Archive of SID

مجله علوم و تکنولوژی بذر، سال دوم، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۱

بررسی اثرات استراتیفه سرمایی، اسید جیبرلیک و پوست برداری با اسید سولفوریک روی جوانه‌زنی بذور سه ژنوتیپ زرشک ایرانی

مهدی رضائی*[1]، احمد بالندری[2]

[1] استادیار گروه علوم باغبانی و گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود

[2] استادیار پژوهشکده علوم صنایع غذایی خراسان رضوی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۲/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۹/۲۲

چکیده

در این تحقیق، اثرات استراتیفه سرمایی، اسید جیبرلیک و پوست برداری با اسید سولفوریک در یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار بروی جوانه‌زنی بذور سه ژنوتیپ زرشک ایرانی (R2N1، R5N1 و R9N3) از گونه‌های *Berberis integerrima*، *B. crataegina* × *integerrima* و *B. crataegina* بررسی گردید. نتایج نشان‌دهنده اثرات معنی‌دار (P=0.001) ژنوتیپ، تیمار اسید جیبرلیک، پوست‌برداری با اسید سولفوریک و استراتیفه سرمایی در درصد جوانه‌زنی بذور بود. ژنوتیپ‌های زرشک از نظر قدرت جوانه‌زنی و نیازهای جوانه‌زنی بذور با یکدیگر اختلافات قابل توجهی را نشان دادند. درصد جوانه‌زنی بذور ژنوتیپ R9N3 نسبت به بقیه بسیار کمتر بود و تنها پس از ۹۰ روز سرمادهی، بذور پوست‌برداری شده با اسید سولفوریک در حدود ۲۶ درصد جوانه‌زنی داشتند. حداکثر درصد جوانه‌زنی بذور ژنوتیپ R5N1 به میزان ۷۰ درصد پس از پوست برداری با اسید و در ٤٥ روز سرمادهی بود در حالی که حداکثر درصد جوانه‌زنی ژنوتیپ R2N1 به میزان ۷٦ درصد در ۹۰ روز سرمادهی و بدون پوست برداری با اسید بدست آمد. استراتیفه سرمایی مهمترین عامل در جوانه‌زنی بذور زرشک است.

واژگان کلیدی: استراتیفه سرمایی، اسید جیبرلیک، پوست برداری، زرشک، جوانه‌زنی بذر

مقدمه

تیره زرشک شامل ۱۵ جنس و ٦٥٠ گونه بوده و بیشتر در مناطق معتدله نیمکره شمالی پراکنده است. مهمترین جنس‌های تیره زرشک *Mahonia* (۱۰۰ گونه)، *Berberis* (۵۰۰ گونه) و *Podophyllum* می‌باشد (Ahrendt 1961). گیاهان این خانواده شامل درختچه‌های همیشه سبز و نیمه سبز (خزان کننده) هستند که در محدوده وسیعی از شرایط اکولوژیکی رشد می‌کنند. زرشک بی دانه با میوه‌های پارتنوکارپ در خراسان جنوبی بصورت تجاری پرورش داده می‌شود و از گونه‌های وحشی زرشک برای تهیه آب میوه، لواشک و مصارف داروئی استفاده می‌شود (Ebadi et al., 2010؛ Kafi et al., 2004).

بذور گونه‌های زرشک از نظر قدرت جوانه‌زنی تفاوت بسیاری با یکدیگر دارند (CUI Xian et al., 2011). بذور اکثر گونه‌های چند ساله معتدله برای جوانه‌زنی نیازمند سرما هستند. هورمون جیبرلین از جمله مواد تحریک‌کننده‌ای

*مسئول مکاتبه: rezaei890@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

است که می‌تواند جایگزین نیاز سرمایی در گونه‌های معتدله شود (Aglaia et al., 2011). نیاز سرمایی برخی از گونه‌های زرشک فقط یک هفته است و برخی تا سه ماه هم نیاز سرمایی دارند. بذور را می‌توان در پیت[1] یا شن مرطوب شده در جعبه‌های پلاستیکی در دمای چهار یا پنج درجه در یخچال چینه سرمایی داد و بذور نمی بایست در محیط مرطوب یخ بزنند. طبق توصیه‌های انجام شده، بذر گونه *Berberis vulgaris* بهتر است به‌طور سطحی و با زهکش خوب کشت شوند دمای جوانه‌زنی آنها می‌بایست بین ۱۰ تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد باشد. بذور گونه *Berberis vulgaris* معمولاً بین ٦٠ تا ۱۸۰ روز نیاز سرمایی دارند و حتی در بهترین شرایط جوانه‌زنی ممکن است نامنظم باشد. بذور برخی از گونه‌های زرشک از جمله *B. vulgaris* برای جوانه‌زنی و در هنگام کشت در بهار نیاز به نور دارند (Maliwichi-Nyirenda et al., 2011). جوانه‌زنی بذور زرشک گونه بومی آفریقای جنوبی (*Berberis holstii*) در تیمارهای دمایی و نور مورد بررسی قرار گرفت. اگرچه بذور این گونه برای جوانه‌زنی نیاز سرمایی نداشت اما جوانه‌های سرما دیده سریع تر از آنهایی که در دمای اتاق بودند جوانه زدند. در این گونه بذور هم در روشنایی و هم در تاریکی جوانه زدند ولی درصد جوانه‌زنی بذور در معرض نور بیشتر بود. دمای ثابت ۲۰ درجه باعث افزایش جوانه‌زنی بذور این گونه شده و نوسانات دمایی ۵/۲۰ درجه باعث کاهش جوانه‌زنی بذور آن گردید (Maliwichi-Nyirenda et al., 2011). در یک مطالعه بروی درصد جوانه زنی، سرعت جوانه‌زنی و طول دوره جوانه‌زنی بذور چند گونه زرشک مشخص گردید که این صفات یک رابطه منفی با اندازه بذر و یک رابطه مثبت ضعیف با ارتفاع از سطح دریا دارند (CUI Xian et al., 2011). Thakur (2008) برای برطرف کردن موانع جوانه‌زنی برخی از گونه‌های اندمیک هیمالیای شرقی در هند از جمله گونه *Berberis aristata* یک سری تیمارهای پیش جوانه‌زنی اسمزی[2] با پلی‌اتیلن گلیکول، تیوراآ، پتاسیم دهیدرو فسفات و ساکاروز بکار برد. بذور تیمار شده گونه *B. aristata* هنگامی که با دهیدروژن فسفات پتاسیم و ساکاروز تیمار شدند نسبت به شاهد به‌ترتیب ۳۵۰ و ۱۸۹ درصد، جوانه‌زنی آنها افزایش پیدا کرد (Thakur, 2008). بذور گونه *Berberis aristata* پس از ۹۰ روز سرمادهی در دمای دو درجه سانتی‌گراد در حدود ۸٤ درصد جوانه‌زنی داشتند (Thakur et al., 2005). خیس کردن در آب، قرار دادن در آب روان و تیمار با اسید اثرات بسیار مفیدی در جوانه‌زنی زودتر و بهبود جوانه‌زنی بذور و قدرت نهال‌های گونه *Berberis aristata* داشت (Thakur et al., 2005). پالپ و میوه‌های زرشک می‌تواند از جوانه‌زنی برخی بذور جلوگیری کنند (Khanduri et al., 1982) میوه‌های زرشک اثرات آللوپاتیکی بروی جوانه‌زنی و رشد گیاهان کشت شده در مزرعه دارد. پالپ میوه زرشک باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های آمیلاز و اسید فسفاتاز می‌شود (Khanduri et al., 1982).

مطالعه روند جوانه‌زنی بذر در زرشک هم در حفظ گونه ها و هم در انجام کارهای اصلاحی اهمیت ویژه ای دارد. هدف این تحقیق، بررسی روش‌های رفع موانع جوانه‌زنی بذور گونه‌های ایرانی زرشک است. طبق اطلاعات ما در زمینه رفع موانع جوانه‌زنی بذور گونه‌های وحشی زرشک در ایران اطلاعات چندانی وجود ندارد.

مواد و روش‌ها

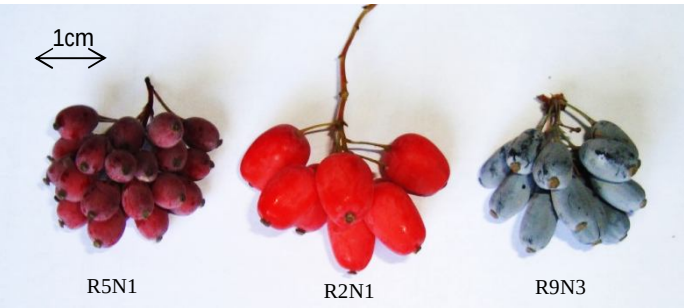
جمع‌آوری بذور: بذور از سه ژنوتیپ وحشی موجود در کلکسیون زرشک واقع در پارک علم و فناوری مشهد جمع‌آوری گردید. سه ژنوتیپ با کدهای R2N1، R5N1 و R9N3 به‌ترتیب مربوط به گونه‌های

[1] Peat
[2] Osmopriming

www.SID.ir

Archive of SID

Berberis integerrima، *B. crataegina*× *integerrima* و *B. crataegina* می‌باشند. میوه‌ها در اواخر شهریورماه در رسیدگی کامل جمع‌آوری شد و پالپ میوه از بذور جدا شده و بذر پس از ۱۵ دقیقه شستشو در آب روان در سایه خشک شده و در محیط انباری سرد و خشک نگهداری شدند.



شکل ۱. میوه و خوشه سه ژنوتیپ زرشک

اعمال تیمارها: در این آزمایش تیمارهای مختلف شامل اسید جیبرلیک در غلظت‌های صفر، ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام، سرمادهی در دمای ۵ درجه در سه سطح صفر، ٤٥، ۹۰ روز و پوست برداری با اسیدسولفوریک و بدون تیمار اسید در یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و ۲۵ بذر در هر واحد آزمایشی اعمال گردید. پس از اعمال تیمار، بذور در دمای ۲۵ درجه و در شرایط گلخانه‌ای (١٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت خاموشی) کشت شدند. درصد جوانه‌زنی بذور بر مبنای خروج بیش از یک سانتی‌متری ریشه‌چه اندازه‌گیری (شکل ۲) و با نرم‌افزار SAS 9.1 (SAS Institute Inc.2004) مورد آنالیز آماری قرار می گیرند. مقایسه میانگین ها با آزمون LSD[1] انجام گرفت.

برای تعیین مدت زمان قرار دادن بذور در اسید سولفوریک خالص بدون آسیب دیدن بذور یک آزمایش اولیه با نمونه بذر هایی از ژنوتیپ R5N1 انجام گردید بذور در زمان‌های مختلف ۵، ۷/۵، ۱۰/۵، ۱۲/۵، ۱۵، ۱۷/۵ و ۲۰ دقیقه در اسید قرار داده شدند و سپس در زیر آب روان شسته و میزان خسارت وارده بر مبانی خسارت و نفوذ اسید به پوسته و بافت آلبومن داخلی بذور ارزیابی گردید. به‌دلیل نرمال نبودن داده‌ها (عدم جوانه‌زنی در برخی تیمار)، برای تجزیه آماری از ریشه دوم هر یک از داده‌ها به‌علاوه نیم استفاده گردید. شکل‌ها بر اساس میانگین‌های واقعی و سطوح معنی‌داری آن بر اساس تجزیه داده‌های نرمال شده اعمال گردید. داده‌هایی که از نظر آماری دارای تفاوت معنی‌داری بودند به شکل شکل‌ها و جدول نمایش داده شدند.

نتایج

پس از بررسی نتایج اولیه از خسارت ظاهری اسیدسولفوریک بروی بذور مدت زمان ۱۲/۵ دقیقه قراردهی بذور در اسیدسولفوریک غلیظ تعیین گردید. در این زمان پوسته خارجی بذر تا حد زیادی برداشته شده و به آلبومن و جنین هم خسارتی وارد نشده بود.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساده ژنوتیپ، تیمار اسید جیبرلیک و اسکاریفیکاسیون با اسید سولفوریک و تیمارهای سرمایی در سطح ۰/۰۰۱ معنی‌دار شدند. اثرات متقابل ژنوتیپ در اسید، ژنوتیپ در تیمار سرمایی و تیمار

[1] Least Significant Difference

www.SID.ir

Archive of SID

ژنوتیپ در اسید در سرما در سطح ۰/۰۰۱ و اثرات متقابل جیبرلین در سرما در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار شدند. سایر اثرات متقابل معنی‌دار نشدند (جدول ۱).

جدول ۱. تجزیه واریانس اثر تیمارهای استراتیفه سرمایی، اسید جیبرلیک (GA_3) و اسکاریفیکاسیون اسید سولفوریک بر درصد جوانه‌زنی بذور سه ژنوتیپ زرشک ایرانی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
ژنوتیپ	۲	۱۹۱/۸۲***
اسید	۱	۲۰/۳۱***
جیبرلین	۱	۱۵/۵۲**
سرما	۲	۲۱۲/۳۸***
ژنوتیپ × اسید	۲	۱۳/۰۵***
ژنوتیپ × جیبرلین	۲	۳/۷۸ Ns
ژنوتیپ × سرما	٤	۱۸/۳۵***
اسید × جیبرلین	۱	۰/۷۹ Ns
اسید × سرما	۲	۱/۰۹ Ns
جیبرلین × سرما	۲	۹/٦۰**
ژنوتیپ × اسید × جیبرلین	۲	۰/۳٤ Ns
ژنوتیپ × اسید × سرما	٤	۱٤/۰٤***
اسید × جیبرلین × سرما	۲	۰/۲۵ Ns
ژنوتیپ × اسید × جیبرلین × سرما	۸	۱/۲۷ Ns
CV		۲۰/۱۱

*، ** و *** به‌ترتیب معنی‌داری در سطح ۵، ۱ و ۰/۱ درصد با آزمون LSD و Ns: عدم اختلاف معنی‌دار

نتایج نشان داد که درصد جوانه‌زنی ژنوتیپ R9N3 در اثر تیماری مختلف بسیار کمتر از سایر ژنوتیپ‌هاست (جدول ۲، شکل ۳ و ۵). میانگین درصد جوانه‌زنی بذور در ۹۰ روز بطور معنی‌داری بیشتر از ٤۵ روز می‌باشد و بدون تیمار سرمایی درصد بسیار کمی از بذور جوانه زدند (شکل ٤). تیمار با اسیدسولفوریک تنها باعث افزایش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی برخی از بذور ژنوتیپ R9N3 گردید (شکل ۳) و بروی درصد جوانه‌زنی بذور سایر ژنوتیپ‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت. تیمار اسیدجیبرلیک باعث افزایش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی بذور در ٤۵ روز سرمادهی بذ.ور گردید (شکل ۲)، ولی در پس از ۹۰ روز حتی باعث کاهش درصد جوانه‌زنی نیز شد (شکل ٤). اثرات متقابل ژنوتیپ در تیمار سرمایی در شکل ۵ نمایش داده شده است. بیشترین افزایش درصد جوانه‌زنی بذور با افزایش تعداد روز سرمادهی در ژنوتیپ R5N1 مشاهده می‌شود و این در حالی است که این روند افزایش در دو ژنوتیپ دیگر به این شدت نیست (شکل ۵). اثرات سه گانه ژنوتیپ در سرما در اسید نشان می‌دهد که حداکثر درصد جوانه‌زنی بذور ژنوتیپ R5N1 در تیمار اسکاریفیکاسیون با اسید در ٤۵ روز سرمادهی بدست می‌آید در حالی که در ژنوتیپ R2N1 حداکثر درصد جوانه‌زنی به میزان ۷٦ درصد در ۹۰ روز سرمادهی و بدون اسکاریفیکاسیون بدست می‌آید. بذور ژنوتیپ R9N3 تنها پس از تیمار با اسید و سرمادهی قادر به جوانه‌زنی هستند (جدول ۲).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲. اثرات سه گانه تیمارهای ژنوتیپ در اسکاریفیکاسیون با اسید در استراتیفه سرمایی بروی درصد جوانه‌زنی بذور

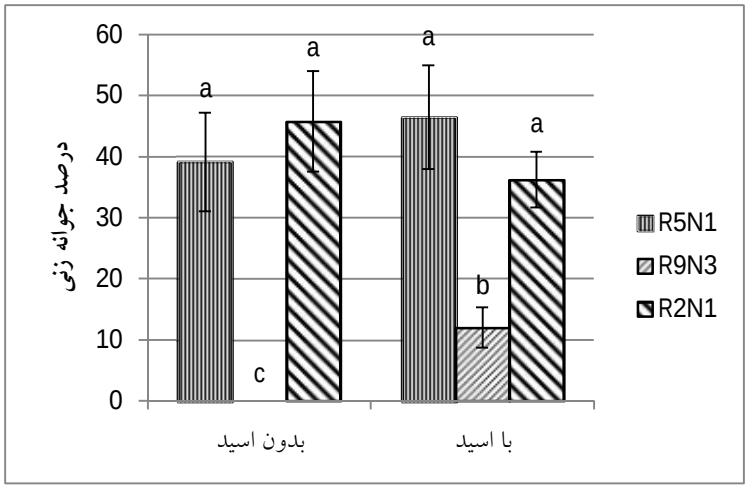
ژنوتیپ	تیمار اسیدسولفوریک	تعداد روز در دمای ٤ درجه	درصد جوانه‌زنی *
R5N1	بدون اسید	۰	٦/٦٦ ^{def}
		٤٥	٤١/٣٠ ^{c}
		۹۰	٦۹ ^{a}
	با اسید	۰	٤ ^{ef}
		٤٥	٦٤/٦٥ ^{a}
		۹۰	۷۰/٥۰ ^{a}
R9N3	بدون اسید	۰	۰ ^{f}
		٤٥	۰ ^{f}
		۹۰	۰ ^{f}
	با اسید	۰	۰ ^{f}
		٤٥	۱۰ ^{de}
		۹۰	۲٦ ^{c}
R2N1	بدون اسید	۰	۳/٥ ^{ef}
		٤٥	٥۸ ^{ab}
		۹۰	۷٦ ^{a}
	با اسید	۰	۱۲/٦٥ ^{d}
		٤٥	۳۹/۳۰ ^{bc}
		۹۰	٥٦/٦٦ ^{ab}

*: معنی‌داری با آزمون؛ LSD ($p = 0.01$)

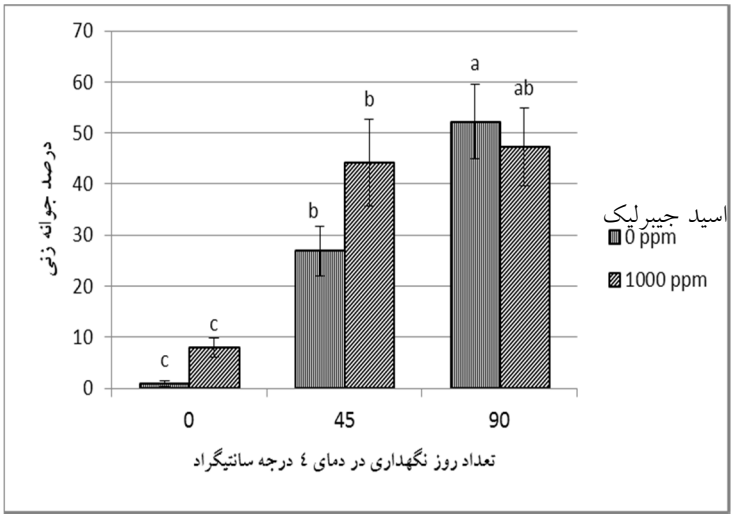
شکل ۲. خروج ریشه چه از بذور تیمار شده ژنوتیپ R2N1 با اسیدجیبرلیک در هنگام نگهداری در یخچال (٤٥ روز دمای ٤ درجه)

www.SID.ir

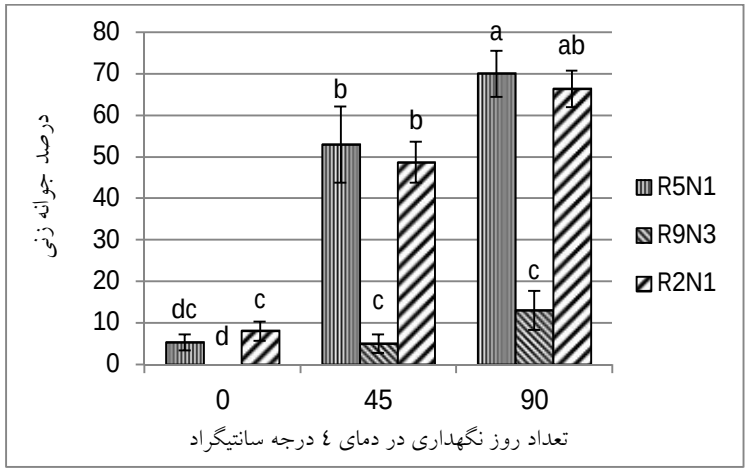
Archive of SID



شکل ۳. شکل اثرات متقابل ژنوتیپ در تیمار اسکاریفیکاسیون با اسید سولفوریک در میانگین (±Se) درصد جوانه زنی بذور سه ژنوتیپ زرشک (R5N1، R9N3 و R2N1)



شکل ٤. اثرات متقابل اسیدجیبرلیک (GA_3) در استراتیفه سرمایی در میانگین (±Se) درصد جوانه‌زنی بذور زرشک.



شکل ۵. شکل اثرات متقابل ژنوتیپ در استراتیفه سرمایی در میانگین (±S.e) درصد جوانه‌زنی بذور سه ژنوتیپ زرشک (R5N1، R9N3 و R2N1)

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

تمام تیمارهای مورد آزمایش بطورمعنی‌داری با نسبت‌های متفاوت باعث افزایش جوانه‌زنی بذور می‌شدند. ژنوتیپ‌های زرشک از نظر قدرت جوانه‌زنی و نیازهای جوانه‌زنی بذور با یکدیگر اختلافات فاحشی را نشان دادند. اگر چه میزان جوانه‌زنی بذور دو ژنوتیپ R2N1 و R5N1 از نظر قدرت جوانه‌زنی تا حدودی مشابه هم می‌باشد ولی ژنوتیپ R9N3 که از گونه *B. cratageania* است تنها پس از پوست‌برداری با اسید، تیمار با اسیدجیبرلیک و ۹۰ روز سرمادهی حداکثر ۳۰ درصد جوانه‌زنی داشت. گونه‌های زرشک موجود در ایران دارای تنوع ژنتیکی بسیار وسیعی هستند (Rezaei et al., 2011). در بررسی انجام شده روی خصوصیات جوانه‌زنی ۱۱ گونه زرشک در قسمت‌هایی از تایوان مشخص شد که فقط پنج‌گونه جوانه‌زنی بالای ۵۰ درصد داشته اند. دو گونه اصلاً جوانه‌زنی نداشته و مابقی کمتر از ۱۰ درصد جوانه‌زنی داشته‌اند (CUI Xian et al., 2011). به نظر می‌رسد که برای افزایش درصد جوانه‌زنی بذور گونه R9N3 می‌بایست از تیمارهای دیگری نیز استفاده شود.

اثرات پوست‌برداری با اسید بروی ژنوتیپ‌ها کمی متفاوت است و پوست‌برداری اثر مثبت بیشتری در جوانه‌زنی بذور ژنوتیپ R9N3 دارد. سطح بذر این گونه کمی درشت و ناصاف است و این در حالی است که پوسته بذر دو گونه دیگر صاف‌تر هستند. جیبرلین باعث افزایش جوانه‌زنی بذور سه گونه مورد بررسی گردید ولی مقدار این افزایش در زمانی که همراه با تیمار سرمایی بود به مراتب بسیار بیشتر از زمانی بود که تیمار سرمایی اعمال نگردید. گزارش شده است که جیبرلین می‌تواند تشکیل رتیکولوم اندوپلاسمی زبر و پلی ریبوزوم ها را افزایش دهد (Evins, 1971). با این حال دانشمندان دریافته‌اند که جیبرلین سنتز mRNA ویژه تولید آلفا آمیلاز افزایش دهد (Higgins et al 1976). جیبرلین می‌تواند باعث افزایش رشد رویشی جنین، انتقال اندوسپرم ذخیره شده بشود (Evins, 1971).

اگر چه اکثر بذور در ۹۰ روز سرمادهی درصد جوانه‌زنی بالایی داشتند ولی ریشه چه بوجود آمده از آنها رشد بیش از حدی داشته و پس از کشت در محیط جدید به سرعت از بین می‌رفتند. به نظر می‌رسد که ٤٥ روز سرما دهی به خوبی نیاز سرمایی بذور گونه *B. integrrima* برآورده می‌کند و دانهال‌های به وجود آمده از این تیمار از قدرت کافی برای ادامه رشد برخوردار هستند و تیمارهای اسید جیبرلیک و پوست برداری هم می‌تواند درصد جوانه‌زنی بذور را در این گونه افزایش دهد.

References

Aglaia, L.T., Zakynthinos, G. Varzakas, T., and Xynias, I.N. 2011. Effect of NaCl and GA_3 on seed germination and seedling growth of eleven medicinal and aromatic crops. Journal of Medicinal Plants Research 5(17): 4065-4073.

Ahrendt, L.W.A. 1961. Berberis and Mahonia a taxonomic revision. J. Linn. Soc. Bot. 57:67–68.

Cui, X.L., Chen, W., Tao, C., Wang, J., and Qi, W. 2010. Seed germination characteristics of 11 Berberis species from eastern Qinghai-Tibet Plateau Chinese Journal of Ecology 29 (08): 1505-1510.

Ebadi, A., Rezaei, M., and Fatahi, R. 2010. Mechanism of seedlessness in Iranian seedless barberry (*Berberis vulgaris* L. var. asperma). Sci. Hortic. 125: 486–493.

Evins, W.H. 1971. Enhancement of Polyribosome Formation and Induction of Tryptophan-Rich Proteins by Giberellic Acid. Biochemistry 10:4295-4303.

Higgins,T.J.V., Zwar, J.A., and Jacobsen, J.V. 1976. Giberellic Acid Enhances the Level of Translatable mRNA for -Amylase in Barley Aleurone Layers, Nature, London, 260: 166-169.

Kafi, M., Balandari, A., Rashed Mohasel, M.H., Kochaki, A., and Molafilabi, A. 2004. Berberis (Production and Processing). Ferdowsi University Press, Mashhad, Iran, p. 210.

www.SID.ir

Archive of SID

Khanduri S.K., Chandra, P. and Purohit, A.N. 1982. Allelopathic effects of Berberis fruit pulp leachate on germination of some crop plants. Proc. Indian natn. Sci. Acad. B48. 5: 694-9-698.

Maliwichi-nyirenda, C.P., Maliwichi, L.L., and Franco M. 2011. germination response of threatened african medicinal barberry (*Berberis holstii*) under light, stratification and temperature treatments. Journal Of Medicinal Plants Research 6(1):88-93.

Rezaei, M., Ebadi, A., Reim, S., Fatahi, R., Balandary, A., Farrokhi, N., and Hanke, M.V. 2011. Molecular analysis of Iranian seedless barberries via SSR. Scientia Horticulturae 129: 702–709.

SAS Institute Inc., SAS 9.1.3 Help and Documentation, Cary, NC: SAS Institute Inc., 2000-2004.

Thakur, A.S., Thakur, P.S., and Mehta, R. 2005. Effect of pre-sowing treatments on seed germination in *Berberis Aristata*. Indian Journal of Plant Physiology 10 (4): 338- 343.

Thakur, A. 2008. Overcoming the germination problems in certain endangered medicinal species of indian western himalayas. Acta Hort. (ISHS) 786:219-228.

www.SID.ir