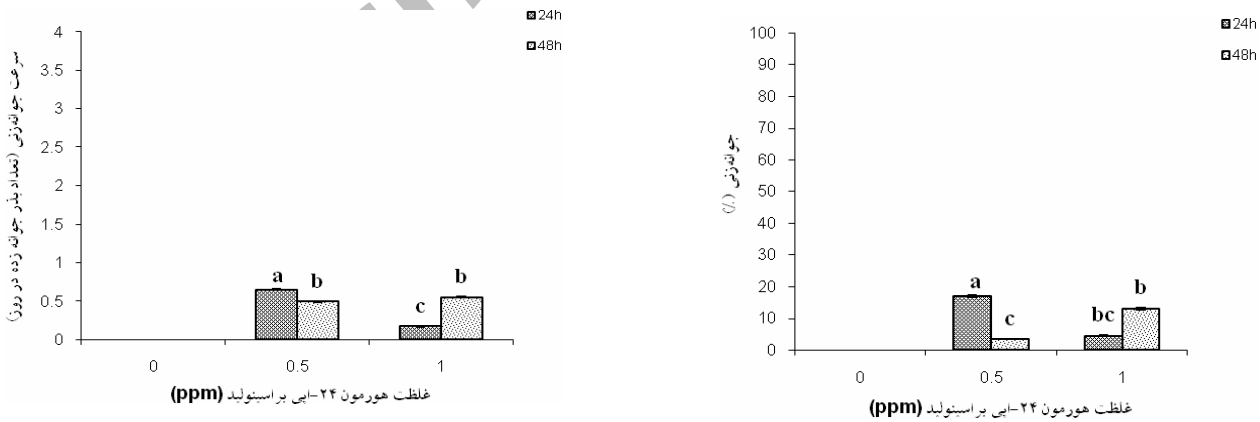
شکل ٤- اثر متقابل هورمون کینیتین و زمان بر درصد و سرعت جوانه‌زنی بذرهای خفته ریواس

حروف غیریکسان بر روی ستون‌ها بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون LSD است (بار عمودی: میانگین سه تکرار ± خطای معیار).



شکل ۵- اثر متقابل هورمون اکسین و زمان بر درصد و سرعت جوانه‌زنی بذرهای خفته ریواس

حروف غیریکسان بر روی ستون‌ها بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون LSD است. (بار عمودی: میانگین سه تکرار ± خطای معیار).



شکل ٦- اثر متقابل هورمون اکسین و زمان بر درصد و سرعت جوانه‌زنی بذرهای خفته ریواس

حروف غیریکسان بر روی ستون‌ها بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون LSD است (بار عمودی: میانگین سه تکرار ± خطای معیار).

Archive of SID
www.SID.ir

بحث

در مطالعه حاضر برای یافتن بهترین روشهای شکست خواب بذر ریواس از تیمارهای گوناگون هورمونی- شیمیایی (اسید جیبرلیک، کینتین، اکسین، ۲٤- اپی‌براسینولید، نیترات پتاسیم)، استراتیفیکاسیون سرد (۲°C)، اسکاریفیکاسیون (اسید سولفوریک و آب داغ) و آب جاری استفاده شد. از این میان تیمار تلفیقی سرمادهی و اسید جیبرلیک و پیش‌سرمادهی مرطوب (به‌ترتیب ۹٦٪ و ۸۹٪) بیشترین اثر را بر شکست خواب بذرهای ریواس نشان داد. با توجه به این‌که تأثیر تیمار اسید جیبرلیک تنها، فقط توانست درصد جوانه‌زنی بذرهای این گیاه را تا ٦٥٪ افزایش دهد پس می‌توان نتیجه‌گیری کرد که نقش سرمادهی مرطوب (۲°C) برای بذرهای این گیاه از اهمیت بیشتری برخوردار است. همسو با نتایجی که از بررسی حاضر بدست آمد تحقیقات مختلف بر روی گونه‌های متفاوت نیز حکایت از نقش مؤثر تیمار سرمادهی مرطوب بر شکست خواب بذرها دارد. گزارش شده است که معمولاً دمای ۵ درجه سانتی‌گراد یا اندکی کمتر برای گیاهانی که در اقلیم‌های سرد می‌رویند بیشترین تأثیر را در رفع خواب بذر دارد (Koornneff *et al*., 2002). مشخص شده است (Garcia-Gusano *et al*., 2004) که ارقام Desmayo و Ramillete گیاه بادام نیاز به ٦ هفته و ۲ رقم Mono و Wawona نیاز به ۸ هفته تیمار سرمایی دارند. برای شکست خواب بذر گیاه مریم نخودی (*Teucrium polium*) نیز یک دوره ١٤ روزه سرمادهی (۵°C) بسیار مؤثر می‌باشد (Nadjafi *et al*., 2006). در تحقیقی دیگر، تیمار ۷ و ١٤ روز سرمادهی باعث افزایش میزان جوانه‌زنی (۹۷-۹٦٪) بذرهای گیاه گون شده است (فاتح و همکاران، ١٣٨٤). افزایش جوانه‌زنی بذرها به واسطه پیش‌تیمار سرمادهی ناشی از شکافته شدن پوسته بذر در اثر سرماست که از مقاومت مکانیکی پوسته دانه بر رویان می‌کاهد. همچنین این احتمال وجود داردکه عامل سرما علاوه بر سنتز اسید جیبرلیک درون‌زا، محرک‌های دیگری را نیز فعال می‌کند که موجب افزایش سرعت و درصد جوانه‌زنی بذرها می‌گردد. به‌نظر می‌رسد که تیمار سرما سبب کاهش تراز هورمون‌های بازدارنده و افزایش تراز هورمون‌های محرک شده و به این ترتیب سبب افزایش پتانسیل جوانه‌زنی بذر می‌شود. این رویدادها به‌طور همزمان رخ داده و جوانه‌زنی در بذرها نتیجه توازن بین هورمون‌ها می‌باشد (Tipirdamaz & Gomurgen, 2000). کاهش تراز اسید آبسیزیک سبب افزایش حساسیت رویان به اسید جیبرلیک در مرحله گذر از حالت خواب به حالت غیرخواب در بذر بسیاری از گونه‌ها می‌شود (Kucera *et al*., 2005).

از طرفی اثر تیمار هورمونی اسید جیبرلیک (به تنهایی یا تشدید شده با تیمار سرمادهی) بر شکست خواب بذرهای گیاه ریواس را هم نمی‌توان از نظر دور داشت. 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 آبسیزیک است. به‌عبارت دیگر، اسید جیبرلیک به‌عنوان یک محرک شیمیایی می‌تواند سبب شکستن خواب فیزیولوژیک بذر شود. اسید جیبرلیک از طریق القاء سنتز 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 به درون اندوسپرم منتشر می‌شود تا به لایه آلورون برسد. در آنجا اسید جیبرلیک باعث آزاد شدن آنزیم‌های هیدرولیتیکی، ازجمله آلفا-آمیلاز می‌شود که متعاقباً این آنزیم‌ها باعث شکسته شدن نشاسته به الیگوساکاریدها می‌شوند. سپس الیگوساکاریدها طی مراحل بیوشیمیایی به گلوکز شکسته می‌شوند. بررسی‌ها در سطح مولکولی آشکار کرده است که اسید جیبرلیک توسط گیرنده‌های موجود بر روی غشاء سیتوپلاسمی درک و با G- پروتئین موجود در غشاء ارتباط برقرار می‌کند و به دنبال آن GTP به G- پروتئین

Archive of SID

www.SID.ir

متصل می‌گردد. در حضور اسید جیبرلیک، GTP- پروتئین به‌عنوان بخشی از اجزاء اولیه پیام‌رسانی اسید جیبرلیک در سلول‌های آلرونی وارد عمل می‌شود. GTP- پروتئین باعث تولید cGMP می‌شود. این مولکول حدواسط باعث تحریک فرایندهای دیگر مانند فعال شدن پروتئین کینازها، افزایش Ca^{2+}، باز شدن کانال‌های یونی و ... خواهد شد که همه این اجزاء به نوعی در پیام‌رسانی اسید جیبرلیک به هسته دخالت دارند. پس از ارسال حضور این هورمون به درون هسته، ژن GA-MYB رونوشت‌برداری می‌شود تا پروتئین آن که یک فاکتور رونویسی و باعث فعال شدن ژن آلفا-آمیلاز می‌شود، ساخته شود. بنابراین در استفاده از هر دوی این تیمارها شاهد افزایش چشمگیری در درصد جوانه‌زنی بذرهای ریواس خواهیم بود. همان‌طور که نتایج نشان دادند بهترین تیمار برای شکست خواب بذرهای ریواس استفاده همزمان از سرمادهی و اسید جیبرلیک (۵۰۰ ppm به مدت ۲۵ روز) می‌باشد.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که کینتین (از سیتوکنین‌ها) (۲۵۰ppm به مدت ٤٨ ساعت) نیز باعث افزایش درصد جوانه‌زنی (تا ٤٣٪) بذرهای خفته ریواس می‌شود. کینتین باعث افزایش فعالیت آلفا-آمیلاز و در نتیجه هیدرولیز نشاسته می‌شود (Yakimova *et al.*, 2000) و این فرایند لازمه جوانه‌زنی است. علاوه بر این، ممکن است سیتوکینین‌ها نفوذپذیری غشاء سیتوپلاسمی (Tipirdamaz & Gomurgen, 2000) و انتقال مواد از غشاء را تحت تأثیر قرار دهند. بنابراین به‌نظر می‌سد که رفع خواب بذرها توسط کینتین احتمالاً با افزایش نفوذپذیری غشاء و تبادلات مواد ذخیره‌ای مرتبط باشد. همچنین سیتوکینین‌ها با تحریک سنتز DNA و RNA فرایند تقسیم سلولی در رویان را افزایش و از این طریق جوانه‌زنی بذر را تسهیل می‌کنند (Chiwocha *et al.*, 2005). به این ترتیب سیتوکینین‌ها برای تکمیل القای جوانه‌زنی توسط GA لازم و به‌طور غیرمستقیم موجب کاهش اثر مواد بازدارنده رشد (مانند ABA) می‌شوند.

نتیجه آزمایشهای حاضر که به‌منظور بررسی تأثیر هورمون اکسین بر شکست خواب بذرهای ریواس انجام شد نشان داد که این هورمون نیز می‌تواند اثر مثبتی بر شکست خواب این گونه گیاهی داشته باشد (افزایش ۲۳٪ در غلظت ۲۵۰ppm به مدت ٤٨ ساعت). گزارشهای زیادی مبنی بر اثر مثبت هورمون اکسین بر افزایش درصد جوانه‌زنی وجود دارد که با نتیجه حاصل از این تحقیق همسو است (Chiwocha *et al.*, 2005؛ Sankhla & Mathur, 1968؛ Sidorenko, 1989؛ Singh, 1990). مشخص شده است که اکسین‌ها در تحریک جوانه‌زنی نقش دارند. این دسته از هورمون‌ها با کمک در طویل نمودن کلئوپتیل و کلئوریز (در گندمیان) و نیز با فعال نمودن زمین‌گرایی و نورگرایی، رشد رویان و نهایتاً جوانه‌زنی را تنظیم می‌کنند.

نتایج ما حکایت از آن داشت که تیمار بذرهای خفته ریواس با ٢٤- اپی‌براسینولید (۰/۵ppm برای ٢٤ ساعت) برای شکست خواب بذرهای مذکور تا اندازه‌ای مفید است. با توجه به این‌که غلظت بالای ۰/۵ppm از درصد جوانه‌زنی بذرها می‌کاهد، مطلوب است در آزمایشهای آینده مقادیر بسیار کمتر این هورمون (<۰/۵ppm) در آزمایشهای شکست خواب بذر استفاده شود. با بررسی پژوهش‌های انجام شده می‌توان دریافت که مجموعه تحقیقات پیرامون تأثیر براسینواستروئیدها بر شکست خواب بذر گیاهان هیچ یا بسیار ناچیز است و تنها اطلاعات نسبتاً محدودی در مورد اثر این هورمون‌ها بر تحریک جوانه‌زنی دانه‌های غیرخواب وجود دارد. از این میان می‌توان به نتایج آزمایشهای Steber و McCourt (2001) اشاره کرد. آنها هنگام مطالعه بر روی گیاه آرابیدوپسیس دریافتند که هورمون ٢٤- اپی‌براسینولید می‌تواند نقشی مشابه با جیبرلین در افزایش جوانه‌زنی بذر داشته باشد و احتمالاً کاهش بیوسنتز و حساسیت به اسید آبسیزیک یا افزایش بیوسنتز و حساسیت به جیبرلین، دلیل افزایش جوانه‌زنی بذرهای خیسانده شده در محلول حاوی

Archive of SID
www.SID.ir

۲٤- اپی‌براسینولید است. همچنین ممکن است تحریک جوانه‌زنی توسط براسینواستروئیدها به‌علت تحریک هیپوکوتیل و نمو رویان باشد. نتایج مشابهی در گیاهانی مانند گندم، برنج، کلزا، بادام‌زمینی و اکالیپتوس بدست آمده است (Nadjafi *et al*., 2006). براسینواستروئیدها می‌توانند باعث افزایش تجزیه اندوسپرم بذرهای تنباکو (که آب جذب کرده‌اند) در نور شوند و آغازگر جوانه‌زنی و طویل شدن دانه‌رست باشند. به‌عبارت دیگر، براسینواستروئیدها و جیبرلین‌ها (هر دو گروه) می‌توانند تأثیر اسید آبسیزیک را در دانه‌های خواب بی‌نیاز از نور تحت شرایط تاریکی، مهار کنند (Guan & Scandalios, 2002). اگرچه هنوز مکانسیم عمل هورمون ۲٤- اپی‌براسینولید به خوبی شناسایی نشده است، ولی احتمال می‌رود ۲٤- اپی‌براسینولید و اسید جیبرلیک به‌وسیله مسیرهای انتقال پیام نزدیک به هم و مکانیسم‌های مشابه، آغازکننده جوانه‌زنی در گیاهان باشند. بنابراین با توجه به عدم وجود یا وجود بسیار اندک تحقیقات پیرامون تأثیر هورمون ۲٤- اپی‌براسینولید بر شکست خواب بذر، می‌توان اذعان کرد که تحقیق حاضر می‌تواند به‌عنوان جزئی از اولین گزارشهای مربوط به تأثیر هورمون ۲٤- اپی‌براسینولید بر شکست خواب بذر تلقی شود.

تیمارهای دیگر یعنی نیترات پتاسم ۰/۲٪، آب جاری، آب داغ و اسید سولفوریک ۷۰٪ فاقد هر گونه تأثیر معنی‌دار و قابل ملاحظه بر شکست خواب بذرهای ریواس بودند. عدم تأثیر اسکاریفیکاسیون (آب داغ و اسید سولفوریک ۷۰٪) نشانگر آن است که خواب این بذرها ناشی از سختی و غیرقابل نفوذ بودن پوسته دانه نمی‌تواند باشد. علاوه بر این نمی‌توان اذعان داشت که خواب این بذرها به‌علت تجمع بازدارنده‌های رشد نظیر فنل‌ها و کومارین است چون شستشو در آب جاری نیز نتوانست خواب آن‌ها را برطرف کند.

به‌طورکلی می‌توان این‌گونه نتیجه‌گیری کرد که خواب بذرهای ریواس از نوع فیزیولوژیک است و یکی از مناسبترین شیوه‌ها برای تحریک جوانه‌زنی آنها استفاده همزمان از پیش‌سرمادهی مرطوب و اسید جیبرلیک (۵۰۰ppm) به مدت ۲۵ روز است. علاوه بر این، در این مجموع آزمایشها (صرف‌نظر از نوع تیمار) اکثراً همبستگی مثبت بین درصد و سرعت جوانه‌زنی بذرهای ریواس مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). بنابراین جوانه‌زنی سریع با درصد جوانه‌زنی بالاتر همگام بوده است.

منابع مورد استفاده

- رحیمیان، ر. و خسروی، م.، ۱۳۷۵. فیزیولوژی بذر (ترجمه). انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، ۹٦ صفحه.
- زرگری، ع.، ۱۳۷۵. گیاهان دارویی. جلد سوم، انتشارات دانشگاه تهران، ۸۹۴ صفحه.
- فاتح، ا.، مجنون‌حسینی، ن.، مداح عارفی، ح. و شریف‌زاده، ف.، ۱۳۸٤. بررسی روشهای شکست خواب بذر در گون (*Astragalus tribuloides*). تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۱۳(٤):۳٦۰-۳٤۵.
- Aberlenc-Bertossi, F., Noirot, M. and Duval, Y., 1999. BA enhances the germination of oil palm somatic embryos derived from embryogenic suspension cultures. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 56(1): 53-57.
- Bialek, K., Michalczuk, L. and Cohen, J.D., 1992. Auxin biosynthesis during seed germination in *Phaseolus vulgaris*. Plant Physiology, 100(1): 509-517.
- Birgit K., M Alan Cohn and G. Leubner-Metzger. 2005. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. Seed Science Research. 15: 281–307.
- Chiwocha, S.D., Cutler, A.J., Abrams, S.R., Ambrose, S.J., Yang, J., Ross, A.R. and Kermode, A.R., 2005. The *etr1-2* mutation in *Arabidopsis thaliana* affects the abscisic acid, auxin, cytokinin and gibberellin metabolic pathways during maintenance of seed dormancy, moist chilling and germination. Plant Journal, 42(1): 35-48.
- Ellis, R.H., Hong, T.D. and Roberts, E.H., 1985. Handbook of Seed Technology for Genebanks Volume II. Compendium of Specific Germination Information and Test Recommendations. International Board for Plant Genetic Resources, Rome, 667p.

Archive of SID
www.SID.ir

- Garcia-Gusano, M., Martinez-Gomez, P. and Dicenta, F., 2004. Breaking seed dormancy in almond (*Prunus dulcis*). Scientia Horticulturae, 99: 363-370.
- Guan, L.M. and Scandalios, J.G., 2002. Catalase gene expression in response to auxin-mediated developmental signals. Physiologia Plantarum, 114(2): 288-295.
- Held, J.S., Doren, V. and Lookwood, T.J., 1996. Brassinolide application to *Lepidium sativum* seeds and the effects on seedling growth. Plant Growth Regulation, 15: 63-67.
- Koornneff, M., Bentsink, L. and Hilhorst, H., 2002. Seed dormancy and germination. Current Opinion in Plant Biology, 5: 33-36.
- Kucera, B., Cohn, M.A. and Leubner-Metzger, G., 2005. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. Seed Science Research, 15: 281-307.
- Leubner-Metzger, G., 2001. Brassinosteroids and gibbrellins promote tobacco seed germination by distinct pathway. Planta, 213: 758-763.
- Li, M., and Leung, D.W.M., 2000. Starch accumulation is associated with adventitious root formation in hypocotyls cutting of *Pinus radiate*. Journal of Plant Growth Regulation, 19(4): 423-42.
- Nadjafi, F., Bannayan, M., Tabrizi, L. and Rastgoo, M., 2006. Seed germination and dormancy breaking techniques for *Ferula gummosa* and *Teucrium polium*. Journal of Arid Environments, 64(3): 542-547.
- Naidu, C.V. and Rajendrudu, G., 2001. Influence of kinetin and nitrogenous salts on seed germination of red sanders (*Pterocarpus santalinus*). Seed Science and Technology, 29:669-672.
- Sairam, R.K., Shukla, D.S. and Deshmuk, P.S., 1996. A role of brassinosterids in germination of Wheat. Indian. Journal Plant Physiology, 1: 141-144.
- Sasse, J.M., Smith, R. and Hudson, I., 1995. Plant growth regulators. Planta, 22: 136-141.
- Sankhla, H.C. and Mathur, R.L., 1968. Effect of growth regulating substances, inorganic fertilizers, seed oil cakes and soil pH on germination of cumin (*Cuminum cyminum*) seeds. Indian Journal of Agriculture Science, 38: 270-274.
- Sidorenko, T.V., 1989. Effect of gibberellic acid on germinationof seed having different types of dormancy. Ukrains' Kii Botanichnii zhurnal, 46: 66-68.
- Singh, V., 1990. Influence of indole acetic acid (IAA) and indole butyric acid (IBA) on seed germination of spruce. The Indian Forester, 116(6): 450-455.
- Steber, C.M. and McCourt, P., 2001. A role for brassinosteroids in germination in *Arabidopsis*. Plant Physiology, 125(2): 763-769.
- Takeuchi, Y., Omigava, Y., Yonegama, K. and Konnai, M., 1995. Effects of brassinolide on germination of *Orabanchae minor* seeds. Physiologia Plantarum, 16: 153-160.
- Thomas, T.H., Palevitch, D., Biddington, N.L. and Austin, R.B., 1975. Growth regulation and the phytochorome-mediated dormancy of celery seeds. Physiologia Plantarum, 35: 101-106.
- Tipirdamaz, R. and Gomurgen, N., 2000. The effects of temperature and gibberellic acid on germination of *Eranthis hyemalis* Salisb. Turkish Journal of Botany, 24: 143-145.
- Yakimova, E., Kapchina, V., Groshkoff, I. and Ivanova, G., 2000. Effects of BA and CPPU on protease and α-amylase activity of invitro cultured explants of *Rosa hybrida* L. Bulgarian Journal of Plant Physiology, 26(1-2): 9-47.

Archive of SID

www.SID.ir

Effective techniques to break seed dormancy and stimulate seed germination in *Rheum ribes* L.

M. Nabaei[*1], P. Roshandel[2] and A. Mohammadkhani[3]

1*- Corresponding author, Department of Biology, Factualy of Science, Arak University, Arak, Iran
E-mail: mnabaei168@yahoo.com
2- Department of Biology, Faculty of Science, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
3- Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

Received: October 2009 Revised: October 2010 Accepted: October 2010

Abstract

Rheum ribes is a plant species in Polygonaceae family which grows in Iran and is considered as a valuable medicinal species in traditional medicine. *Rheum ribes* seeds hardly germinate because of seed dormancy and may cause difficulties for its massive industrial cultivations. This study was performed to determine the best treatment for seed dormancy breaking. To achieve this goal, several treatments were applied comprising: Hot water (70 and 90 ˚C) for 15 minutes, moist chilling (at 2 ˚C) for 5, 10, 15, 20 and 25 days, sulfuric acid 75% (5 and 15 minutes), KNO_3 (0.2%), gibberellic acid, kinetin, auxin (100, 250, 500 and 1000 ppm) and 24-epibrassinolid (0.5 and 1 ppm), for 24 and 48 h washing (for 24 and 48 h), and finally a combined treatment of gibberellic acid (500 ppm) and chilling at 2 ˚C for 5, 10, 15, 20 and 25 days. According to the results, seed dormancy in *Rheum ribes* is physiological since the highest germination percentage (96%) was obtained by using the combined treatment of gibberellic acid (500 ppm) and pre-chilling (for 25 days). In addition, the effect of moist chilling treatment –by itself- on breaking seed dormancy was remarkable in this plant as germination increased up to 89%. Effects of hormones were also statistically significant on increasing seed germination but compared with the salient effect of combined chilling and gibberellic acid treatment was not so remarkable. On the other hand, other applied treatments had no effects on breaking seed dormancy in *Rheum ribes* which indicates that the type of seed dormancy in *Rheum ribes* is not physical or due to the accumulation of inhibitory substance in seed coat.

Key words: *Rheum ribes* L., seed dormancy, moist-pre chilling, gibberellic acid.

Archive of SID

www.SID.ir