فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ۱۵، شمارهٔ ۲، صفحهٔ ۱۷۱-۱۵۹ (۱۳۸٦)

بررسی اثر برخی تنظیم کننده‌های رشد گیاهی بر کیفیت فیزیولوژیک بذرهای پیر شده گیاه *Bromus inermis*

حمیدرضا عیسوند[۱] و حسن مداح عارفی[۲]

۱- دانشگاه تهران، دانشکده کشاورزی، E-mail:hrisvand@gmail.com
۲-مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران، ص.پ. ۱۱٦- ۱۳۱۸۵

چکیده

در این تحقیق اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی سیتوکینین، اکسین و جیبرلین با غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ پی‌پی‌ام برکیفیت فیزیولوژیک بذرهای پیر شده *Bromus inermis* مورد بررسی قرار گرفت. درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و طول کل گیاهچه در بذرهای پیر شده به‌طور معنی‌داری کمتر از بذرهای پیر نشده بود. تنظیم کننده‌های رشد فوق در غلظتهای یکسان اثر متفاوتی بر درصد جوانه‌زنی داشتند. اکسین در غلظت‌های ۲۵ و ۱۰۰ پی‌پی‌ام سبب افزایش درصد جوانه‌زنی بذرهای پیر شده گردید. اثر نوع هورمون بر سرعت جوانه‌زنی معنی‌دار نبود، اما در همه تنظیم کننده‌ها با افزایش غلظت، خصوصاً از ۵۰ به ۱۰۰ppm، سرعت جوانه‌زنی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. فرایند پیری بذر، رشد ریشه‌چه را در مقایسه با رشد ساقه‌چه بیشتر تحت تأثیر قرار داد. بنظر می‌رسد مریستم‌های اولیه ریشه‌چه یکی از مکانهای حساس به پیری در بذر باشند. اکسین موجب کاهش اثرات مضر پیری بر رشد ریشه‌چه شد، اما این اثر به لحاظ آماری معنی‌دار نبود. اثر هورمون بر طول ساقه‌چه معنی‌دار بود و سیتوکینین و جیبرلین سبب افزایش طول ساقه‌چه شدند. کاهش نسبت طول ریشه‌چه به طول ساقه‌چه (R/S) در اثر پیری معنی‌دار نبود، اما اکسین این نسبت را در بذرهای پیر شده افزایش داد. با افزایش غلظت تنظیم کننده‌ها، R/S کاهش یافت. درصد گیاهچه‌های غیرعادی در اثر تیمار پیری کاهش یافت، اما درصد بذرهای مرده افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: پیری بذر، *Bromus inermis*، تنظیم کننده‌های رشد گیاهی و کیفیت فیزیولوژیک.

مقدمه

بذرهای اغلب گیاهان زراعی و مرتعی رفتار ارتودوکس (Orthodox) داشته و توانایی تحمل پسابش و حفظ قوه نامیه برای مدت طولانی در حالت خشک را دارا می‌باشند. با این وجود، این بذرها در مدت نگهداری پیر می‌شوند و در نهایت توانایی جوانه‌زنی را از دست می‌دهند. پیری بذر فرایندی است که حتی در صورت نگهداری بذر در ایده‌آل‌ترین شرایط غیر قابل اجتناب است. این فرایند، در ابتدا کیفیت فیزیولوژیک بذر را تحت تأثیر قرار می‌دهد به گونه‌ای که افت قوه نامیه و عوامل مرتبط با بنیه بذر (Seed vigor) از خصوصیات بذرهای پیر شده بشمار می‌روند (Copeland & McDonald., 1985؛ عیسوند و علیزاده، ۱۳۸۲). در شرایط انبار معمولی در آب و هوای معتدل،

قوه نامیه بذر *Bromus inermis* در مدت ۳/٤ سال، ۵۰٪ کاهش یافت (Priestly, 1986).

اندازه‌گیری کیفیت بذر تنها براساس آزمونهای خلوص و جوانه‌زنی نمی‌تواند معیار دقیقی برای کیفیت بذر باشد. عیب اصلی این قبیل آزمونها این است که فقط گیاهچه‌های غیرعادی و بذرهای مرده را مدنظر قرار می‌دهند. بنابراین، نتایج حاصل از این آزمایشهای منعکس کننده کیفیت یا بنیه بذرهای زنده نیست. تعریف بنیه بذر به‌طور وسیعی مورد بازبینی قرار گرفته است. بنیه بذر در برگیرنده خصوصیاتی از بذر است که تعیین کننده توانایی سبز شدن سریع، یکنواخت و نمو گیاهچه عادی تحت دامنه وسیعی از شرایط مزرعه می‌باشند (ISTA, 1985).

سرعت فرایند پیری در بذرهای انبار شده به میزان زیادی به ترکیبات بذرها، دمای نگهداری، رطوبت و تبادلات گازی بستگی دارد. گزارش شده است که در میان ژنوتیپهای گندم از نظر پیری بذر، تنوع ژنتیکی وجود دارد (Madan *et al.*, 1989). خسارت به ساختار غشاهای سلولی در طی پیری بذر ممکن است عامل مهمی در تشریح علل زوال و پیری بذر باشد (Senaratna *et al.*, 1988; Ferguson *et al.*, 1990). تکنیک پیری زودرس به‌عنوان روشی که در مدت کوتاهی اطلاعاتی در مورد بنیه بذر در اختیار قرار می‌دهد به وفور مورد استفاده قرار گرفته است. با این روش، تغییرات سلولی که در مدت نگهداری طولانی مدت در بذر اتفاق می‌افتد، از طریق قرار دادن کوتاه مدت بذر در معرض دمای بالا (٤٥-٤٠) همرا با رطوبت زیاد (رطوبت نسبی ۱۰۰٪)، قابل شبیه سازی است (Delouche & Baskin, 1973). این آزمون در مقایسه با آزمون جوانه‌زنی و رشد، قادر است شواهد بهتری از سبز شدن بذرهای گونه‌های مختلف گیاهی در مزرعه را در اختیار قرار دهد (Pandey *et al.*, 1990).

در مطالعه‌ای در زمینه استقرار گیاهچه، Roohi و Jameson (۱۹۹۱) گزارش کردند که پرایم کردن بذرهای گراس مرتعی *Bouteloua gracilis* با (Indol acetic acid) IAA، سبب افزایش استقرار آن در شرایط تنش خشکی شد، زیرا اکسین فاصله زمانی بین جوانه‌زنی و تشکیل ریشه‌های نابجا را کاهش داد. در تحقیق دیگری نیز از پرایمینگ هورمونی (Hormonal priming) برای تقویت بنیه بذرهای گندم برای مقابله با شرایط شوری استفاده شده است (Iqbal *et al.*, 2006).

اسید جیبرلیک و کینتین، اثرات تنش خشکی بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه نخود ایرانی را نسبتاً کاهش دادند و سبب بهبود جوانه‌زنی و رشد در پتانسیل آبی پایین شدند که در این رابطه، اسید جیبرلیک مؤثرتر از کینتین بود. در شرایط تنش خشکی اسید جیبرلیک فعالیت آمیلاز را در لپه‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش داد در حالی‌که کینتین و IAA کمتر مؤثر بودند (Kaur *et al.*, 1998). پرایمینگ بذرهای پیر شده نخود با(ABA (Absicic acid، سبب افزایش جوانه‌زنی و کاهش میانگین زمان جوانه‌زنی گردید (Sivritepe & Dourado, 1995).

بذرهای موجود در بانکهای ژن بواسطه کاهش موجودی و یا افت قوه نامیه، هر چند سال یک بار نیاز به احیاء و تکثیر دارند. در برنامه احیاء بذرهای بانک ژن منابع طبیعی مشخص گردید که بذرهای پیر شده به‌رغم داشتن قوه نامیه نسبتاً بالا، قابلیت تولید گیاهچه‌های قوی و قابل استقرار آنها ضعیف است (عیسوند و مداح عارفی، ۱۳۸۳). بنابراین یکی از مشکلات در احیاء و تکثیر بذرهای نگهداری شده در بانکهای ژن، ضعف بنیه

بـذرهای پیـر شـده و در نتیجـه ضـعیف بـودن اسـتقرار گیاهچه‌های مربوطه می‌باشد. بخـش عمـده‌ای از بـذرهای بانک ژن منابع طبیعی را گونه‌های مختلف گرامینه تشکیل می‌دهد (حدود ۵۰۰۰ اکسـشن کـه ۷۵۰ مـورد از آنهـا از جنس بروموس می‌باشند). از طرف دیگر، کشورمان ایـران با مناطق خشک و نیمه خشک وسیع (FAO, 2003) دارای حدوداً ۳۹۷ گونه گراس از ۱۱۵ جنس می‌باشد (مظفریان، ۱۳۷۵). گراسـهای چندسـاله در ایـران بـه‌عنـوان گیاهـان کلیدی از نظر اقتصادی و پایـداری محیطـی مراتـع بـرای چرای دامها اهمیت دارند. جوانه‌زنی و سبز شدن بذر از مهمترین مراحل در اصلاح مراتـع، خـصوصاً در منـاطق خشک می‌باشد. کمبـود آب در منـاطق خـشک و نیمـه خـشک، جوانـه‌زنـی بـذر، اسـتقرار گیاهچـه و دوام گراسهای چندساله را شدیداً محدود می‌کند (Bassiri *et al.*, 1988). با توجه به اینکه در گزارشهای مختلفی بـه اثرات مفید تیمارهای پرایمینگ بذر بر بهبود جوانه‌زنـی در شرایط تنـشهای مختلـف خـشکی، شـوری و سـرما اشاره شده اسـت (Hardegree & Van Vactor, 2000; Ajouri *et al.*, 2004; Iqbal *et al.*, 2006) انتظـار می‌رود نتایج این تحقیق علاوه بر یافتن راهکاری جهت تقویت بنیه بذرهای پیر شده *Bromus inermis* موجـود در بانک ژن، بـرای افـزایش رانـدمان احیـاء و اصـلاح مراتعی که بذر این گیاه در آنها کشت می‌گردد نیز مفید واقع شود.

مواد و روشها

بذرهای *Bromus inermis* از بانـک ژن منـابع طبیعـی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور تهیه گردید. ایـن نمونـه بـذری در مـرداد مـاه ۱۳۸۳ از اسـتان همـدان جمع‌آوری و با ۸/۵ درصد رطوبت در دمـای ۱۸- درجـه سانتیگراد با شماره اکسشن ۱۵۳۴۹ در بانک ژن نگهـداری شده بود. قوه نامیه آن در شروع آزمایش ۹۶ درصد بود.

برای اعمال تیمار پیری زودرس، از یک آون و دستگاه دسیکاتور استفاده شد. دمای آون $40\pm2\ C^{\circ}$ تنظیم شد و در کف دسیکاتور تـا زیـر صـفحه مـشبک، آب ریختـه شـد. سپس بذرها به مدت ۹۶ ساعت بر روی صفحه مـشبک و در داخل دسیکاتور قرار داده شدند. پـس از اعمـال تیمـار پیری زودرس، بذرهای پیر شده همراه با بـذرهای کنتـرل در داخل محلولهایی با چهار غلظت صـفر، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ پـی‌پـی‌ام از هریـک از تنظـیم کننـده‌هـای رشـد اکـسین، سیتوکینین و جیبرلین به مدت ۲۴ سـاعت در دمـای اتـاق پرایم شدند. هر یک از تنظیم کننده‌های رشـد بـه تنهـایی استفاده شدند و محلـول ترکیبـی از آنهـا در ایـن تحقیـق استفاده نشد. مشخـصات تنظـیم کننـده‌هـای رشـد مـورد استفاده در جدول زیر آورده شده است.

جدول ۱- مشخصات تنظیم کننده‌های رشد استفاده شده برای پرایم کردن بذرهای بروموس

نام ژنریک	نام شیمیایی	فرمول شیمیایی	شرکت سازنده
اکسین (Aux)	ایندول۳-بوتیریک اسید	$C_{12}H_{13}NO_2$	Merk
سیتوکینین (Cyt)	۶-بنزیل آمینوپورین	$C_{12}H_{11}N_5$	Sigma
جیبرلین (GA)	جیبرلیک اسید	$C_{19}H_{22}O_6$	Merk

بلافاصله پس از خارج کردن بذرها از محلولهای هورمونی، ۳ تکرار ۲۵ عددی از آنها تهیه و پس از ضدعفونی سطحی با هیپوکلریت ۱٪ به مدت ۵ دقیقه و دوبار شستشو با آب مقطر، روی کاغذ صافی مرطوب داخل پتری‌دیش استریل قرار داده شدند. بذرهای پیر نشده نیز به‌عنوان شاهد کشت شدند. سپس جهت جوانه‌زنی به ژرمیناتور با دمای ثابت ۱۹ درجه سانتی‌گراد، تناوب نوری ۱۲-۱۲ ساعت و رطوبت نسبی ۷۰٪ منتقل شدند. پتریها به طور روزانه سرکشی و ضمن تأمین رطوبت در حد مطلوب، تعداد بذرهای جوانه‌زده یادداشت گردید. فرایند جوانه‌زنی با جذب آب توسط بذر خشک در حال استراحت، شروع و با خروج ریشه‌چه از ساختارهایی که آن را فراگرفته‌اند، کامل می‌شود (Bewley, 1997). بنابراین، خروج یک میلیمتر ریشه‌چه به‌عنوان معیار بذر جوانه‌زده در نظر گرفته شد. آزمون جوانه‌زنی تا زمانی ادامه یافت که در سه شمارش متوالی بر تعداد بذرهای جوانه‌زده افزوده نشد. بر همین اساس این آزمون ۱۷ روز طول کشید.

با استفاده از روابط زیر، سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه محاسبه گردید:

فرمول سرعت جوانه‌زنی (Agrawal, 2004):

$$\text{سرعت جوانه‌زنی} = \sum_{1}^{j} \frac{n_i}{Di}$$

ni تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز iام و Di تعداد روز پس از شروع آزمایش

فرمول شاخص بنیه (Abdul-baki & Anderson, 1973):

$$\text{شاخص بنیه} = \frac{\text{درصد جوانه زنی} \times \text{میانگین طول گیاهچه (mm)}}{100}$$

درصد تغییرات صفات اندازه‌گیری شده در بذرهای پیر شده نسبت به پیرنشده با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

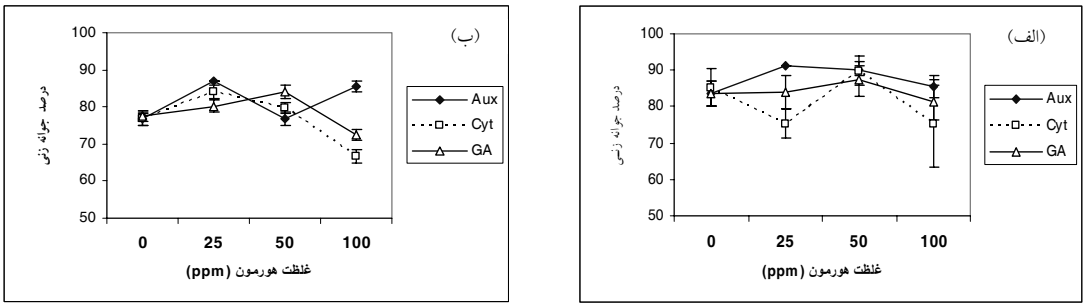
$$\frac{\text{صفت مورد نظر در بذرهای پیرنشده} - \text{صفت مورد نظر در بذرهای پیرشده}}{\text{صفت مورد نظر در بذرهای پیر نشده}} \times 100$$

تجزیه داده‌ها

بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Minitab انجام شد. داده‌های درصد جوانه‌زنی با استفاده از روش زاویه‌ای (Arc scin transformation) و داده‌های سرعت جوانه‌زنی به روش رادیکالی(Square root) تبدیل شدند. تجزیه واریانس بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با نرم‌افزار MSTAT-C انجام شد. معیار اشتباه (SE) بصورت میله‌های عمودی روی نمودارها آورده شده است.

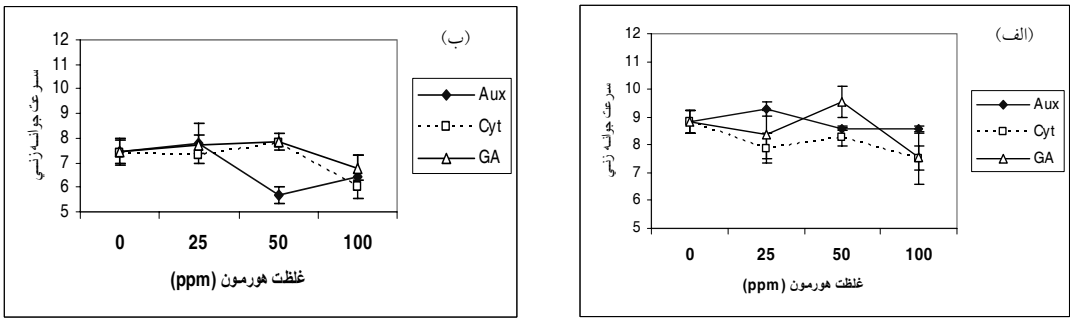
نتایج

اثر تیمار پیری زودرس و نوع هورمون بر درصد جوانه‌زنی به‌ترتیب در سطح یک و پنج درصد معنی‌دار بود، اما اثر متقابل معنی‌دار تنظیم کننده رشد و پیری زودرس بر درصد جوانه‌زنی مشاهده نشد (جدول ۳). پیری زودرس درصد جوانه‌زنی را به میزان ٦/٤٦٪ کاهش داد (جدول ۲). اکسین موجب افزایش جوانه‌زنی گردید، اما سیتوکینین در غلظت ppm ۵۰ و ppm ۱۰۰ جوانه‌زنی بذرهای پیر نشده و در ppm ۱۰۰ جوانه‌زنی بذرهای پیر شده را کاهش داد (جدول ٤ و شکل ۱). پرایم کردن بذرهای پیر نشده با جیبرلین، اثر معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی نداشت، اما در غلظت ppm ۱۰۰، جوانه‌زنی بذرهای پیر شده را ٦/٥٪ کاهش داد (جدول ٤).



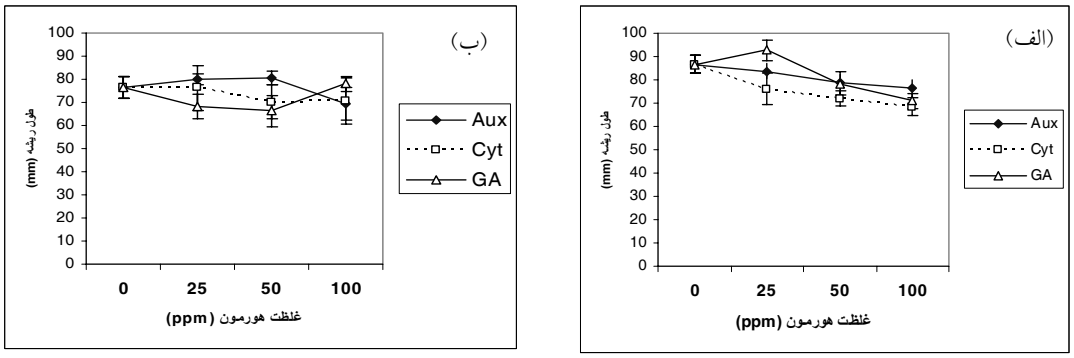
شکل ۱- اثر تنظیم کننده‌های رشد اکسین (Aux)، سیتوکینین (Cyt) و جیبرلین (GA) بر درصد جوانه‌زنی بذرهای پیر نشده (الف) و بذرهای پیر شده (ب)

تیمار پیری، سرعت جوانه‌زنی را به میزان قابل توجهی کاهش داد (جدول ۲). اکسین در غلظتهای ppm ۱۰۰ و ۵۰ و سیتوکنین و جیبرلین در غلظت ppm ۱۰۰ سبب کاهش سرعت جوانه‌زنی شدند. کاهش سرعت جوانه‌زنی بذرهای پیر شده در غلظت ppm ۵۰ اکسین، کاملاً مشهود بود (شکل ۲). اکسین در غلظت ppm ۲۵ و جیبرلین و سیتوکینین در غلظت ppm ۵۰ اندکی سرعت جوانه‌زنی بذرهای پیر نشده را افزایش دادند، گرچه این افزایش به لحاظ آماری معنی‌دار نبود (جدول ٤).



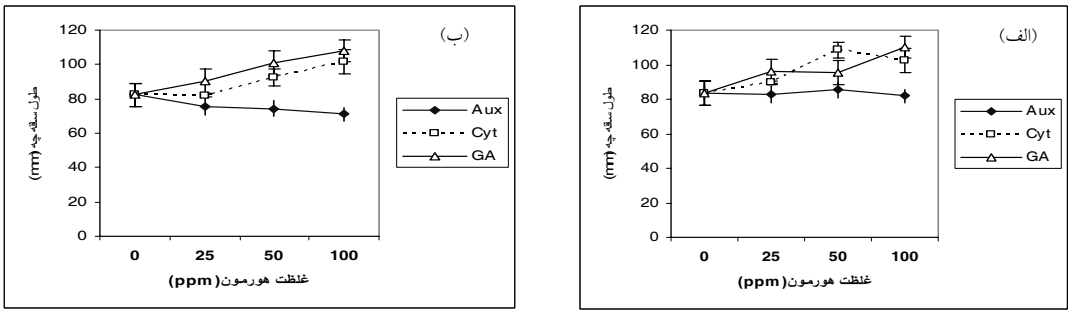
شکل ۲- اثر تنظیم کننده‌های رشد اکسین (Aux)، سیتوکینین (Cyt) و جیبرلین (GA) بر سرعت جوانه‌زنی بذرهای پیر نشده (الف) و بذرهای پیر شده (ب)

طول ریشه‌چه در اثر تیمار پیری به میزان ۷/۱٦٪ کاهش یافت. در حالی‌که طول ساقه‌چه ۵/۵٪ کاهش یافت (جدول ۲). اثر نوع هورمون بر طول ریشه‌چه معنی‌دار نبود، اما اثر غلظت هورمون بر این صفت معنی‌دار بود. در بذرهای پیر نشده فقط غلظت ppm ۲۵ جیبرلین به‌طور نسبی طول ریشه‌چه را افزایش داد. سیتوکینین بر رشد ریشه‌چه بذرهای پیر نشده اثر بازدارندگی داشت (شکل ۳- الف). در بذرهای پیر شده، اکسین تا غلظت ppm ۵۰ موجب افزایش طول ریشه‌چه شد و در غلظت ppm ۱۰۰، آن را کاهش داد (جدول ٤).



شکل ۳- اثر تنظیم کننده های رشد اکسین(Aux)، سیتوکینین (Cyt) و جیبرلین (GA) بر طول ریشه‌چه گیاهچه حاصل از بذرهای پیر نشده (الف) و پیر شده (ب)

تنظیم کننده‌های رشد استفاده شده، در غلظتهای یکسان اثرات متفاوتی بر طول ساقه‌چه داشتند و اثر متقابل هورمون × غلظت معنی‌دار بود. در بذرهای پیر شده سیتوکینین و جیبرلین ضمن داشتن اثر مثبت بر طول ساقه‌چه، روندی مشابه داشتند، اما اکسین تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت (شکل ٤). جیبرلین و سیتوکینین در غلظتهای ۵۰ و ۱۰۰ ppm رشد ساقه‌چه در بذرهای پیر شده را بهبود بخشیدند (جدول ٤).



شکل ٤- اثر تنظیم کننده‌های رشد اکسین (Aux)، سیتوکینین (Cyt) و جیبرلین (GA) بر طول ساقه‌چه گیاهچه حاصل از بذرهای پیر نشده (الف) و بذرهای پیر شده (ب)

تیمار پیری زودرس طول گیاهچه را حدود ٦٪ کاهش داد (جدول ۲). اثر نوع هورمون و اثر متقابل هورمون و غلظت آن بر طول گیاهچه معنی‌دار بودند (جدول ۳). هورمون جیبرلین در مقایسه با تنظیم کننده‌های رشد سیتوکینین و اکسین به‌طور معنی‌داری طول گیاهچه را افزایش داد و کمترین افزایش مربوط به اکسین بود. جیبرلین و سیتوکینین در غلظت ۱۰۰ ppm سبب بهبود طول گیاهچه حاصل از بذرهای پیر شده شدند.

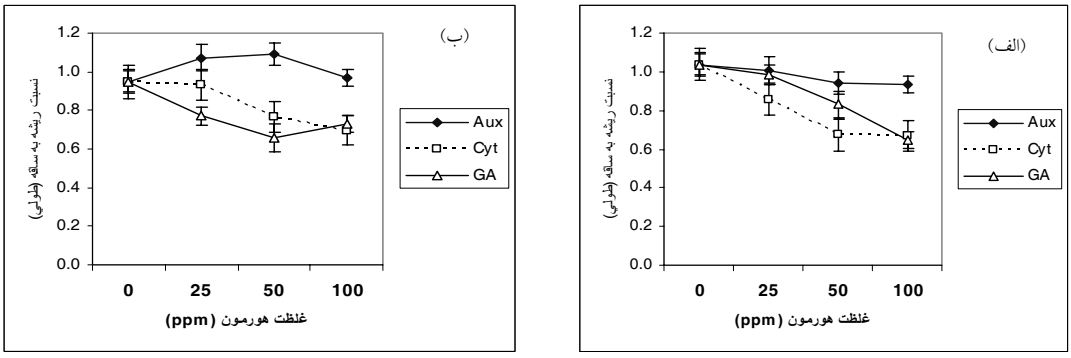
جدول ۲- درصد تغییرات صفات اندازه‌گیری شده در بذرهای پیر شده نسبت به پیرنشده[1]

R/S	وزن خشک	وزن تر	طول گیاهچه	طول ساقه‌چه	طول ریشه‌چه	درصد بذرهای مرده	درصدگیاهچه غیر عادی	شاخص بنیه	سرعت جوانه‌زنی	درصد جوانه‌زنی
-۱/۲۵^{ns}	-۲/۹۱^{ns}	-٤/۰۹^{ns}	-٦/۲۹**	-٥/٥۰*	-۷/۱٦*	٤۷/۰٦**	-٤۹/۹۹*	-۱٤/٦۷**	-۱٦/۱۰**	-٦/٤٦**

ns، معنی‌دار نبودن؛ *، معنی‌دار در سطح پنج درصد؛ **، معنی‌دار در سطح یک درصد

۱- علائم بالای اعداد داخل جدول از جدول تجزیه واریانس اقتباس شده‌اند.

نسبت طولی ریشه به ساقه (R/S) (Root/Shoot ratio) در اثر پیری بذر کاهش یافت (جدول ۲). در بذرهای پیر شده، اکسین در غلظت ۲۵ و ۵۰ ppm موجب افزایش R/S شد ولی سیتوکینین و جیبرلین آن را کاهش دادند (شکل ۵). در بذرهای پیر نشده اثر کاهشی سیتوکینین بر R/S بیشتر از جیبرلین بود، اما در بذرهای پیر شده، جیبرلین بیشتر از سیتوکینین R/S را کاهش داد. هم در بذرهای پیر نشده و هم در بذرهای پیر شده، با افزایش غلظت تنظیم کننده‌ها از ۵۰ به ۱۰۰ ppm، R/S کاهش یافت.



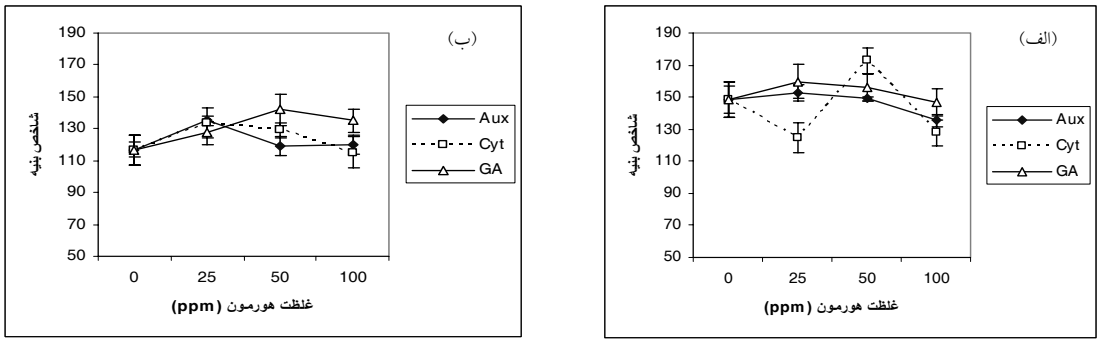
شکل ۵- اثر تنظیم کننده‌های رشد اکسین (Aux)، سیتوکینین (Cyt) و جیبرلین (GA) بر نسبت ریشه به ساقه در گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پیر نشده (الف) و بذرهای پیر شده (ب)

گرچه تیمار پیری اندکی سبب کاهش وزن خشک گیاهچه شد (جدول ۲)، اما تنها غلظت تنظیم کننده‌های رشد آن را به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار داد (جدول ۳). بیشترین وزن خشک از غلظت ppm 0 بدست آمد و با افزایش غلظت تنظیم کننده‌های رشد، وزن خشک کاهش یافت.

درصد گیاهچه‌های غیرعادی در اثر اعمال تیمار پیری، کم شد اما درصد بذرهای مرده افزایش یافت. با مراجعه به جدول ۲ و مقایسه تغییرات متضاد و تقریباً یکسان، درصد گیاهچه‌های غیرعادی و بذرهای مرده در اثر پیری، به نظر می‌رسد اثر تیمار پیری زودرس بر بذرهایی که در شرایط جوانه‌زنی گیاهچه غیرعادی تولید می‌کنند شدید بوده و سبب مردن آنها می‌شود (جدول ۲).

تیمار پیری و غلظت تنظیم کننده رشد، شاخص بنیه را تحت تأثیر قرار دادند. شاخص بنیه پس از درصد

گیاهچه‌های غیرعادی و سرعت جوانه‌زنی بیشتر از سایر صفات تحت تأثیر پیری بذر قرار گرفت (جدول ۱). اثرات تیمارهای مختلف بر شاخص بنیه در شکل ٦ نشان داده شده است.



شکل ٦- اثر تنظیم کننده‌های رشد اکسین (Aux)، سیتوکینین (Cyt) و جیبرلین (GA) بر شاخص بنیه بذرهای پیر نشده (الف) و پیر شده (ب)

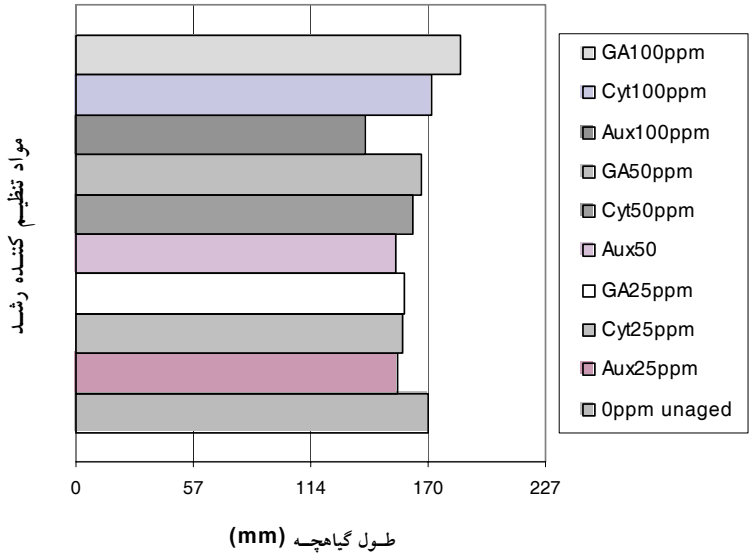
جدول ۳- میانگین مربعات تجزیه واریانس برخی صفات مورد بررسی در بذر و گیاهچه Bromus inermis

منبع تغییرات	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی (داده‌های تبدیل شده)	سرعت جوانه‌زنی (داده‌های تبدیل شده)	وزن خشک گیاهچه	طول ساقه‌چه	طول ریشه‌چه	نسبت ریشه به ساقه (R/S) (داده‌های تبدیل شده)
پیری زودرس (A)	۱	۳٦۵/۵۲**	٤٦۷/۹۹**	۰/۰۳^{ns}	٤٦۱/۰٦*	۵۸۸/۲٤**	۰/۰۰۱^{ns}
نوع ماده تنظیم کننده رشد (B)	۲	۹۵/٤۲*	۱۲/۷۱^{ns}	۰/۰۸^{ns}	۱۷۷٦**	۱۱۷/۵٤^{ns}	۰/۱۷**
A×B	۲	۲/۵۷^{ns}	۲۲/۲۰^{ns}	۰/۰۰٤^{ns}	۷۵/۸۷^{ns}	۸۸/۵۰^{ns}	۰/۰۳^{ns}
غلظت ماده تنظیم کننده رشد (C)	۳	۹٦/۲٤**	۵۱/٦۸**	۰/۱٤*	۱۸۹۱/۷**	۳۳۳/۵۰*	۰/۱۲**
A×C	۳	۳۸/۸۷^{ns}	٦/۵۹^{ns}	۰/۰۵^{ns}	۱۰۱/۰۵^{ns}	۱۱۸/۰۱^{ns}	۰/۰۱۱^{ns}
B×C	٦	٤۹/٤۵*	۲۳/۵۰^{ns}	۰/۰۳^{ns}	۲۰۷٦/۸**	۳۵/۳۱^{ns}	۰/۰۲٤*
A×B×C	٦	۳۰/۵۰^{ns}	۷/۲۷^{ns}	۰/۰۱^{ns}	۳۲۵/۱^{ns}	۱۰۸/٤۷^{ns}	۰/۰۱۳^{ns}
خطا	٤۸						
کل	۷۱						
ضریب تغییرات (CV%)		۷/۱٤	۱۵/۸	۱٤/٦	۹/٦۰	۱۱/۸۸	۱۱/۳۰

*: معنی‌دار در سطح پنج درصد، **: معنی‌دار در سطح یک درصد

جدول ٤- درصد تغییرات برخی صفات مورد بررسی در بذرهای پیر شده در اثر پرایمینگ هورمونی

هورمون	غلظت (ppm)	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	شاخص بنیه	طول ریشه‌چه	طول ساقه‌چه	R/S
اکسین	۲۵	**۱۱/٤٦**	٤/۳٦	۱۳/٦۳	٤/٦۳	-۸/۹٦	۱۱/۵
	۵۰	-۰/۲۵	-۳۱	۱/۸۱	**۵/٤۲**	-۱۰/٦	**۱۳/۱۲**
	۱۰۰	۹/۹	-۱٦/۵۲	۲/۸۵	-۱۰/۱٦	**-۱۵/۸۱**	۲/۳٤
سیتوکینین	۲۵	۸/۳۹	-۲/٦۳	۱٤/٦۹	۰/۰٤	-۰/٦۱	-۱/۸۳
	۵۰	۳/٤	٤/٦	۹/۷٦	-۸/٦	۱۰/۹۳	-۲٤/٦
	۱۰۰	**-۱۵/۵**	**-۲٤/۳۳**	**-۱/۳۷**	-۷/۹۸	۱۸/۷	-۳۷/۲۵
جیبرلین	۲۵	۳/۹۸	۳/٤۹	۸/۲	-۱۱/٦	۸/٦۹	-۲۲/۹
	۵۰	۸/٤	**٤/۸۵**	**۱۷/۳۸**	**-۱۵/۰۳**	۱۸/٦۲	**-٤٤/۱٤**
	۱۰۰	-٦/۵	-۱۰/۱۹	۱۳/۵۵	۲/۸	**۲۳/٦**	-۳۱/۵۲



شکل ۷- اثر پرایمینگ هورمونی بر طول گیاهچه بذرهای پیر شده *Bromus inermis*

بحث

درصد جوانه‌زنی, سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و طول کل گیاهچه در اثر پیری زودرس کاهش یافتند (جدول ۲). عبدی و مداح عارفی (۱۳۸۰) نیز گزارش کردند با گذشت زمان و پیر شدن بذرهای *Bromus tomentellus*، صفاتی نظیر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، شاخص بنیه و ارتفاع گیاهچه کاهش یافت و همبستگی بین میزان افت درصد جوانه‌زنی با صفات ذکر شده، منفی و معنی‌دار بود. اما برخی تیمارهای مواد تنظیم کننده رشد موجب بهبود بعضی از این صفات شدند.

خسارت به ساختار غشاهای سلولی در طی پیری بذر ممکن است عامل مهمی‌در تشریح علل زوال و پیری بذر باشد (Senaratna *et al.*, 1988). بنابراین اثرات مفید مواد تنظیم کننده رشد در غلظتهای خاص ممکن است بخشی بواسطه بهبود ساختار غشاء بذرهای پیر شده باشد. با این وجود، غلظت بالای سیتوکینین و جیبرلین خصوصاً در بذرهای پیر شده، جوانه‌زنی را کاهش داد. این موضوع به این حقیقت بر می‌گردد که منحنی واکنش بافت زنده به همه هورمونهای شناخته شده زنگوله‌ای شکل می‌باشد. یعنی در غلظتهای پایین، اثر تحریک کنندگی داشته و به حداکثر خود می‌رسد و در غلظتهای بالاتر از آن اثر بازدارندگی خواهد داشت (Arteca, 1995). کاهش جوانه‌زنی در غلظتهای بالای جیبرلین، به رها سازی یک یا چند عامل از اندوسپرم که القاء کننده مرگ سلول در بافتهای جنینی هستند ربط داده شده است. دلیل احتمالی دیگر این است که غلظت زیاد جیبرلین سبب جلو انداختن مرگ سلولهای اندوسپرم شده و مرگ اندوسپرم خیلی زودتر از رشد محور جنینی اتفاق می‌افتد. به بیان دیگر، غلظت زیاد جیبرلین همزمانی فرایندهای جوانه‌زنی در محور جنینی و اندوسپرم را به هم می‌زند (Da Silva, *et al.*, 2005).

مشخص شده که زوال بذر به‌طور یکنواخت در همه بخشها اتفاق نمی‌افتد. مثلاً ریشه‌چه و اسکوتلوم به‌عنوان مکانهای اولیه احتمالی زوال بذر در تک لپه‌ایها شناسایی شده‌اند (Mcdonald, 1999). در بذر ذرت، نیز پس از تیمار پیری زودرس، سرعت توسعه ریشه‌چه در مقایسه با سرعت توسعه ساقه‌چه به میزان بیشتری کاهش یافت (Bingham *et al.*,1994).

میانگین طول ساقه‌چه در گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پیر شده بروموس به‌طور معنی‌داری کمتر از میانگین آن در گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پیر نشده بود. تنظیم کننده‌های رشد استفاده شده، در غلظتهای یکسان اثرات متفاوتی بر طول ساقه‌چه داشتند. در بذرهای پیر شده سیتوکینین و جیبرلین ضمن داشتن اثر مثبت بر طول ساقه‌چه، روندی مشابه داشتند. جیبرلین و سیتوکینین در غلظتهای ۵۰ و ppm ۱۰۰ برای بهبود رشد ساقه‌چه در بذرهای پیر شده مفید بودند و استفاده از آنها موجب تقویت بنیه بذرهای پیر شده گردید (جدول ٤). اقبال و همکاران نیز نشان دادند پرایم کردن بذر گندم با غلظتهای بهینه سیتوکینین اثرات مفیدی بر جوانه‌زنی، رشد و عملکرد گندم خصوصاً در شرایط شور دارد (Iqbal, *et al.*, 2006).

نسبت طولی ریشه به ساقه در اثر پیری بذر اندکی کاهش یافت اما معنی‌دار نبود. از آنجایی‌که کاهش رشد ریشه در اثر پیری معنی‌دار بود, معنی‌دار نبودن کاهش R/S را می‌توان به کاهش کمتر طول ساقه‌چه در مقایسه با ریشه‌چه نسبت داد (۵/۵٪ در برابر ۷/۱٦٪) (جدول ۲). سیتوکینین و جیبرلین در هر سه غلظت استفاده شده موجب کاهش آن شدند. در بذرهای پیر شده، اکسین موجب افزایش R/S شد (شکل ۵). هم در بذرهای پیر نشده و هم در بذرهای پیر شده، با افزایش غلظت تنظیم کننده‌ها از ۵۰ به ppm ۱۰۰، R/S کاهش یافت.

در این تحقیق، درصد جوانه‌زنی در مقایسه با شاخص بنیه کمتر تحت تأثیر پیری قرار گرفت (جدول ۲). نتایج عیسوند و علیزاده (۱۳۸۲) در مورد بذر بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) نیز نشان داد که شاخص بنیه بذر بیشتر از درصد جوانه‌زنی آن تحت تأثیر

پیری زودرس قرار گرفته و کاهش می‌یابد. بیشترین شاخص بنیه در بذرهای پیر نشده با اعمال سیتوکینین در غلظت ۵۰ppm (شکل ٦) و در بذرهای پیرشده با کاربرد اکسین و سیتوکینین در غلظت ۲۵ ppm و جیبرلین در غلظتهای ۵۰ و ۱۰۰ppm بدست آمد. میزان تغییرات شاخص بنیه بذرهای پیر شده در اثر تیمارهای هورمونی در جدول ٤ ارائه شده است.

با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق، غلظت ۲۵ ppm اکسین برای افزایش جوانه‌زنی و غلظت ۵۰ppm جیبرلین برای بهبود سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه در بذرهای پیر شده *Bromus inermis* و غلظت ۲۵ ppm اکسین جهت افزایش جوانه‌زنی، جیبرلین ۵۰ ppm برای افزایش سرعت جوانه‌زنی و سیتوکینین ۵۰ ppm جهت بهبود شاخص بنیه در بذرهای پیر نشده قابل پیشنهاد هستند. گرچه، لازم است تیمارهای ترکیبی تنظیم کننده‌های رشد فوق، نیز مورد آزمون قرار گیرند تا در صورت وجود اثرات سینرژیستی (Synergistic effects) بین تنظیم کننده‌ها در تقویت کیفیت فیزیولوژیکی بذر، بتوان به‌طور مؤثرتری از آنها در زمینه بهبود کیفیت بذرهای پیر شده و بذرهای پیر نشده، استفاده کرد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از آقای مهندس نصیری، مسئول آزمایشگاه تکنولوژی بذر بانک ژن منابع طبیعی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور و سرکار خانم فلاح حسینی، کارشناس آزمایشگاه، بخاطر همکاری صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع مورد استفاده

– عبدی، ن.ا. و مداح عارفی، ح.، ۱۳۸۰. بررسی تنوع و روند زوال ژرم پلاسم گونه *Bromus tomentellus* موجود در بانک ژن منابع طبیعی. فصلنامه تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، جلد ۷؛ ص ۲۵-۲.

– عیسوند، ح.ر. و مداح عارفی، ح.، ۱۳۸۳. بررسی چالشهای تولید بذر برخی گونه‌های جنسهای *Bromus ،Aegilops* و *Onobrychis* در بانک ژن منابع طبیعی ایران. خلاصه مقالات دوازدهمین کنفرانس سراسری زیست شناسی ایران، دانشگاه بوعلی سینا همدان، ص ۳۵۳.

– عیسوند، ح.ر. و علیزاده، م.ح.، ۱۳۸۲. بررسی برخی فاکتورهای کیفیت فیزیولوژیکی بذر(درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه) گیاه دارویی بادرشبو *(Dracocephalum moldavica)* تحت شرایط آزمون پیری زودرس. فصلنامه تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، جلد ۱۱، شماره ۲؛ ص ۲۵٦-۲٤۹.

– مظفریان، و.ا.، ۱۳۷۵. فرهنگ نامهای گیاهان ایران. انتشارات فرهنگ معاصر، تهران.

- Abdul-baki, A.A. and Anderson, J.D., 1973. Vigor determination in soybean seed by multiplication. Crop Sci., 3: 630-633.
- Agrawal, R.L., 2004. Seed technology. Oxford and IBH Publishing Co. LTD. New Delhi.
- Ajouri, A., Asgedum H., and Becker, M., 2004. Seed priming enhances germination and seedling growth of barley under conditions of P and Zn deficiency. J. Plant Nutr. Soil Sci. 167: 630-636.
- Arteca. N.R., 1995. Plant growth substances: principles and applications. Springer, 352 pages.
- Bassiri, M., Wilson A.M., and Grami B., 1988. Dehydration effect on seedling development of four range species. J. Range Manage. 41: 383–386.
- Bewley, J.D., 1997. Seed germination and dormancy. Plant Cell 9:1055-1066.
- Bingham, I. J., Harris, A. and MacDonald, L., 1994. A comparative study of radicle and coleoptile extension in maize seedlings from aged and unaged seeds. Seed Science and Technology, 22, 127-139.
- Copeland, L.D., and McDonald M.B., 1985. Principles of seed science and technology. New York.
- Da Silva, E.A.A., Toorop, P.E., Nijsse, J., Bewley, J.D., and Hilhorst, H.W.M., 2005. Exogenous gibberellins inhibit coffee *(Coffea arabica cv. Rubi)* seed germination and cause cell death in the embryo. Journal of Experimental Botany, Vol. 56, No. 413, pp. 1029–1038.
- Delouche J.C. and Baskin, C.C., 1973. Accelerated ageing technique for predicting relative storability of seed lots. Seed Science and Technology 1: 427-452.

- FAO (Food and Agriculture Organization). 2003. Statistical data base. The state of Iran Agri-Food country profile. Rome.
- Ferguson, J.M., Tekrony, D.M. and Egli, D.E., 1990. Changes during early seed and axes deterioration: 11. Lipids. Crop Science 30: 179-182.
- Hardegree, S.P. and Van Vactor S.S., 2000. Germination and emergence of primed grass seeds under field and simulated-field temperature regimes. Annals of Botany 85: 379-390.
- International Seed Testing Association. 1985. International rules for seed testing. Seed Sci. and Technol., 13, 299-355.
- Iqbal, M., Ashraf M., Jamil A. and Rehman S., 2006. Dose seed priming induce changes in the levels of some endogenous plant hormones in hexaploid wheat plants under salt stress? Journal of Integrative Plant Biology, 48 (2): 181-189.
- Kaur, S., Gupta K.A. and Kaur N., 1998. Gibberellic acid and kinetin partially reverse the effect of water stress on germination and seedling growth in chickpea. Plant Growth Regulation 25: 29–33, 1998.
- Madan, S., Talwar, G.R., Behl, K. and Verma, U., 1989. Effect of accelerated ageing on germination, seedling vigour and beta-amylase activity in wheat. Research & Development Reporter 6: 48-54.
- McDonald M.B., 1999. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. Seed Science and Technology 27, 177-237.
- Pandey, P.K., Goyal, R.D., Parakash, V., Katiyar, R.P. and Singh, C.B., 1990. Association between laboratory vigour tests and field emergence in cucurbits. Seed Research 18: 40-43.
- Priestly, D.A., 1986. Seed aging. Cornell University Press.
- Roohi, R. and Jameson D.A., 1991. The effect of hormone, dehulling and seedbed treatments on germination and adventititious root formation in blue grama. Journal of Range Management, 44(3): 237-241.
- Senaratna, T., Gusse, J.F. and McKersie, B.D., 1988. Age-induced changes in cellular membranes of imbibed soybean seed axes. Physiologia Plantarum 73: 85-90.
- Sivritepe, H.O., and Dourado A.M., 1995. The effect of priming treatments on viability and accumulation of chromosomal damage in aged pea seeds. Annals of Botany, 75:165-171.

Effects of some plant growth regulators on physiological quality of *Bromus* aged seeds

H.R. Eisvand[1] and H.M. Arefi[2]

1- University of Tehran, Department of Agronomy and Plant Breeding E-mail: hrisvand@gmail.com
2- Research Institute of Forests and Rangelands, P.O. Box: 13185-116, Tehran, Iran,

Abstract

The recovery of physiological quality of Bromus (*Bromus inermis* L.) aged seeds was evaluated, using cytokinin, auxin and gibberellin with 25, 50 and 100 ppm concentrations. Percentage of germination, rate of germination, length of radicle and plumule, seedling length and vigor index were decreased significantly by ageing. Auxin at 25 and 100 ppm increased germination percentage of aged seeds. All of plant growth regulators at same concentration showed different effects on germination percentage. Type of plant growth regulators had no significant effect on rate of germination, but increase in concentration of plant growth regulators, significantly decreased germination rate. Seed ageing inhibited growth of radicle more than plumula ones. Radicle seems to be one of susceptible structures to ageing in seed. Auxin somewhat recovered radicle growth of aged seed. Type of plant growth regulator did not affect radicle length, but plumule growth was promoted by cytokinin and gibberellin. In spit of decreasing Root/Shoot ratio in aged seeds, ageing had no significant effect on it, however, auxin increased this ratio in both aged and non-aged seeds. R/S decreased with increase in plant growth regulator concentration: Frequency of abnormal seedlings decreased by aging but dead seeds increased.

Key words: Seed aging, *Bromus inermis*, plant growth regulators and physiological quality