تأثیر جبرلین و سرمای مرطوب بر شکست خواب بذر کما *Ferula ovina* Boiss.

ریحانه عموآقایی[۱]

چکیده

گیاه کما یکی از گیاهان علوفه‌ای است که جوانه‌زنی بذرهایش با مشکل مواجه است. خصوصیات خواب دانه و شرایط بهینه جوانه‌زنی بذرهای این گیاه تا کنون توصیف نشده است. تحقیق حاضر به منظور بررسی اثر استفاده از جبرلین و سرمادهی مرطوب روی تحریک جوانه‌زنی بذرهای کما طراحی شده است. در ابتدا یک آزمایش فاکتوریل در قالب یک طرح کاملاً تصادفی در شش تکرار برای ارزیابی فاکتورهای: مدت زمان سرمادهی مرطوب در ۳ °C در ۵ سطح (۹و۵،۳،۰،۷ هفته)، غلظت‌های GA_3 در سه سطح (PPm ۱۰۰۰،۵۰۰،۰) و زمان تیمار GA_3 در سه سطح (قبل از سرمادهی، حین مدت سرمادهی و پس از سرمادهی) به اجرا در آمد. در دومین آزمایش، اثر مدت زمان سرمادهی و جبرلین روی T_{50} بذور در ۶ تکرار مورد بررسی قرار گرفت. بهترین تیمار برای تحریک جوانه‌زنی بذرهای کما ۷ هفته سرمادهی مرطوب در ۳ °C و یا ۳ هفته سرمادهی همراه با فرو بردن در محلول PPm ۵۰۰ GA_3 بود. این تیمارها به طور معنی‌داری در مقایسه با نمونه‌های شاهد، درصد جوانه‌زنی بذرهای را افزایش و در مقابل زمان رسیدن به ۵۰٪ جوانه‌زنی بذرهای (T_{50}) را کاهش دادند. افزودن GA_3 در حین مدت زمان سرمادهی بسیار مؤثرتر بود و افزودن GA_3 پس از زمان سرمادهی هیچ افزایش معنی‌داری در درصد جوانه‌زنی ایجاد نکرد. هم‌چنین افزایش غلظت از PPm ۵۰۰ به PPm ۱۰۰۰ GA_3 تأثیر معنی‌داری نداشت و نمی‌توانست کلاً جای تأثیر سرما را بگیرد. نتایج نشان می‌دهند که دانه‌های بذور کما یک نوع خواب فیزیولوژیکی درونی را نشان می‌دهند که می‌تواند به وسیله تیمارهای سرمادهی مرطوب و جبرلین رفع شود.

واژه‌های کلیدی: سرمادهی مرطوب، جبرلین، شکست خواب دانه، کما

مقدمه

گیاه کما از جمله گیاهان خانواده چتریان است که در مناطق نیمه استپی و چراگاه‌های استان‌های اصفهان وچهار محال بختیاری یافت می‌شود و با تاج پوشش خوب می‌تواند به عنوان یک علوفه مطرح باشد. این گیاه از نظر خوش‌خوراکی در رده ۲ قرار گرفته و زمانی برای دام مفید است که خشک شده و رطوبت آن کاهش پیدا کرده باشد (۲) .

متاسفانه به دلیل چرای بیش از حد، عرصه‌های طبیعی این گیاه در حال نابودی است. برای جلوگیری از انقراض این علوفه طبیعی لازم است ضمن حفاظت منابع طبیعی آن، تلاش‌هایی جهت بازسازی اراضی مخروبه صورت گیرد. این امر مستلزم مطالعه فیزیولوژی جوانه‌زنی و شکست خواب بذر این گیاه است (۲).

۱. استادیار فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد

واژه خواب معرف حالتی است که دانه‌های یک گیاه حتی اگر در این وضعیت در بهترین شرایط محیطی قرار گیرند، علی‌رغم زنده بودن، باز قادر به جوانه زدن نخواهند بود. بیشتر بذرهای مورد استفاده در زراعت و باغبانی، خواب خود را درست قبل از جدایی از گیاه مادری و یا بلافاصله پس از آن از دست می‌دهند ولی در بذرهای گیاهان خودرو، خواب دراز مدت، به طور بسیار گسترده‌ای وجود دارد (۱). خواب به عنوان یک شیوه اجتناب از تنش‌های اقلیمی اهمیت زیادی در حفظ گونه‌های گیاهی دارد. طول دوره خفتگی و شرایط بهینه جوانه‌زنی بذرها به ساختار ژنتیکی و اقلیمی که گیاه مادری از آن برخاسته است بستگی زیادی دارد (۸). معمولاً تغییرات فصلی نور و دما، عامل کنترل دوره‌های خواب و بیداری در گیاهان هستند و احتمالاً زمان جوانه‌زنی را از طریق تأثیر بر توازن هورمونی دانه تعیین می‌کنند (۸، ۱۵، ۲۴ و ۲۵).

خواب بذر می‌تواند مرتبط با عوامل درونی یا بیرونی باشد. یکی از انواع خواب درونی خواب فیزیولوژیکی بذر می‌باشد (۸). خواب فیزیولوژیکی نوع متداول خواب اولیه در خانواده چتریان و بذرهای تازه برداشت شده برخی از گونه‌های علفی است (۸ و ۱۸). بسته به گونه گیاهی برای شکستن خواب فیزیولوژیکی، بذرها باید در معرض سرما و یا گرما قرار گیرند و یا با ژیبرلین و یا مواد شیمیایی دیگر تیمار شوند (۸ و ۱۷).

بررسی منابع نشان می‌دهد که بذرهای بسیاری از گیاهان تیره چتریان، درجات مختلفی از الگوی خواب فیزیولوژیکی را از خود نشان می‌دهند که سرمادهی تا حد زیادی می‌تواند به رفع آن کمک نماید (۴، ۶، ۷، ۲۱ و ۳۰). معمولاً بذرهای بسیاری از گونه‌های گیاهی که در اقلیم‌های معتدل و سرد می‌رویند، برای برطرف شدن خواب به یک دوره سرما نیاز دارند. به طور کلی رابطه مستقیمی بین طول دوره سرمای مورد نیاز و اقلیم وجود دارد (۸).

از سوی دیگر برخی منابع گزارش کرده‌اند که GA_3 جوانه‌زنی دانه‌های محتاج به نور و سرما، از تیره چتریان و هم‌چنین سایر تیره‌های گیاهی را تسهیل می‌نماید (۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴، ۲۴ و ۲۵). تغییرات فیتوکروم تحت تأثیر نور، بر ساخت و جابجایی اسید جبرلیک مؤثر است و سرما نیز احتمالا با تأثیر بر نفوذپذیری غشاهای سلولی موجب تغییر در جابجایی یون‌ها (مخصوصاً Ca^{+2}) و در نتیجه پیام رسانی به سلول برای تحریک تولید GA_3 می‌شود. بدین ترتیب جهت برطرف شدن خواب بذر، مواد تنظیم کننده رشد نوعی ارتباط بین دو عامل مختلف نور و سرما را (مخصوصاً در گونه‌هایی که این عوامل مؤثرند) فراهم می‌آورند (۱، ۸، ۲۴ و ۲۵).

به هر حال بذرهای گیاه کما دارای خواب بوده و دانش کنونی ما درباره شکست خواب بذر این گیاه برای بازسازی عرصه‌های طبیعی آن بسیار ناچیز می‌باشد. لذا در این تحقیق بر اساس نظرات انجمن بین‌المللی آزمون بذر ISTA (۱۷) و اکولوژی منطقه رویش گیاه، اثر تیمارهای سرما و تأثیر GA_3 بر کاهش مدت زمان لازم تیمار سرمایی در شکست خواب بذر کما بررسی گردیده است.

مواد و روش‌ها

الف) اثر جبرلین و سرما بر درصد جوانه‌زنی بذرهای کما

بذرهای گیاه کما (*Ferula ovina* Boiss.) از مرکز تحقیقات کشاورزی مرکز تکنولوژی بذر اصفهان تهیه گردید. بذر کما نسبتاً درشت و وزن هزار دانه آن به طور متوسط ۲۹/۸ گرم است. سطح شکمی آن در وسط حالت برجستگی دارد ولی سطح پشتی آن کاملاً صاف است. رنگ بذر کما سبز کدر متمایل به قهوه‌ای است و طول بذر بین ۶ تا ۸ میلی‌متر می‌باشد.

در کلیه آزمایش‌ها ابتدا بذرها با سدیم هیپوکلریت ۱٪ ضد عفونی سطحی شدند و سپس ۵ مرتبه با آب شستشو داده شدند و همواره از پتری‌های ۱۵ سانتی‌متری و کاغذ صافی واتمن شماره ۱ به عنوان بستر جهت جوانه‌زنی بذور استفاده گردید.

در آزمایش اول، بذرهای گیاه کما در یک آزمایش فاکتوریل در قالب یک طرح کاملاً تصادفی در ۶ تکرار از پتری‌های حاوی ۲۵ دانه رشد داده شدند. فاکتورهای مورد ارزیابی شامل: مدت زمان پیش سرمای مرطوب در۵ سطح (۹ و ۷، ۵، ۳، ۰

هفته)، غلظت‌های GA_3 در سه سطح (۱۰۰۰ppm و ۵۰۰ ، ۰) و زمان افزودن GA_3 در سه سطح (قبل از سرمادهی، حین مدت سرمادهی و بعد از سرمادهی) بود.

به دوسری پتری به عنوان شاهد فقط محلول‌های ppm ۱۰۰۰ و۵۰۰ جبرلین اضافه شد، اما سرمادهی نشدند. به یک سری تیمارها هم فقط آب مقطر (غلظت صفر GA_3) اضافه شد و مدت زمان‌های ۰، ۳، ۵، ۷ و ۹ هفته سرمادهی شدند، تا بتوان از آنها به عنوان شاهد برای اثر GA_3 در مدت زمان‌های مختلف سرمادهی استفاده کرد.

برای اعمال GA_3 قبل از سرمادهی، دانه‌ها به مدت یک شب در دمای اتاق (۲۳ ºC) در روی کاغذهای جوانه‌زنی آغشته به محلول‌های GA_3 قرار داده شدند و سپس روز بعد در حالی که محلول‌های GA_3 با محلول آب مقطر جایگزین شد، به یخچال منتقل گردیدند تا مدت زمان سرمای مورد نظر را تجربه کنند.

برای گروه دوم تیمارها پیش سرمای مرطوب در دمای ºC ۳-۱ به مدت ۳ تا ۹ هفته مطابق طرح آماری اعمال شد. در همه این تیمارها دانه‌ها در حین سرمادهی مدت یک شب در روی کاغذهای جوانه‌زنی آغشته به محلول‌های GA_3 بودند و پس از این مدت کاغذهای جوانه زنی تعویض و در مدت باقی‌مانده سرمادهی برای هر تیمار به جای محلول GA_3 از آب مقطر استفاده شد.

در گروه سوم تیمارها، دانه‌ها مدت زمان سرمادهی لازم را در روی کاغذهای جوانه‌زنی مرطوب شده با آب مقطر به طور کامل طی کردند و پس از اتمام دوره سرمادهی به مدت یک شب به پتری‌های حاوی کاغذهای آغشته به محلول‌های GA_3 منتقل شدند.

در همه تیمارها مقدار GA_3 یا آب مقطر به کار برده شده ۱۵ ml بود. همه نمونه‌ها پس از اعمال تیمارهای فوق به اتاقک رشد که به صورت در۱± ۳۰ درجه سانتی‌گراد با نور فلورسنت در تناوب با ۱۰ ساعت در ۱± ۲۰ درجه سانتی‌گراد در تاریکی درطی شبانه روز برنامه‌ریزی شده بود منتقل و درصد جوانه‌زنی از رابطه PG=100(n/N) محاسبه شد که در این رابطه n تعداد بذرهای جوانه‌زده و N تعداد کل بذرهای کشت شده می‌باشد.

ب) تیمار تأثیر جبرلین و مدت زمان سرمادهی بر (T_{50}- مدت زمان لازم برای رسیدن به ۵۰٪ جوانه‌زنی را نشان می‌دهد.) T_{50} بذور

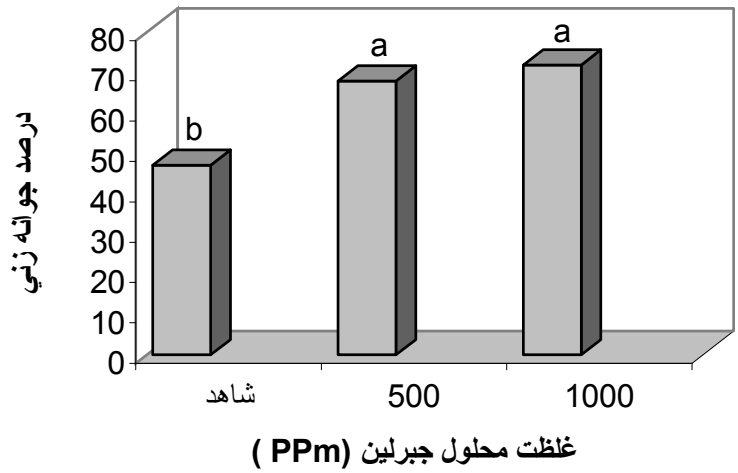
در این آزمایش اثر فاکتورهای غلظت جبرلین در ۳ سطح (۱۰۰۰ppm و ۵۰۰ ، ۰) و مدت زمان سرمادهی در ۱۰ سطح (۰ تا ۹ هفته) روی تعداد روزهای لازم برای رسیدن به ۵۰٪ جوانه‌زنی دانه‌های گیاه کما، در یک آزمایش فاکتوریل با طرح کاملاً تصادفی بررسی شد. به این منظور ۶ تکرار از پتری‌های حاوی ۲۵ دانه بذر کما استفاده شد.

ابتدا بذور حین سرمادهی در مجاورت ml ۲۵ آب مقطر (کنترل) یا محلول ppm ۵۰۰ جبرلین و یا محلول ppm ۱۰۰۰ جبرلین به مدت یک شب قرار گرفتند. آن گاه پس از جایگزینی محلول‌های GA_3 با آب مقطر در همه تیمارها بذرهای، باقی‌مانده مدت زمان‌های ۹ و ۸، ۷، ۶، ۵، ۴، ۳، ۲، ۱ هفته را در دمای ºC ۳-۱ طی کردند. پس از سپری شدن زمان‌های لازم، همه تیمارها در اتاقک رشد با تناوب دمایی و نوری مشابه بخش قبل قرار گرفتند و زمان رسیدن به۵۰٪ جوانه زنی (T_{50}) برای هر تیمار محاسبه گردید.

نتایج

نتایج آنالیز واریانس نشان می‌دهد که اثرغلظت و زمان کاربرد جبرلین و مدت زمان پیش سرمای مرطوب بر درصد جوانه‌زنی بذور کما در سطح ۱٪ معنی‌دار است. هم‌چنین اثرات متقابل فاکتورهای مدت سرمادهی× غلظت جبرلین و مدت سرمادهی × زمان کاربرد جبرلین در سطح ۵٪ معنی‌دار است.

داده‌های این آزمایش نشان می‌دهند که افزودن GA_3 تأثیر مثبت و معنی‌داری بر درصد جوانه زنی بذرها داشته است. به طوری‌که میانگین درصد جوانه زنی از ۴۷ درصد در نمونه شاهد بدون تیمار با GA_3 به ۷۱/۹ درصد در تیمار با غلظت



شکل ۱. تأثیر غلظت‌های جبرلین روی درصد جوانه زنی بذرهای کما حروف مشابه مبین عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ بر طبق آزمون دانکن می‌باشد.

جدول ۱. آنالیز واریانس اثر فاکتورهای مدت زمان سرمادهی، غلظت جبرلین و زمان کاربرد جبرلین بر درصد جوانه‌زنی بذرهای کما

منابع تغییرات	درجه آزادی	مقادیر f
تکرار	۵	۰/۶۷ns
مدت سرمادهی	۴	۱۰۸۱**
غلظت جبرلین	۲	۹۱۶/۲**
زمان کاربرد جبرلین	۲	۶۷۱/۸**
مدت سرمادهی× غلظت جبرلین	۸	۲/۰۳*
مدت سرمادهی × زمان کاربرد جبرلین	۸	۲/۱۱*
غلظت جبرلین × زمان کاربرد جبرلین	۴	۲/۰۷ns
مدت سرمادهی × غلظت جبرلین × زمان کاربرد جبرلین	۱۶	۱/۶۴
خطا	۲۲۰	

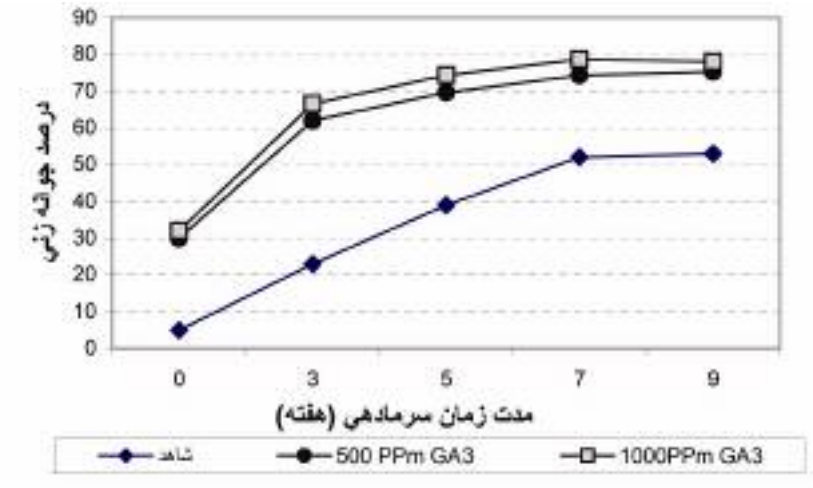
ns : معنی‌دار نیست * : معنی‌دار در سطح ۵٪ ** : معنی‌دار در سطح ۱٪

ppm ۱۰۰۰ جبرلین بالغ گردیده است (شکل ۱).

افزایش غلظت GA_3 از ppm۵۰۰ به ppm۱۰۰۰ تأثیر معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی بذرها نداشت. بنابراین کاربرد غلظت ppm۱۰۰۰ برای شکست خواب بذر کما ضرورتی ندارد.

بررسی اثر سرما بر جوانه زنی بذرها گویای آن است که سرما تأثیر معنی‌داری را برجوانه‌زنی بذرها داشته است. به‌طوری که میانگین درصد جوانه‌زنی بذرها از ۵ درصد در شاهدهای سرما ندیده به ۵۴/۵ درصد در بذرها ۷ هفته سرمادهی شده بالغ گردیده است. افزایش جوانه‌زنی بذور تحت ۹ هفته سرمادهی نسبت به نتایج حاصل از ۷ هفته سرمادهی معنی‌دار نبود (نمودار شاهد در شکل ۲).

بررسی اثر متقابل مدت زمان سرمادهی وجبرلین (شکل ۲) به خوبی نشان می‌دهد که با کاربرد غلظت‌های ۵۰۰ یا ۱۰۰۰ ppm محلول GA_3، تنها ۳ هفته سرمادهی باعث شده است تا درصد جوانه‌زنی در حد معنی داری بیشتر از شاهد باشد. نکته قابل توجه آن که در حضور GA_3 اعمال بیش از ۳ هفته



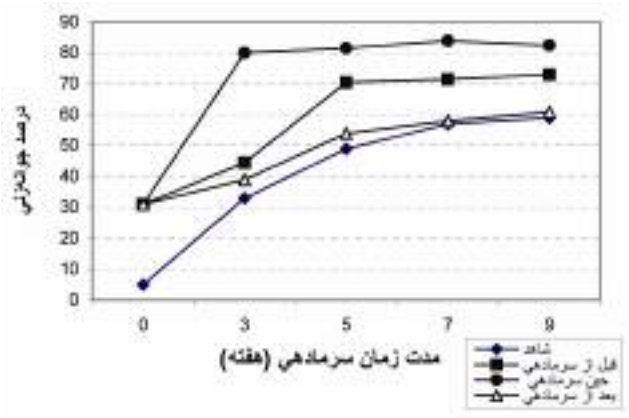
شکل ۲. تأثیر متقابل میزان جبرلین و مدت زمان سرمادهی بر میزان جوانه زنی بذرهای کما

سرمادهی ضرورتی ندارد، چون تأثیر معنی‌داری ندارد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بذور فرو برده شده در محلول جبرلین بدون سرمادهی حدود ۲۹٪ جوانه‌زنی نشان می‌دهند که پس از ۳ هفته سرمادهی به ۷۰٪ بالغ می‌گردد و این تفاوت در سطح ۱٪ معنی‌دار است. اما با کاربرد ۵، ۷ و ۹ هفته سرمادهی درصد جوانه‌زنی بطور متوسط به ۷۸٪ می‌رسد که از نظر آماری با درصد جوانه‌زنی پس از ۳ هفته سرمادهی تفاوت معنی‌داری ندارد. این در حالی است که در نمونه شاهد بدون GA_3 افزایش مدت زمان سرمادهی تا ۷ هفته هنوز اثر معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی بذرها دارد. در این بذرهای درصد جوانه‌زنی بدون سرمادهی ۵٪ اما با کاربرد۳، ۵ یا ۷ هفته به ترتیب به ۲۳، ۳۸ و ۵۴ درصد بالغ می‌گردد که این تفاوت‌ها در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار است.

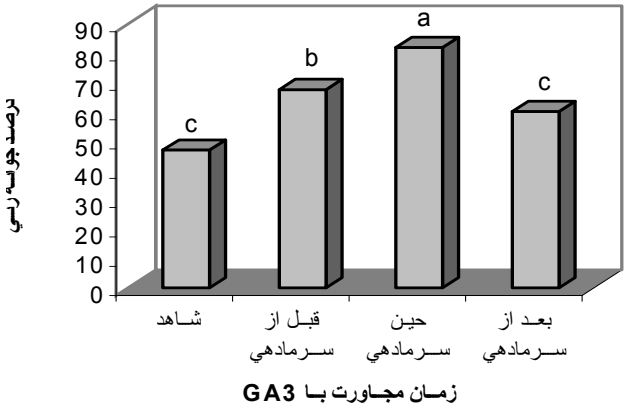
بررسی اثر متقابل مدت زمان سرمادهی با زمان استعمال GA_3 نتایج جالب‌تری را منعکس می‌نماید. چنانچه GA_3 همزمان با سرمادهی در مجاورت بذرها باشد، مدت زمان مورد نیاز برای سرمادهی را به کمتر از نصف، یعنی از ۷ هفته (برای شاهد بدون GA_3) به ۳ هفته تقلیل می‌دهد و کاربرد زمان‌های طولانی‌تر سرمادهی ضرورتی ندارد (شکل ۳). این در حالی است که اگر زمان افزودن GA_3 قبل و یا بعد از سرمادهی باشد هنوز حداقل ۵ هفته سرمادهی برای رسیدن به حداکثر جوانه‌زنی معنی‌دار ضرورت دارد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که اگر کاربرد جبرلین حین دوره سرمادهی باشدپس از ۳ هفته حدود ۸۰٪ جوانه‌زنی قابل حصول است و با ۵ یا ۷ هفته سرمادهی تغییری نمی‌کند. اما چنانچه کاربرد جبرلین قبل از دوره سرمادهی باشد، پس از ۳ هفته ۴۷٪ و پس از ۵ هفته ۷۲٪ جوانه‌زنی رخ می‌دهد و این تفاوت معنی دار است.

به طور کلی باید در نظر داشت که زمان افزودن GA_3 به بذور کما اهمیت زیادی دارد. با خیساندن بذور در GA_3 قبل از سرمادهی میزان جوانه‌زنی بذرهای کما از میانگین ۴۷ درصد در بذور شاهد خیسانده شده در آب مقطر به ۶۷/۶ درصد می‌رسد، یعنی ۲۰ درصد افزایش می‌یابد (شکل ۴). ولی با افزودن جبرلین حین مدت زمان سرمادهی میانگین درصد جوانه‌زنی به ۸۲ درصد (یعنی ۳۵ درصد افزایش) بالغ می‌گردد. در مقابل افزودن GA_3 پس از سرمادهی هیچ افزایش معنی‌داری در درصد جوانه‌زنی بذور در مقایسه با شاهد ایجاد نکرد (شکل ۴).

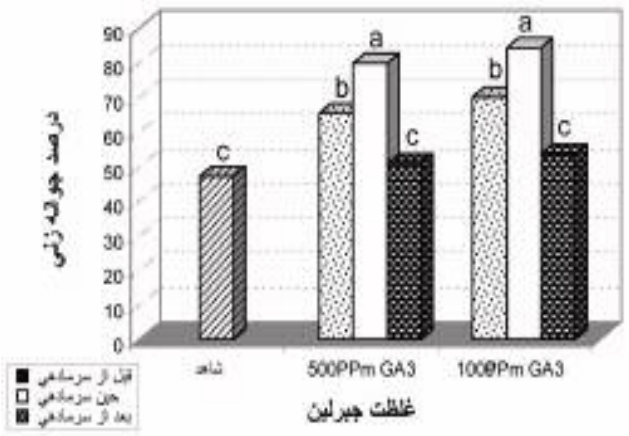
بررسی اثر متقابل غلظت و زمان افزودن GA_3 (شکل ۵) نشان می‌دهد در هر دو غلظت بیشترین درصد جوانه‌زنی با تیمار GA_3 در حین سرمادهی و کمترین آن با تیمار GA_3 بعد از سرمادهی بدست آمده است. این امر بدان معنی است که افزایش غلظت GA_3 از ۵۰۰ به ۱۰۰۰ نتوانسته تأثیر زمان نامناسب استعمال GA_3 را جبران نماید.



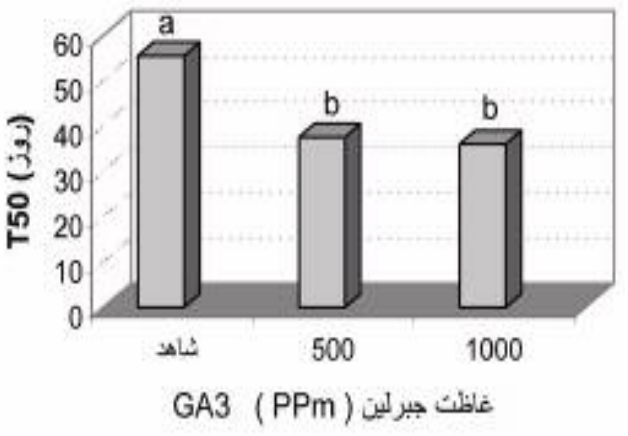
شکل ۳. اثر متقابل مدت زمان سرمادهی با زمان استعمال GA_3 بر درصد جوانه‌زنی بذرهای کما



شکل ۴. تأثیر زمان افزودن جبرلین روی میزان جوانه‌زنی بذور کما حروف مشابه مبین عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ بر طبق آزمون دانکن می‌باشد.



شکل ۵ . اثر متقابل غلظت و زمان افزودن GA_3 بر درصد جوانه‌زنی بذور کما حروف مشابه مبین عدم اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ بر طبق آزمون دانکن می باشد.



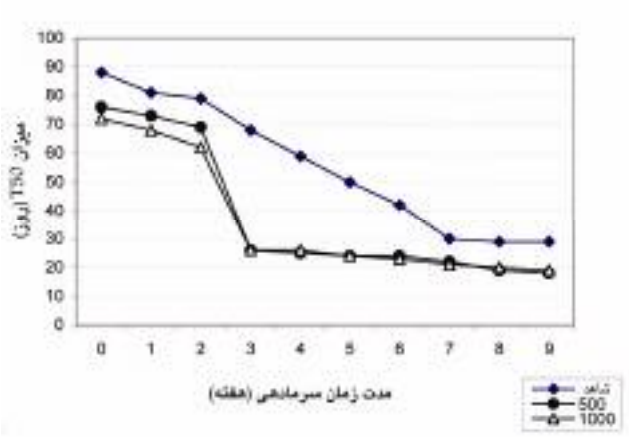
شکل ۶. تأثیر غلظت جبرلین بر T_{50} بذور کما حروف مشابه مبین عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ بر طبق آزمون دانکن می‌باشد.

ب) تأثیر سرما و جبرلین بر T_{50} بذور

نتایج بررسی زمان لازم (بر حسب روز) برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی (T_{50}) بذرها کما را در حضور تیمارهای مختلف سرما و GA_3 نشان می‌دهد که افزودن غلظت ppm ۵۰۰ محلول GA_3 در مقایسه با شاهد (تیمار بدون GA_3) در حد معنی‌داری T_{50} بذرها را کاهش داده است و افزایش معنی‌داری در سرعت جوانه‌زنی بذور کما ایجاد کرده است (شکل ۶). با افزایش غلظت GA_3 از ۵۰۰ به ppm ۱۰۰۰ هیچ افزایش معنی‌داری در سرعت جوانه زنی رخ نداد.

نتایج حاصل از این تحقیق به خوبی گویای آن است که سرما نیز اثر بسیار معنی‌داری بر T_{50} بذرهای کما داشته است. با اعمال ۷ هفته سرمادهی، T_{50} بذرهای از ۸۸ روز در شاهد بدون سرمادهی، به تنها ۳۰ روز کاهش یافته است. به عبارت دیگر سرما موجب تقویت بنیه بذرهای کما شده و سرعت جوانه‌زنی آنها را افزایش می‌دهد.

بررسی اثر متقابل GA_3 و مدت زمان سرمادهی (شکل ۷) نشان می‌دهد که اگر چه در نمونه شاهد بدون حضور GA_3 افزایش مدت زمان سرمادهی تا ۷ هفته، همچنان تأثیر معنی‌داری بر کاهش T_{50} بذور داشته است، با افزودن GA_3،



شکل ۷. اثر متقابل غلظت GA_3 و مدت زمان سرمادهی روی T_{50} بذور کما

دوره سرمای بیش از ۳ هفته، اثر معنی‌داری بر کاهش T_{50} ندارد و بنابراین، سرمادهی بیش از ۳ هفته ضرورتی ندارد.

افزودن GA_3 همراه با ۳ هفته سرمادهی تعداد روزهای لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی را از ۸۸ روز برای تیمار شاهد بدون GA_3 و بدون سرمادهی به ۲۶ روز کاهش داده است. چنین نتیجه‌ای برای شاهد بدون GA_3 با ۷ هفته سرمادهی قابل وصول است. یعنی افزودن GA_3 ppm۵۰۰ و ۳ هفته سرمادهی مدت زمان مورد نیاز برای رسیدن به حداکثر سرعت جوانه‌زنی را تقریباً به ثلث تقلیل داده است. به هر حال با افزایش غلظت GA_3 به ppm ۱۰۰۰ هیچ افزایش بیشتری در سرعت جوانه‌زنی رخ نداد و GA_3 نتوانست به طور کامل نیاز برای سرمادهی را جایگزین کند. ازسوی دیگر سرمادهی کمتر از ۳ هفته (۱ یا ۲ هفته)، در حضور یا عدم حضور GA_3، تأثیر معنی‌داری بر سرعت جوانه‌زنی نداشت. بنابراین حداقل ۳ هفته سرمادهی حتی در حضور GA_3 ۱۰۰۰ppm برای جوانه‌زنی در حد معنی‌دار ضروری است.

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که دانه‌های کما نوعی خواب درونی دارند که با استفاده از تیمار سرمادهی مرطوب در مدت زمان معین می‌تواند شکسته شود. سرمادهی مرطوب به مدت ۷ هفته در حد معنی‌داری درصد جوانه‌زنی بذور را افزایش (شکل ۱) و T_{50} آنها را کاهش (شکل ۷) داد. کریشمر و همکاران گزارش کرده‌اند که کاربرد سرمادهی مرطوب برای شکست خواب بذر اکثر گیاهان تیره چتریان ضروری است (۱۸). بررسی منابع نشان می‌دهد که انواعی از بذرهای تیره چتریان از جمله گونه‌های *Bunium* (۱۳)، *Osmorhiza* (۴، ۵ و ۲۸)، *Ptilianium nuttalli* (۶)، *Anthriscus sylvestris* (۷)، *Perideridia gairdneri* (۲۱) و *Apium graveolens* (۳۰) و هم‌چنین بذرهای گیاهان تیره‌های دیگر (۱۱، ۱۶، ۲۷ و ۲۹) نیز درجات مختلفی از الگوی خواب فیزیولوژیکی را از خود نشان می‌دهند که سرمادهی تا حد زیادی می‌تواند به رفع این نوع خفتگی کمک نماید.

در مورد مکانیسم اثر سرما در القای جوانه‌زنی مشاجراتی وجود دارد. سرمادهی مرطوب ممکن است سطح فسفات‌های آلی نظیر فروکتوز ۱و۶ بیس فسفات و نوکلئوتیدها را متأثر کند (۸). النبوی و همکاران گزارش کردند که کاربرد سرمادهی مرطوب روی دانه‌ها موجب افزایش سطح ورود نوکلئوزیدها و نوکلئوتیدها به مسیر سنتز اسیدهای نوکلئیک می‌شود که این امر در راه اندازی تقسیم سلولی در محور جنینی مؤثر است (۱۲). الدنگاوی دریافت که میزان فسفر محلول غیر آلی همبستگی منفی، اما غلظت فسفر محلول آلی هم‌بستگی مثبتی با درصد جوانه‌زنی دانه دارد و سرمادهی ایجاد ترکیبات فسفره آلی را تحریک می‌نماید (۱۱). از سوی دیگر نولاند و مورتی گزارش کرده‌اند که در طی تیمار سرمادهی افزایش معنی‌داری در سطح فعالیت آنزیم‌های مسیر پنتوز فسفات رخ می‌دهد که زمینه را برای شکست خواب و جوانه‌زنی دانه مهیا می‌سازد (۲۰). در بسیاری از بذرهای نیازمند به سرما مانند فندق و افرای چناری سرما منجر به کاهش مقادیر آبسیسیک اسید و افزایش مقادیر GA_3 در بذر می‌شود و جوانه‌زنی را تحریک می‌نماید (۱).

نتایج این آزمایش نشان داد، کاربرد جبرلین خارجی بر روی بذرهای کما موجب شکست خواب بذر آنها می‌شود. نصیری و

همکاران نیز گزارش کرده‌اند که کاربرد GA_3 شکست خواب دانه‌های کزل (از تیره چتریان) را تسهیل می نماید (۳). فرو بردن دانه‌های کرفس (تیره چتریان) در محلول‌های هورمونی GA_4 و GA_7 درصد جوانه‌زنی آنها را افزایش می‌دهد (۲۴، ۲۵ و ۲۶). تأثیر مثبت جبرلین بر شکست خواب بذر برای گونه *Heracleum sosnowski* (۲۲) و برای گونه *Ptilianium nuttalli* (۶) و *Perideridia gairdneri* (۲۱) از تیره چتریان نیزگزارش شده است. بسیاری از محققان دیگر نیز تأثیر جبرلین در جوانه‌زنی تعدادی از گونه‌های گیاهی از تیره‌های دیگر را نیز تایید نموده‌اند (۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۶ و ۱۹).

در مورد مکانیسم عمل جبرلین در تحریک جوانه‌زنی بذور گیاهان تفسیرهای مختلفی ارائه شده است. مطالعه مکانیسم بیوشیمیایی عمل جبرلین‌ها نشان می دهد که جبرلین‌ها باعث یک افزایش در فعالیت RNA پلی‌مراز شده و در نتیجه میزان رونویسی از بخش‌هایی از DNA را افزایش می‌دهند. جبرلین‌ها با القاء تغییراتی در مراحل رونویسی و یا ترجمه برخی از ژن‌ها موجب تغییرات کمّی و کیفی در سنتز برخی از پروتئین‌ها می‌شوند و در نهایت سنتز آنزیم‌های هیدرولیز کننده مولکول‌های ذخیره‌ای دانه، نظیر α-آمیلاز، را تحریک می‌نمایند. این آنزیم‌ها واکنش‌های ضروری جهت تولید انرژی و ترکیبات ساختمانی لازم برای رشد و ظهور جنین را کاتالیز می‌نمایند و به این ترتیب پدیده جوانه‌زنی را القاء می کنند (۱۵). استاموند و جونز در طی تحقیقات خود دریافتند که جبرلین مسیر تبدیل چربی‌ها به قندهای محلول در آلرون جو را فعال می‌کند. جبرلین فعالیت آنزیم‌های سیکل گلی‌اکسالات مثل ایزوسیترات لیاز و همچنین مسیر شکست تری اسیل گلیسرول را تحریک نموده و سنتز قندهای محلول را فعال می‌نماید. جبرلین مسیر گلوکونئوژنز و همچنین تولید و ترشح آنزیم‌های هیدرولازی که در تجزیه نشاسته آندوسپرم نقش دارند، را نیز در آلرون جو تحریک می‌کند (۱۰).

توماس و سامبورکس نشان دادند که جبرلین‌ها در دانه‌های کرفس سطوح سایر هورمون‌ها و همچنین جریان برخی یون‌ها از جمله K^+ و Ca^{2+} از خلال غشاها را تغییر می‌دهد و این تحولات موجب انتقال سیگنال‌های ویژه و تحریک سنتز یا فعالیت متابولیت‌ها وآنزیم‌های محرک جوانه‌زنی بذر می شود (۲۵).

یکی از پژوهش‌های اخیر، نشان می‌دهد که فرآیند خواب در برخی دانه‌ها در ارتباط با تجمع مواد فنلی در آنها است. جبرلین‌ها فعالیت آنزیم کاتکول اکسیداز را افزایش می‌دهند و از این طریق موجب کاهش میزان مواد فنلی دانه و در نتیجه تحریک جوانه‌زنی می‌شوند (۱۴).

بسیاری از محققان معتقدند که برطرف شدن خواب از طریق تعادل بین مواد بازدارنده رشد مانند آبسیزیک اسید و مواد تحریک کننده رشد گیاه مانند چبرلین حاصل می‌شود. چیوچا و همکاران و هم‌چنین کویانگ و همکاران گزارش کرده‌اند که جبرلین‌ها مسیرهای انتقال سیگنال ویژه‌ای را فعال می‌کنند که باعث می شود میزان آبسیزیک اسید بذور کاهش و در مقابل میزان اکسین‌ها و سیتوکینین‌های دانه‌ها به حد مناسبی جهت القای شکست خواب ارتقای یابد (۹ و ۲۳).

ترکیب بین تیمار سرما و جبرلین به‌طور معنی‌داری درصد جوانه‌زنی بذور کما را افزایش (شکل ۲) و T_{50} آنها را کاهش(شکل ۷) داده است. بررسی اثر متقابل سرما و جبرلین نشان می‌دهد که جبرلین در کاهش نیاز سرمائی بذور کما مؤثر است (شکل‌های ۲ و ۷). کاربرد جبرلین همراه با سرمادهی موجب شده است تا مدت زمان لازم برای رسیدن به حداکثر درصد جوانه‌زنی و حداقل T_{50} از ۷ هفته به کمتر از ۳ هفته تنزل پیدا کند. گزارش‌های متعددی وجود دارد که نشان می‌دهد جبرلین می‌تواند جانشین نیاز به سرما برای شکست خواب بسیاری از بذور تیره چتریان (۳، ۵، ۶، ۲۱، ۲۲ و ۲۵) و هم‌چنین سایر تیره‌های گیاهی (۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴ و ۲۳) شود. در بسیاری از بذور نیازمند به سرما، سرمادهی منجر به کاهش مقادیر آبسیزیک اسید و افزایش مقادیر GA_3 در بذر می‌شود و جوانه‌زنی را تحریک می نماید. به همین دلیل کاربرد جبرلین خارجی، طول دوره سرمادهی مورد نیاز این بذرها را کاهش

می‌دهد (۱، ۸ و ۹).

دانه‌های برخی از تیره‌های گیاهی از جمله تیره چتریان دارای خواب مرفوفیزیولوژیکی هستند. در این نوع خواب، جنین دانه دارای ترکیبی از خواب فیزیولوژیکی و مرفولوژیکی است و برای جوانه‌زنی باید حتماً خواب فیزیولوژیکی شکسته شده و جنین دانه نیز می‌بایستی رشد نموده و به طول و مرفولوژی معینی برسد. محققان بذرهای دارای خواب مرفوفیزیولوژیکی را بر اساس واکنش آنها نسبت به دما و جبرلین به چند گروه تقسیم می‌کنند. چنانچه این بذرها برای شکست خواب نیازمند دریافت دماهای بالا باشند خواب از نوع ساده و اگر نیازمند سرمادهی برای القای جوانه‌زنی باشند خواب را از نوع کمپلکس یا پیچیده می‌دانند. خواب مرفوفیزیولوژیکی کمپلکس خود به ۳ نوع عمیق، نیمه عمیق و عمیق تقسیم می شود. بذور دارای خواب غیرعمیق و عمیق نسبت به جبرلین حساسیتی نشان نمی‌دهند، اما جبرلین می‌تواند در رفع خواب نیمه عمیق مؤثر باشد(۴، ۵، ۷ و ۲۸). بر اساس تقسیم بندی فوق می‌توان گفت که خواب بذر کما از نوع خواب مرفوفیزیولوژیکی کمپلکس نیمه عمیق است. زیرا بذور کما برای شکست خواب باید سرمادهی شوند و جبرلین هم می‌تواند نیاز به سرمادهی را از ۷ به ۳ هفته تقلیل دهد.

حقیقت آن است که در بذور خفته برخی از گیاهان خصوصاً تیره چتریان نقصان‌هایی در مرفولوژی بذر و وضعیت DNA و RNA و غشاهای سلول‌های بذر وجود دارد(۴، ۵، ۶، ۲۵ و ۳۰). برخی تیمارها نظیر سرمادهی یا کاربرد جبرلین، با راه اندازی فرآیندهایی نظیر تعمیر، جایگزینی و هم‌چنین تجمع آنزیم‌ها و دیگر مولکول‌های بزرگ، مقدماتی را برای از سرگیری رشد فعال ایجاد می‌نمایند. به عبارت دیگر برخی تیمارها موجب تسریع تکامل مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی جنین بذر شده و در نتیجه به ازدیاد درصد جوانه‌زنی و بهبود سرعت جوانه‌زنی (T_{50} کمتر) کمک می‌نمایند (۱، ۴، ۸، ۱۱ و ۲۴).
نتایج این آزمایش هم‌چنین نشان داد که ترکیب دو تیمار جبرلین و سرما برای تحریک جوانه‌زنی بذور کما تحت شرایط معین، بیشترین بازده را خواهد داشت. سرمادهی بیش از ۳ هفته (شکل‌های ۲ و ۴) یا غلظت بیش از PPm ۵۰۰ (شکل‌های ۱ و ۶) هیچ اثر معنی‌داری بر جوانه‌زنی بذور ندارد. هم‌چنین مجاورت بذور با جبرلین باید در حین سرمادهی باشد و کاربرد جبرلین پس از دوران سرمادهی اثر معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی بذور ندارد (شکل ۴). ویدرلکنر و کوآچ نیز در مورد اثر جبرلین و سرما بر جوانه‌زنی بذور *Cuphea* گزارش کرده‌اند که مجاورت بذرهای در حین سرمادهی با غلظت معین جبرلین و مدت زمان سرمادهی معین برای نیل به حداکثر جوانه‌زنی این بذور ضروری است(۲۹). النبوی و همکاران و هم‌چنین الدنگاوی هم گزارش کرده‌اند که کاربرد جبرلین پس از اینکه بذور بیش از ۳ هفته سرمادهی شده باشند نه تنها اثر مثبتی بر جوانه‌زنی بذور ندارد، بلکه تاثیر معکوس خواهد داشت. به عقیده آنها اگرچه جبرلین اثرات سودمندی را در راه اندازی بسیاری از واکنش‌های آنزیمی مرتبط با جوانه‌زنی دارد، اما کاربرد طولانی مدت آن پس از سرمادهی طولانی مدت، منجر به عدم تعادل ترکیب هورمونی دانه‌ها شده و این امر نمو بعدی محور جنینی را متوقف می سازد(۱۱ و ۱۲). بنابراین انتخاب غلظت و زمان مناسب افزودن جبرلین به بذور و هم‌چنین مدت زمان سرمادهی معین، برای شکست خواب بذور کما ضروری است.

در مجموع این تحقیق نشان داد کاربرد هم‌زمان غلظت ۵۰۰ppm جبرلین و۳ هفته سرمادهی به طور معنی‌داری میزان جوانه‌زنی را افزایش می‌دهد. این نتیجه این فرضیه را در ذهن مجسم می‌سازد که احتمالاً یکی از علل خواب دانه کما، عدم تناسب هورمونی در بذرهای این گیاه است که کاربرد سرما یا GA_3 خارجی این تعادل را به سمت افزایش GA_3 و آمادگی برای جوانه‌زنی سوق می‌دهد. به عبارت دیگر از نتایج این آزمایش چنین استنباط می شود که خواب دانه کما به احتمال قوی مرتبط با جنین دانه بوده و ربطی به پوسته دانه ندارد. بخش عمده این خواب در اثر پائین بودن غلظت جبرلین داخلی دانه شکل گرفته است. زیرا کاربرد جبرلین خارجی و یا دوره

سرمای مناسب که به تولید جبرلین داخلی کمک می‌کند قادر بـه شکست آن می‌باشد.

باید توجه داشت که GA_3 نتوانست بطور کامـل نیـاز بـرای سرمادهی را جایگزین کند و حداقل ۳ هفته سرمادهی حتـی در حـضور ppm ۱۰۰۰ محلـول GA_3 بـرای جوانـه‌زنـی در حـد معنی‌دار، ضروری است. تحقیقات دیگر نیز نشان مـی‌دهنـد کـه همه گیاهانی که نیاز به سرمادهی و روزهای بلند دارند، نـسبت به GA_3 پاسخ یکسانی بروز نمی‌دهند. برخی از آنها نیز اصلاً بـه GA_3 عکس العمل نشان نمی‌دهند (۱، ۷ و ۸). بنابراین می‌تـوان نتیجه گرفت که اگر چه یکی از تأثیرات سرما در جوانـه‌زنـی را می توان تحریک تولیـد GA_3 دانـست ولـی سـرما نقـش‌هـای دیگری نیز در تحریک جوانه‌زنی دارد که احتمالاً GA_3 در آنهـا دخالتی ندارد. به عبارت دیگر بخشی از خواب دانه کما مـرتبط با میزان جبرلین نبوده و از عوامل دیگری ناشی می‌گردد.

منابع مورد استفاده

۱. بریانت، ج. ۱۳۷۵. *فیزیولوژی بذر* (ترجمه ر. رحیمیان و م. خسروی). چاپ دوم ، انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.

۲. مدرس هاشمی، م. ۱۳۷۹. *گزارش پایان طرح روش‌های شکستن خواب چند گونه مرتعی*. انتشارات معاونت آموزش و تحقیقـات جهاد سازندگی، تهران.

۳. نصیری، م.، پ. باباخانلو و ح. عارفی. ۱۳۸۲. اولین گزارش از شکستن خواب و جوانه‌زنی بذر کزل. فصلنامه پژوهـشی ژنتیـک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران ۱۱ (۲): ۲۵۷ – ۲۷۴.

4. Baskin, C.C. and J.M. Baskin. 1991. Nondeep complex morphophysiological dormancy in seeds of *Osmorhiza claytonii* (Apiaceae). Amer. J. Botany 78: 588-593.
5. Baskin, C.C., E. Meyer. J.M. Baskin. 1995. Two type of morphophysiological dormancy in seeds of two genera (*Osmorhiza* and *Erythronium*) with an Arcto- Tertiary distribution pattern. Amer. J. Botany 82: 293-298.
6. Baskin, C.C., J.M. Baskin and E.W. Chester. 1999. Seed dormancy in the wetland winter annual *Ptilianium nuttalli* (Apiaceae). Wetland 19:23-29.
7. Baskin, C.C., P. Milberg, L. Andersson and J.M. Baskin. 2000. Deep complex morphophysiological dormancy in seeds of *Anthriscus sylvestris* (Apiaceae). *Flora Jena*. 195: 245-251.
8. Bewley, J.D. and M. Black. 1994. Seeds: Physiology of Development and Germination. Second Edition. Plenum Press., New York.
9. Chiwocha, S.D.S., A.J. Culter, A.J. Abrams, S.J Ambrose, J. Yang, A.R.S. Ross and A.R. Kermode. 2005. The ert1-2 mutation in *Arabidopsis thaliana* affects the abscisic acid, auxin, cytokinin and gibberellin metabolic pathways during maintenance of seed dormancy, moist chilling and germination. Plant J. 42:35-45.
10. Eastmond. P.J. and R.L. Jones. 2005. Hormonal regulation of gluconeogenesis in cereal aleurone is strongly cultivar-dependent and gibberellin action involves SLENDER4 but not GAMYB. Plant J. 44: 483-493.
11. El-Dengawy. E.F.A. 2005. Promotion of seed germination and subsequent seedling growth of loaquat (*Eriobotrya japonica*) by moist-chilling and GA_3 applications. Scientia Horticulturae 105: 331-342.
12. El-Nabawy, S., M. Abou-Rawash, A.M. El-Hamady, I. Desouky and F. Khalil. 1980. Effect of stratification and GA_3 on germination of pecan seeds and subsequent seedling growth. Annual Agric. Sci. (Fac. Agric. Ain-Shams Uuniv. Egypt). 25:323-338.
13. Gupa.V. 2003. Seed germination and dormancy breaking techniques for indigenous medicinal and aromatic plants. J. Med. and Aromatic Plant Sci. 25:402-407.
14. Hairong.W., G. Dongsheng and L. Xianli. 2005. Effects of plant growth regulators on content of phenolics in sweet cherry dormant flower buds and seed dormancy. Acta Horticulturae 32:584-588.
15. Harberd, N.P. and J. Peng. 2002. The role of GA-mediated signaling in the control of germination. Sci. 5: 376-381.
16. Hidayati, S.N., J.M. Baskin and C.C. Baskin. 2000. Morphophysiological dormancy in seeds of two North American and one Eurasian species of *sambacus* (caprifoliaceae) with under developed spatulate embryos. Amer. J. Botany 87: 1996-1678.
17. International Seed Testing Association (ISTA). 1985. International rules for seed testing. Seed Sci. and Technol. 13: 300-520.
18. Kretshmer, M. 1999. Optimal germination temperature range and dormancy in Apiaceae seeds. *Gemus-Munchen*. 35: 526-528.

19. Naidu, C.V., G. Rajendrudu and P.M. Swamy. 2000. Effect of plant growth regulators on seed germination of *sapindus trifoliatus*. Seed Sci. and Technol. 28: 249-252.
20. Noland, T.L. and J.B. Murthy. 1984. Changes in isocitrate lyase activity and ATP content during stratification and germination of sugar pine seeds. Seed Sci. and Technol. 12: 777-789.
21. Phillips, N., D. Drost and W. Varga. 2003. Chemical treatments enhanced seed germination in *Perideridia gairdneri*. Acta Horticulturea 618: 477-482.
22. Protsko R.F. and L.M. Gershunina. 1990. State of dormancy in seeds of *Heracleum* species and methods of increasing their germination. Ukrains' Kii Botanichnii zhurnal. 47:58-63.
23. Qiang.W., R. Xiao and Y. Qichuan . 2005. Study on the effect of plant hormones and prechilled treatment to break dormancy and germination of *Rhodiola rosea* seeds. J. zhejiang Univ. Agric. and life Sci. 31: 423-432.
24. Thomas, T.H. 1990. Hormonal involvement in photoregulation of celery seed dormancy. *M*onograph- British Society for Plant Growth Regulation 20:51-59
25. Thomas.T.H. and R.Y. Sambrooks. 1985 . Possible control of gibberellin – induced release of temperature – dependent primary dormancy in seeds of celery (*Apium graveolens*) by transmembrane ion fluxes. Plant Growth Regulation 3:191-199.
26. Thomas, T.H. and J.V. Staden. 1995. Dormancy break of celery (*Apium graveolens* L.) seeds by plant derived smoke extract. Plant Growth Regulation 17:195-198.
27. Trui, K. and N. Okagami. 1993. Temperature effects on seed germination of East Asian and Tertiery relict species of *Dioscorea* (Dioscoreaceae) . Amer. J. Botany 80: 493-499.
28. Widrelechner, M.P. and D.A. Kovach. 2000. Dormancy- breaking protocols for *Cuphea* seed. Seed Sci. and Technol. 28:11-27.
29. Walck, J.L., S.N. Hidayati and N. Okagami. 2002. Seed germination ecophysiology on the Asian species *Osmorhiza aristata* (Apiaceae): Comparison with its North American congeners and implications for evolution of types of dormancy. Amer. J. Botany 89:829-835.
30. Yanling, Z., S. Shouru, W. Lanju, Q. Baojian. and L. Xiang Yang. 1998. Effects of low temperature treatment s on germination of cerely seeds. Acta Agric. Univ. Henanensis 32: 73-75.