

تأثیر مواد تنظیم کننده رشد گیاهی بر شکست خواب بذرهای گیاه خارمریم (*Silybum marianum* L.)معصومه نبئی^۱ M.Sc. Student، پرتو روشندل^۲ Ph.D.، عبدالرحمان محمدخانی^۳ Ph.D.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهرکرد

۲- گروه زیست‌شناسی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهرکرد

۳- گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: p_ roshandel@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۱/۱۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۵/۲۱

چکیده:

هدف: گیاه خار مریم (*Silybum marianum*) متعلق به تیره کاسنی و از گیاهان مرتعی ایران، جایگاه شناخته شده ای در طب سنتی دارد ولی بذرهای این گیاه دارای خواب می باشند. تحقیق حاضر به بررسی موثرترین تیمار هورمونی برای تحریک جوانه زنی بذرهای این گیاه می پردازد.

مواد و روش‌ها: بذرهای با غلظت‌های ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام هورمون‌های کینیتین، اکسین، اسید جیبرلیک و غلظت‌های ۰/۵ و ۱ پی پی ام ۲۴-اپی براسینولید در دو مدت زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت تیمار شدند. تیمار اسید جیبرلیک (۵۰۰ پی پی ام) توأم با پیش سرما به مدت (۵، ۱۰ و ۱۵ روز) نیز انجام شد.

نتایج: همه تیمارها به طور معنی داری جوانه زنی دانه در خار مریم را افزایش دادند طوری که موثرترین تیمار اسید جیبرلیک (۵۰۰ پی پی ام) بود که سبب افزایش جوانه‌زنی دانه‌ها تا ۷۰ درصد گردید. غلظت‌های ۱۰۰ پی پی ام کینیتین و اکسین و ۰/۵ پی پی ام ۲۴-اپی براسینولید در ۲۴ ساعت جوانه زنی بذرهای را به ترتیب ۴۰، ۳۸ و ۶۰ درصد افزایش دادند. همچنین تیمار توأم اسید جیبرلیک (۵۰۰ پی پی ام) و سرمادهی (۵ روز) نیز جوانه زنی بذرهای را تا ۶۰ درصد ارتقا بخشید.

نتیجه گیری: نتایج نشان داد که اسید جیبرلیک (۵۰۰ پی پی ام) برای شکست خواب بذر گیاه خارمریم بهترین تیمار است.

واژگان کلیدی: خارمریم، اسید جیبرلیک، اکسین، کینیتین، ۲۴-اپی براسینولید، سرمادهی

مقدمه

خارمریم (*Silybum marianum*) گیاهی دو ساله، بدون کرک، خاردار و متعلق به تیره کاسنی (Asteraceae) است. ساقه این گیاه دارای شیارهای طولی با شاخه‌های نسبتاً ضخیم است که منتهی به یک کپه سبز می‌شود. برگ‌های این گیاه، بزرگ و دارای لکه‌های سفید در اطراف رگبرگ‌هاست. گل آن صورتی-ارغوانی رنگ، مژک‌دار و خاردار است که هر یک منتهی به یک زایده وسیع و سرنیزه‌ای می‌باشد. در ایران انتشار این گیاه در مناطقی همچون گنبدکاووس، دره هراز، دشت مغان، ملاثانی اهواز، شوش، ایذه و کازرون گزارش شده است (۱). گیاه خارمریم علاوه بر جایگاه اکولوژیکی در تشکیل گستره‌هایی از پوشش گیاهی، در طب سنتی نیز از دیرباز ارزشمند بوده است. اخیراً تحقیقات جدید پزشکی افق‌های روشن و امید بخشی را در مورد خواص دارویی این گیاه آشکار کرده است. معلوم شده است. مهم‌ترین ماده بیولوژیکی فعال خارمریم به نام "سیلی بینین" همراه با دیگر فلاونوئیدهای موجود در عصاره این گیاه در درمان بیماری‌های کبدی همچون سرطان کبد موثر می‌باشد (۲) و (۳). با این حال، وجود پدیده خواب در مراحل اولیه جوانه‌زنی بذرهای این گیاه، کشت آن را به‌منظور استفاده‌های دارویی یا احیای مراتع با دشواری روبرو ساخته است. بر طبق گزارش انجمن بین المللی آزمون بذر (ISTA) (۴) خواب بذر در بیشتر گونه‌های تیره کاسنی از نوع خواب فیزیولوژیکی است که با نسبت نامناسب هورمون‌های تحریک‌کننده و بازدارنده جوانه‌زنی بذر مرتبط است. بر طبق پیشنهادهای این سازمان یکی از روش‌های فایده‌آمیز بر خواب این گیاهان، تیمار بذر با تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی می‌باشد. این ترکیبات با تأثیر بر بخش‌های مختلف بذر، بر خواب و جوانه زنی آن موثر می‌باشند. خواب رویان توسط نسبت بالای اسید آبسزیک (ABA) به جیبرلین (GA) ایجاد می‌شود، و این درحالی است که حساسیت دانه به ABA بالا و نسبت به GA پایین است. برای رهایی دانه از این نوع خواب و شروع جوانه‌زنی نیاز به تغییر در بیوسنتز هورمون‌ها و کاهش نسبت ABA/GA می‌باشد که همراه با کاهش حساسیت به ABA و افزایش حساسیت به GA رخ می‌دهد. ABA خواب رویان و GA جوانه زنی بذر را کنترل می‌کنند (۵). جیبرلین‌ها از جمله فیتوهورمون‌هایی هستند که در کنترل و تسریع جوانه‌زنی مستقیماً دخالت دارند. جیبرلین‌ها رشد سلول را با افزایش ضریب کشسانی دیواره‌ی سلول تامین می‌کنند. متعاقب آن جیبرلین باعث هیدرولیز نشاسته و تبدیل

آن به قند می‌شود. این امر باعث کاهش پتانسیل آب سلول و در نتیجه تسهیل ورود آب به درون سلول می‌شود. به دنبال این فرآیند طولی شدن سلول رخ می‌دهد. از طرف دیگر، براسینواستروئیدها (BRs) به عنوان یک گروه جدید از تنظیم‌کننده‌های رشد دارای اثرات زیستی قابل توجه بر گیاهان هستند. اخیراً تأثیر این مواد بر تحریک جوانه‌زنی بذرهای غیرخواب شناخته شده است. گزارش شده است که تیمار بذرهای تنباکو (۶)، اکالیپتوس (۷)، گندم (۸)، گل جالیز (۹) و کلزا (۱۰) با براسینواستروئیدها، باعث بهبود و افزایش درصد جوانه‌زنی آن‌ها می‌شود. معلوم شده است تیمار بذر با براسینواستروئیدها باعث جوانه‌زنی موتانت‌های آراییدوپسیس می‌شود که در مسیر سنتز جیبرلین نقص دارند (۱۱). البته براسینواستروئیدها باعث مهار اثرات منفی ABA روی جوانه‌زنی نیز می‌گردند (۱۲). با این وجود هنوز اطلاعات روشنی در مورد نقش این هورمون بر شکست خواب بذر در دست نیست.

منابع متعددی به اثر سیتوکینین‌ها (یا کینتین -Ki- به عنوان یک سیتوکینین مصنوعی) در بر طرف نمودن خواب بذر اشاره داشته‌اند (۱۳، ۱۴ و ۱۵). به عنوان مثال مشخص شده است که سیتوکینین‌ها می‌توانند عمل بازدارندگی ABA بر رویش بذر کرفس را برطرف نمایند (۱۶). سیتوکینین‌ها با تحریک سنتز DNA و RNA در دانه‌ها، رشد و تقسیم سلولی در رویان دانه را تسهیل نموده و به جوانه‌زنی کمک می‌کنند و یا با افزایش فعالیت α -آمیلاز و هیدرولیز نشاسته و یا با افزایش نفوذپذیری غشا سیتوپلاسمی و در نتیجه انتقال سریع‌تر مواد بر روی جوانه‌زنی اثرگذار هستند (۱۷).

برخی منابع تأثیر اکسین (IAA) را بر شکست خواب بذر ناچیز می‌دانند، اما عده‌ای از محققان معتقدند اکسین نیز می‌تواند در تحریک جوانه‌زنی بذر نقش داشته باشد (۱۸ و ۱۹). به نظر می‌رسد اکسین نقش مهم‌تر را در رویان زایی ایفا نماید. اکسین بیان کاتالاز را در اسکوتلوم دانه‌های ذرت جوانه زده تنظیم می‌کند (۲۰). وابستگی بین اکسین، خواب دانه و جوانه‌زنی در گیاه گندم نیز گزارش شده است (۲۱). به صورتی که افزایش اکسین آزاد قبل از شروع رشد ریشه بوده و همزمان با شروع تورم و طی جذب آب می‌باشد. گزارش شده است که اکسین طی جوانه زنی دانه‌های گیاه کاج اسکاتلندی از جایگاه‌های ذخیره‌ای خود آزاد می‌گردد (۲۲).

در تحقیق حاضر تحریک جوانه زنی بذرهای گیاه خارمریم از

طریق تأثیر مواد تنظیم کننده رشد بر شکست خواب آن‌ها بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

بذر گیاه خارمریم (*Silybum marianum* L.) از شرکت پاکان بذر خریداری شد. پس از جدا کردن بذرهای یکسان از نظر اندازه، بذرها با سدیم هیپوکلریت ۱۰ درصد (برای مدت زمان ۱۰ دقیقه) 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 خارمریم در شرایط ذکر شده (که اکثر بذرها در آن جوانه می‌زنند) قادر به جوانه‌زنی نیستند (بیش از ۹۸ درصد بذرهای مذکور در این شرایط جوانه نزدند) و به عبارت دیگر این بذرها در مرحله خواب به سر می‌برند. در این تحقیق به منظور افزایش جوانه‌زنی بذرهای تناوب نوری و دمایی (۸ ساعت نور و دمای 27 ± 16 درجه سانتی‌گراد ساعت تاریکی و دمای 21 ± 1 درجه سانتی‌گراد) نیز رعایت گردید. برای ایجاد شرایط مربوط به تاریکی از دستگاه انکوباتور و برای ۸ ساعت روشنایی ظروف پتری در محیط آزمایشگاه و در مجاورت نور خورشید قرار داده شدند. در این سری آزمایش‌ها طبق جدول ۱ تیمارها اعمال

گردید. تیمارهای هورمونی بدین ترتیب اجرا شدند: پس از توزین مقادیر مورد نیاز از هورمون‌ها با ترازوی حساس (± 0.01) و سپس حل نمودن آن‌ها به‌طور جداگانه در چند قطره اتیل الکل (۱۰ درصد) (برای هورمون‌های اسید جیبرلیک، اکسین و ۲۴-اپی براسینولید)، و سود ۰/۱ نرمال (برای هورمون کینیتین)، با کمک آب مقطر استریل غلظت‌های مورد نظر تهیه شد. سپس بذرهای ضدعفونی شده به‌طور جداگانه و در زمان‌های مجزای ۲۴ و ۴۸ ساعت و در انکوباتور (21 ± 1 درجه سانتی‌گراد) تحت تیمارهای هورمونی با غلظت‌های فوق‌الذکر قرار گرفتند. پس از طی شدن این زمان‌ها، بذرها به تعداد ۳۰ عدد در ظروف پتری استریل و در سه تکرار (برای هر تیمار) چیده شدند. در آزمایش دیگر اثر تلفیقی سرمادهی مرطوب (در دمای ۲ درجه سانتی‌گراد) و اسید جیبرلیک (با غلظت ۵۰۰ پی پی ام - این غلظت بهترین اثر را بر جوانه زنی بذرهای گیاه خارمریم داشت) در سه زمان مختلف (۵، ۱۰ و ۱۵ روز) در سه تکرار بررسی شد. در این آزمایش بذرهای ضدعفونی شده درون پلیت مرطوب شده با اسید جیبرلیک در کیسه نایلون در دمای ۲ درجه سانتی‌گراد درون یخچال قرار داده شدند. بعد از طی شدن مدت زمان‌های مذکور، بذرها به ظروف پتری حاوی کاغذ صافی مرطوب (واتمن ۴۲) منتقل شدند.

جدول ۱: تیمارهای اعمال شده (در غلظت‌ها و زمان‌های معین)

تیمار	غلظت‌های مورد استفاده	زمان اعمال تیمار
اسید جیبرلیک	۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام	۲۴ و ۴۸ ساعت
کینیتین	۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام	۲۴ و ۴۸ ساعت
اکسین	۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام	۲۴ و ۴۸ ساعت
۲۴-اپی براسینواستروئید	۰/۵ و ۱ پی پی ام	۲۴ و ۴۸ ساعت
تیمار تلفیقی اسید جیبرلیک و سرمادهی	۵۰۰ پی پی ام	۵، ۱۰ و ۱۵ روز

نخستین شمارش جوانه‌زنی در سومین روز و آخرین شمارش ۲۴ روز پس از اعمال تیمارها انجام گرفت. بذرهایی که ریشه‌چه آن‌ها قابل رویت بود (یعنی طولی در حدود ۲ میلی متر داشت)، به عنوان بذر جوانه زده شمارش و نتایج یادداشت شد. سپس با استفاده از دو فرمول زیر به ترتیب درصد و سرعت جوانه‌زنی محاسبه گردید (۲۳):

$$100 \times (\text{تعداد کل بذرها} / \text{تعداد بذر جوانه‌زده}) = \text{درصد جوانه‌زنی}$$

$$(\text{روز } n / \text{تعداد بذر جوانه‌زده در روز } n) = \sum (\text{سرعت جوانه‌زنی})$$

علاوه بر این، مطالعات مورفولوژی (اندازه‌گیری محور زیر لپه و طول ریشه‌چه) نیز روی بذرها صورت گرفت. برای محاسبه طول ریشه‌چه و محور زیر لپه از دانه رسته‌هایی که لپه آن‌ها از پوسته دانه خارج شده بود استفاده شد (این اندازه‌گیری با خط‌کش میلی‌متری انجام گرفت). در هر تکرار میانگین طول ریشه‌چه و محور زیر لپه محاسبه و بر اساس واحد میلی‌متر یادداشت شد و تجزیه و تحلیل آماری بر اساس طرح کامل تصادفی صورت گرفت. تجزیه و تحلیل‌های آماری بر اساس آزمون فاکتوریل و طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت. برای ارزیابی پیش تیمارهای

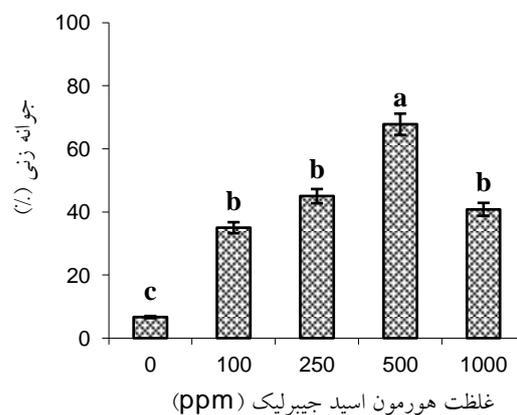
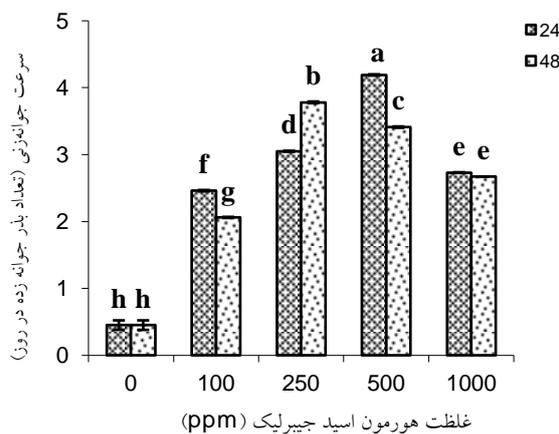
اختلاف کاملاً معنی دار وجود دارد ($P < 0.01$)، اگرچه استفاده هورمون در دو سطح زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت تفاوت معنی داری نشان نداد. همان طور که در شکل ۱ مشاهده می شود تمامی غلظت های مورد استفاده هورمون اسید جیبرلیک اثری مثبت بر جوانه زنی بذرهای این گیاه داشتند. در تمامی غلظت ها از ۱۰۰ تا ۵۰۰ پی پی ام مرتباً بر درصد جوانه زنی بذرهای مذکور افزوده شد، به طوری که در غلظت ۵۰۰ پی پی ام بهترین نتیجه یعنی ۷۰ درصد جوانه زنی به دست آمد. مطابق شکل ۱ بیشترین سرعت جوانه زنی نیز برای همین غلظت به دست آمده است (۴ عدد بذر جوانه زده در روز). اما در غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام تا اندازه زیادی از درصد و سرعت جوانه زنی کاسته شد و بیشترین طول ریشه چه (۳۸/۴ میلی متر) و بیشترین طول ساقه چه (۸/۶ میلی متر) در نمونه شاهد مشاهده شد.

مورد استفاده در این تحقیق روی پارامترهای اندازه گیری شده (درصد و سرعت جوانه زنی)، همه داده های به دست آمده با استفاده از نرم افزار Excel و SAS تحت آنالیز ANOVA قرار گرفتند و اختلاف میانگین ها با روش LSD ($P < 0.01$) و مقایسه شدند ($P < 0.05$).

نتایج

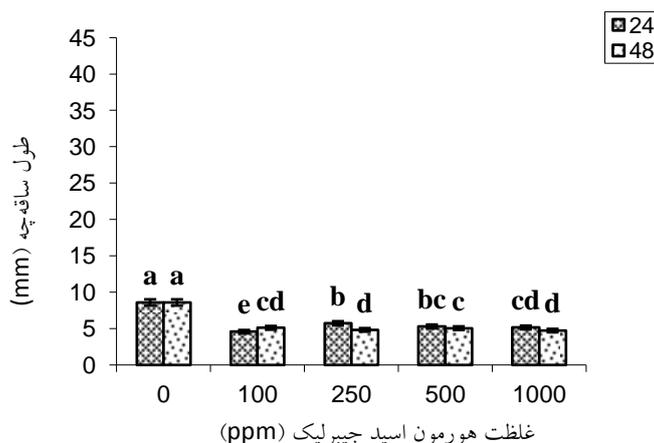
تیمار اسید جیبرلیک

نتایج تاثیر متقابل غلظت های مختلف هورمون اسید جیبرلیک (۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام) و مدت زمان فرو بردن در هورمون (۲۴ و ۴۸ ساعت) بر بذرهای گیاه خارمریم مشخص کرد که برای صفات مورد ارزیابی (درصد و سرعت جوانه زنی، طول ساقه چه و ریشه چه)، بین تیمارهای هورمونی



ب

الف



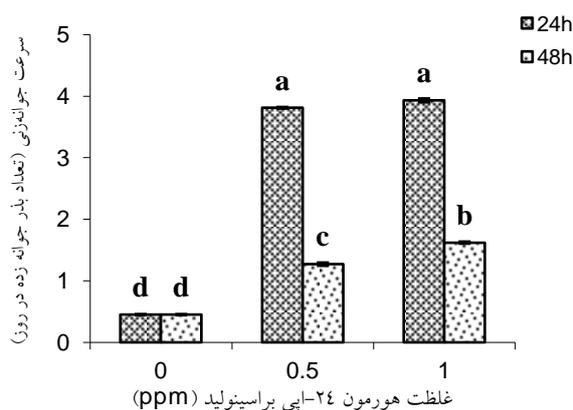
ج

شکل ۱: اثر متقابل غلظت های هورمون اسید جیبرلیک و زمان (۲۴ و ۴۸ ساعت) بر الف) درصد جوانه زنی، ب) سرعت جوانه زنی و ج) طول ساقه چه در بذرهای خارمریم (*Silybum marianum*). حروف غیر یکسان بر روی ستون ها مبین وجود تفاوت معنی دار در سطح ۵ درصد آزمون LSD است. بار عمودی: میانگین سه تکرار \pm خطای معیار.

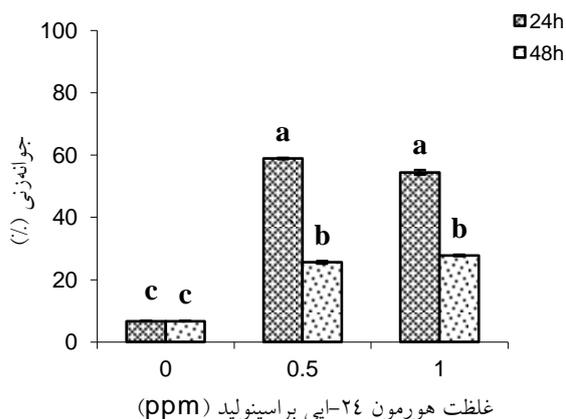
تیمار ۲۴-آپی براسینولید

بررسی تأثیر هورمون ۲۴-آپی براسینولید (در سه غلظت ۰، ۰/۵ و ۱ پی پی ام)، بر گیاه خارمریم نشان داد که اثر متقابل غلظت هورمون و مدت زمان فرو بردن در هورمون (۲۴ و ۴۸ ساعت) بر روی درصد و سرعت جوانه زنی و طول ساقه چه و ریشه چه کاملاً معنی دار است ($P < 0/01$). بیشترین درصد جوانه زنی (۶۰ درصد) در تیمار با این هورمون، در غلظت ۰/۵ پی پی ام و مدت زمان ۲۴ ساعت مشاهده شد (شکل ۲). با افزایش غلظت از ۰/۵ به ۱

پی پی ام از این هورمون تفاوت معنی داری در درصد و سرعت جوانه زنی حاصل نشد، اما تغییر مدت زمان تیمار از ۲۴ به ۴۸ ساعت به طور همسان برای هر دو غلظت یاد شده باعث کاهش چشمگیری (تقریباً تا نصف) در درصد و سرعت جوانه زنی شد. با این وجود بیشترین سرعت جوانه زنی (۴ عدد بذر جوانه زده در روز) مربوط به غلظت ۱ پی پی ام هورمون مذکور و مدت زمان ۲۴ ساعت بود (شکل ۲).



ب



الف

شکل ۲: اثر متقابل غلظت‌های هورمون ۲۴-آپی براسینولید و زمان (۲۴ و ۴۸ ساعت) بر (الف) درصد جوانه زنی، (ب) سرعت جوانه زنی بذرهای خارمریم (*Silybum marianum*). حروف غیر یکسان بر روی ستون‌ها مبین وجود تفاوت معنی دار در سطح ۵ درصد آزمون *LSD* است. بار عمودی: میانگین سه تکرار ± خطای معیار

تیمار تلفیقی سرمادهی و اسید جیبرلیک

طبق نتایج به دست آمده از اثر تلفیقی سرمادهی (۲ درجه سانتی‌گراد) و اسید جیبرلیک (۵۰۰ پی پی ام) در مدت زمان‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ روز بر بذرهای خواب گیاه خار مریم مشخص شد که تأثیر این تیمار بر درصد و سرعت جوانه زنی کاملاً معنی دار است ($P < 0/01$). اما بر پارامترهای طول ریشه چه و ساقه چه اثر معنی داری نداشت. از بین تمام تیمارهای این سری، بهترین نتیجه مربوط به سطح زمانی ۵ روز بود که باعث افزایش جوانه زنی به میزان ۶۰ درصد شد (شکل ۳). بالاترین میزان سرعت جوانه زنی یعنی ۳/۲ عدد بذر جوانه زده در روز نیز مربوط به همین تیمار بود (شکل ۳).

تیمار کینیتین

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که اثر هورمون کینیتین (در دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت) بر درصد و سرعت جوانه زنی و طول ساقه چه کاملاً معنی دار است ($P < 0/01$). با این وجود، از بین تمام

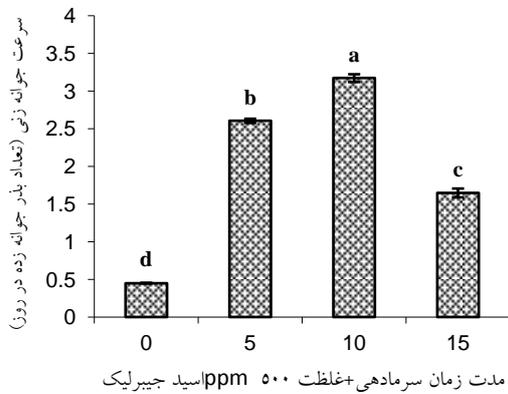
غلظت‌های به کار رفته کینیتین (۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام) تنها غلظت ۱۰۰ پی پی ام آن (و تیمار ۲۴ ساعته) بود که بیشترین درصد (۴۰ درصد) و سرعت جوانه زنی (۲/۵ عدد بذر جوانه زده در روز) را باعث شد (شکل ۴). برای تمامی غلظت‌ها تیمار ۲۴ ساعت بسیار موثرتر از تیمار ۴۸ ساعت بود. و بیشترین طول ساقه چه نیز برای تیمار شاهد مشاهده گردید (۸/۶ میلی‌متر).

تیمار اکسین

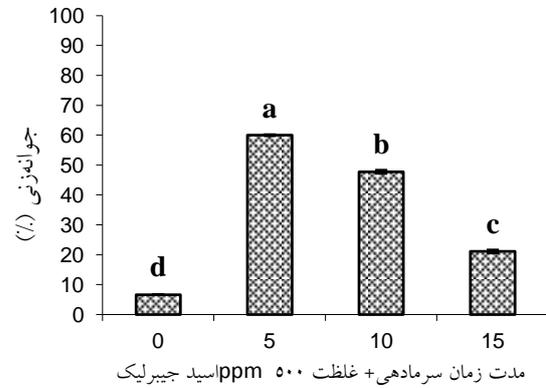
نتایج مربوط به اثر هورمون اکسین در غلظت‌های ۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام (در دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت) بر گیاه خارمریم نشان داد که تأثیر این هورمون نیز بر درصد و سرعت جوانه زنی معنی دار است ($P < 0/01$). اما بر دو پارامتر دیگر (طول ساقه چه و ریشه چه) معنی دار نبود. همان‌طور که در شکل ۵ مشخص است بیشترین درصد جوانه زنی (۳۸ درصد) و سرعت جوانه زنی (۲/۴ عدد بذر جوانه زده در روز) در اثر تیمار با غلظت

تیمارهای ۴۸ ساعته نشان داد.

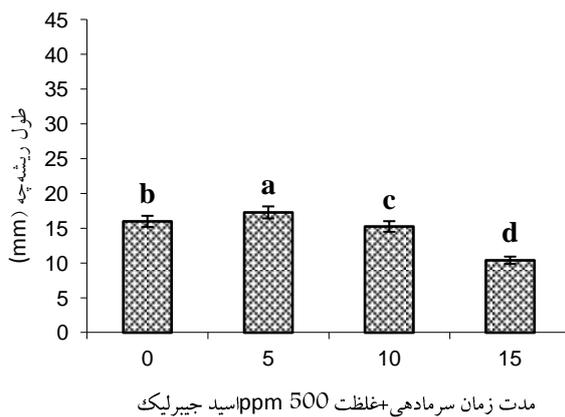
۱۰۰ پی پی ام و در مدت زمان ۲۴ ساعت رخ داد. برای تمامی غلظت‌ها، سطح زمانی ۲۴ ساعت نتیجه بسیار بهتری نسبت به



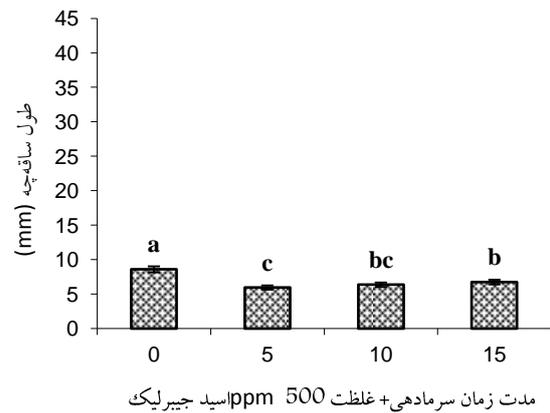
ب



الف

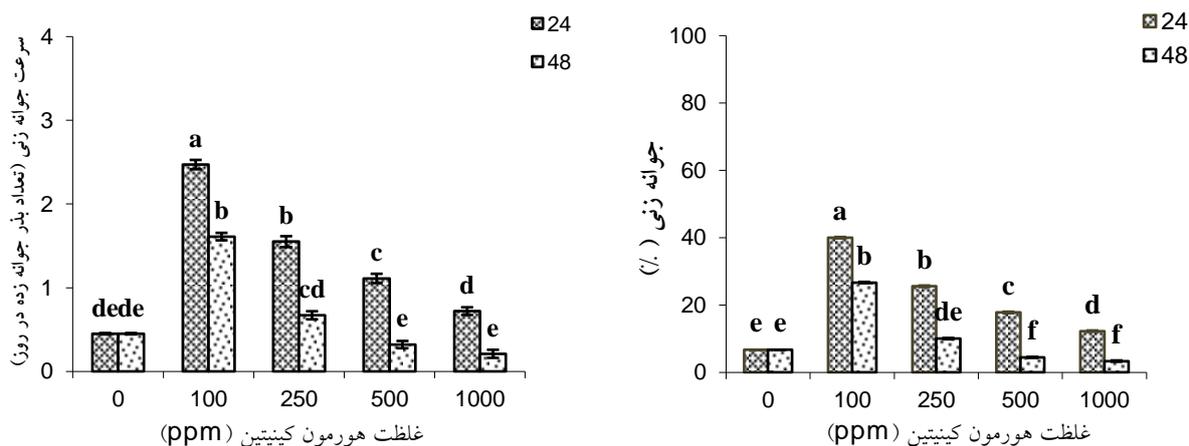


د



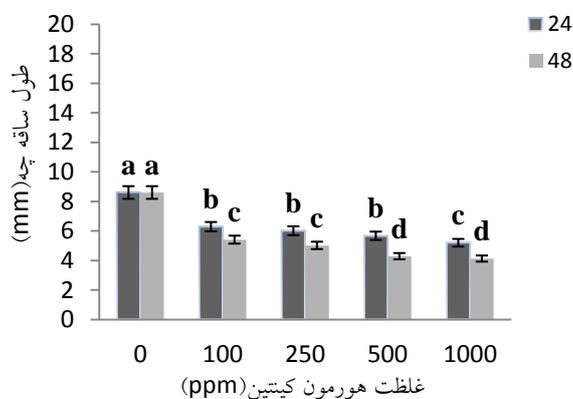
ج

شکل ۳- اثر تلفیقی سرمادهی (۲ درجه سانتی‌گراد) و اسید جیبرلیک (۵۰۰ پی پی ام) (در سطوح زمانی ۵، ۱۰ و ۱۵ روز) بر الف) درصد جوانه زنی، ب) سرعت جوانه زنی، ج) طول ساقه چه و د) ریشه چه بذرهای خار مریم (*Silybum marianum*). حروف غیر یکسان بر روی ستون‌ها مبین وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد آزمون LSD است. بار عمودی: میانگین سه تکرار \pm خطای معیار.



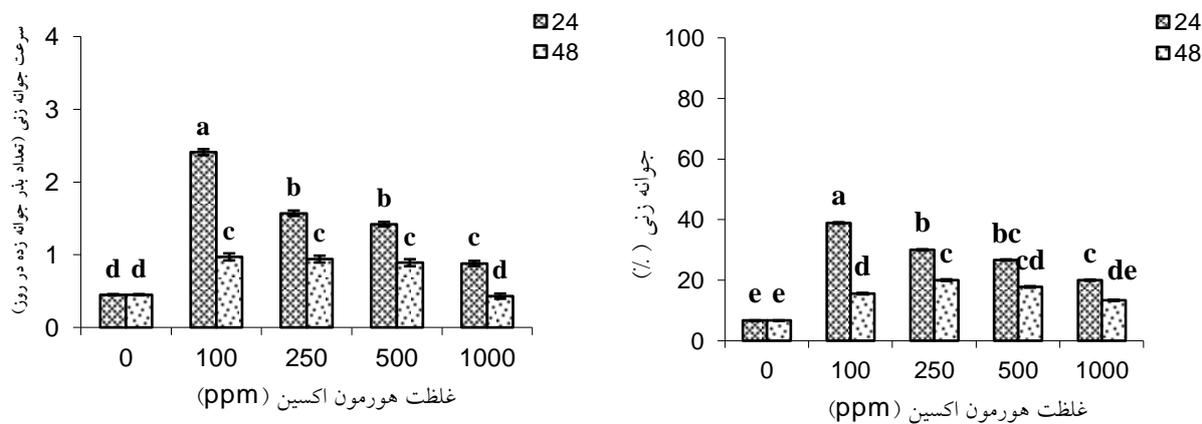
ب

الف



ج

شکل ۴: اثر متقابل غلظت‌های هورمون کینیتین و زمان بر الف) درصد جوانه زنی، ب) سرعت جوانه زنی و ج) طول ساقه‌چه بذرهای خارمریم (*Silybum marianum*) حروف غیر یکسان بر روی ستون‌ها مبین وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد آزمون *LSD* است. بار عمودی: میانگین سه تکرار \pm خطای معیار.



ب

الف

شکل ۵: اثر متقابل غلظت‌های هورمون اکسین و زمان بر الف) درصد جوانه زنی و ب) سرعت جوانه‌زنی بذرهای خارمریم (*Silybum marianum*) حروف غیر یکسان بر روی ستون‌ها مبین وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد آزمون *LSD* است. بار عمودی: میانگین سه تکرار \pm خطای معیار.

بحث

گیاه خار مریم متعلق به خانواده آستراسه (کاسنی) است. نتایج آزمایشاتی که به منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف تنظیم کننده های رشد گیاهی نظیر اسید جیبرلیک، کینیتین و اکسین (۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام) و دو غلظت هورمون ۲۴-اپی براسینولید (۵/۰ و ۱ پی پی ام) - همگی در دو سطح زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت و نیز اثر تلفیقی سرمادهی مرطوب (در دمای ۲ درجه سانتی گراد) و اسید جیبرلیک با غلظت ۵۰۰ پی پی ام در سه زمان مختلف (۶، ۱۱ و ۱۶ روز) بر روی شکست خواب و جوانه زنی بذرهای خار مریم انجام گرفت نشان داد که از بین تیمارهای یاد شده تیمار اسید جیبرلیک بهترین روش برای شکست خواب این گونه گیاهی است، به طوری که بیشترین درصد جوانه زنی (۷۰ درصد) در اثر تیمار اسید جیبرلیک با غلظت ۵۰۰ پی پی ام به دست آمد. این یافته موافق با گزارشات (ISTA) (۴) مبنی بر وجود خواب فیزیولوژیک در گیاهان تیره کاسنی می باشد. علاوه بر این، گزارش شده است که تیمار اسید جیبرلیک با غلظت ۵۰۰ پی پی ام بیشترین اثر مثبت را بر شکستن خواب و جوانه زنی بذر گونه های آویشن دناپی (۲۴)، پنج جمعیت مختلف بومادران (*Achillea millefolium*) (۲۵) و دو گونه دارویی باریجه (*Ferula gummosa*) و مریم نخودی (*Teucrium polium*) (۲۶) داشته است. این نتایج با نتایج حاصله از تحقیق حاضر مطابقت دارند. یکی از دلایل اثر مثبت محرک های شیمیایی مانند اسید جیبرلیک بر جوانه زنی احتمالاً مربوط به تعادل رسیدن نسبت هورمونی در بذر و کاهش مواد بازدارنده های رشد مانند ABA می باشد. به عبارت دیگر اسید جیبرلیک به عنوان یک محرک شیمیایی می تواند سبب شکستن خواب فیزیولوژیک بذر شود. اسید جیبرلیک از طریق القا بیوسنتز آنزیم آلفا آمیلاز باعث شروع جوانه زنی و در نتیجه شکست خواب بذر گیاهان می شود. در دانه در حال جوانه زنی، اسید جیبرلیک توسط رویان ساخته می شود و از رویان به اسکوتلوم می رود و سپس به درون اندوسپرم منتشر می شود تا به لایه آلرون برسد. در آنجا اسید جیبرلیک باعث آزاد شدن آنزیم های هیدرولیتیک، از جمله α -آمیلاز می شود که متعاقباً این آنزیم ها باعث شکسته شدن نشاسته به الیگوساکاریدها می شوند. پس از آن الیگوساکاریدها طی مراحل به گلوکز شکسته می شوند. این امر باعث کاهش پتانسیل آب سلول و در نتیجه تسهیل ورود آب به درون سلول می شود. به دنبال این فرآیند طولی شدن سلول رخ می دهد.

همچنین نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که تیمار هورمونی ۲۴-اپی براسینولید با غلظت ۵/۰ پی پی ام برای شکست خواب بذر گیاه خارمریم موثر است (افزایش درصد جوانه زنی تا ۶۰ درصد). با بررسی پژوهش های انجام شده می توان 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 مواد بر تحریک جوانه زنی دانه های غیر خواب وجود دارد. از این میان می توان به نتایج آزمایشات استبر و مکورت (۱۱) اشاره کرد. آن ها هنگام مطالعه بر روی گیاه آرابیدوپسیس دریافتند که هورمون ۲۴-اپی براسینولید می تواند نقشی مشابه با جیبرلین در افزایش جوانه زنی بذر داشته باشد و احتمالاً کاهش بیوسنتز و حساسیت به اسید آبسزیک یا افزایش بیوسنتز و حساسیت به جیبرلین، دلیل افزایش جوانه زنی بذرهای خیسانده شده در محلول حاوی ۲۴-اپی براسینولید است. همچنین ممکن است تحریک جوانه زنی توسط براسینواستروئیدها به علت تحریک هیپوکوتیل و نمو رویان باشد. نتایج مشابهی در گیاهانی مانند گندم، برنج، کلزا، بادام زمینی و اکالیپتوس به دست آمده است (۷). براسینواستروئیدها می توانند باعث افزایش تجزیه اندوسپرم بذرهای تنباکو (که آب جذب کرده اند) در نور شوند و آغازگر جوانه زنی و طولی شدن دانه رست باشند. به عبارت دیگر براسینواستروئیدها و جیبرلین ها (هر دو گروه) می توانند تأثیر ABA را در دانه های خواب بی نیاز از نور تحت شرایط تاریکی، مهار کنند (۵). اگر چه هنوز مکانسیم عمل هورمون ۲۴-اپی براسینولید به خوبی شناسایی نشده است، ولی احتمال می رود BRS و GAS به وسیله مسیرهای انتقال پیام نزدیک به هم و مکانسیم های مشابه، آغاز کننده جوانه زنی در گیاهان باشند. در تحقیق حاضر تأثیر هورمون ۲۴-اپی براسینولید بر شکست خواب و تحریک جوانه زنی بذرهای خارمریم (تا ۶۰ درصد) نزدیک به تأثیر اسید جیبرلیک بود (۷۰ درصد) که به طور سنتی از هورمون های موثر بر شکست خواب و تحریک جوانه زنی بذر محسوب می شود. با این وجود و با توجه به نتایج به دست آمده از آزمایشات حاضر، پیشنهاد می شود غلظت های بسیار رقیقتر از هورمون ۲۴-اپی براسینولید همراه با مدت کوتاهتر تیمار نیز برای کسب نتایج مطلوب تر مورد آزمایش قرار گیرد. با مروری بر تحقیقات انجام شده در مورد تأثیر هورمون ۲۴-اپی براسینولید بر شکست خواب بذر، می توان اذعان کرد که تحقیق حاضر می تواند به عنوان جزئی از اولین گزارشات

مربوط به تأثیر هورمون ۲۴-آبی براسینولید بر شکست خواب بذر تلقی شود.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که کینتین (۱۰۰ پی پی ام به مدت ۲۴ ساعت) نیز باعث افزایش درصد جوانه زنی (تا ۴۰ درصد) بذرهای خواب خارمریم می شود. کینتین باعث افزایش فعالیت α -آمیلاز و در نتیجه هیدرولیز نشاسته می شود (۲۶) و این فرآیند لازمه جوانه زنی است. علاوه بر این، ممکن است سیتوکینین ها نفوذپذیری غشا سیتوپلاسمی (۱۶) و انتقال مواد از غشا را تحت تاثیر قرار دهند. بنابراین به نظر می رسد که رفع خواب بذرها توسط کینتین احتمالاً با افزایش نفوذپذیری غشا و تبدلات مواد ذخیره ای مرتبط باشد. همچنین سیتوکینین ها با تحریک سنتز DNA و RNA فرآیند تقسیم سلولی در رویان را افزایش واز این طریق جوانه زنی بذر را تسهیل می کنند (۲۷). به این ترتیب سیتوکینین ها برای تکمیل القای جوانه زنی توسط GA لازم و به طور غیر مستقیم موجب کاهش اثرات مواد بازدارنده رشد (مانند ABA) می شوند. از آنجایی که در تحقیق حاضر کینتین در کمترین غلظت خود (۱۰۰ پی پی ام) بهترین نتیجه را بر شکست خواب بذر خارمریم نشان داد و با افزایش غلظت آن مرتباً از درصد جوانه زنی کاسته شد لذا پیشنهاد می شود در آزمایش های آتی غلظت های کمتر از پی پی ام ۱۰۰ این هورمون بر بذرهای مذکور آزمایش شود. علاوه بر این، افزایش مدت تیمار از ۲۴ به ۴۸ ساعت -در تمامی غلظت های به کار رفته ی کینتین بر شکست خواب بذر تاثیر چندانی دربر نداشت. براین اساس، مطلوب است در آزمایش های آینده همگام با بکارگیری غلظت های کمتر این هورمون، تیمارهای زمانی کمتر از ۲۴ ساعت نیز امتحان شود.

نتیجه آزمایش های حاضر که به منظور بررسی تاثیر هورمون اکسین بر شکست خواب بذرهای خارمریم انجام گرفت نشان داد که این هورمون نیز اثری مثبت بر شکست خواب این گونه گیاهی دارد (افزایش ۳۸ درصدی جوانه زنی در غلظت ۱۰۰ پی پی ام به مدت ۲۴ ساعت). گزارشات زیادی مبنی بر اثر مثبت هورمون اکسین بر افزایش درصد جوانه زنی وجود دارد که با نتیجه حاصل از این تحقیق همسو است (۱۸ و ۱۹). مشخص شده است که اکسین ها در تحریک جوانه زنی نقش دارند. این دسته از هورمون ها با کمک به طویل شدن کلئوپتیل و کلئوریز (در گندمیان) و نیز با فعال نمودن زمین گرایبی و نورگرایبی رشد رویان و نهایتاً جوانه زنی را تنظیم می کنند. در تحقیق حاضر نیز

از آنجایی که بهترین نتیجه در کمترین غلظت اکسین و کمترین مدت زمان تیمار به دست آمده است، بنابراین به جاست در آزمایشات آینده هنگام استفاده از این هورمون برای بذرهای مذکور، از غلظت های کمتر و تیمارهای زمانی کمتر از ۲۴ ساعت نیز برای به دست آوردن نتیجه قابل قبولتر استفاده شود.

نتیجه گیری

به طور کلی بر اساس نتایج کسب شده در پژوهش حاضر اسید جیبرلیک با غلظت پی پی ام ۵۰۰ به عنوان بهترین تیمار هورمونی برای شکست خواب بذرهای گیاه خارمریم پیشنهاد می شود.

تشکر و قدردانی

از مسئولین محترم دانشکده علوم دانشگاه شهرکرد که در تامین منابع مالی مورد نیاز انجام این پایان نامه دانشجویی مساعدت کافی را داشته اند، تقدیر و تشکر می گردد.

منابع

- Gahreman A. [Flora of Iran in natural colors]. Research Institute of Forests and Rangelands Publications. 1983; 9: 1095. persian
- Saller R, Brignoli R, Melzer J, Meier R. An updated systematic review with meta-analysis for the clinical evidence of silymarin. *Forschende Komplementarmedizin*. 2008; 15(1): 9-20.
- Lah JJ, Cui W, Hu KQ. Effects and mechanisms of silibinin on human hepatoma cell lines. *World J. Gastroenterol*. 2007; 13(40): 5299-5305.
- ISTA. International rules for seed testing. *Seed Science and Technology*. 1996; 13: 299-513.
- Nicolas C, Nicolas G, Rodriguez D. Antagonistic effects on abscisic acid and gibberellic acid on the breaking of dormancy of *Fagus sylvatica* seeds. *Physiol. Plant*. 1996; 96: 244-250.
- Leubner-Metzger G. Brassinosteroids and gibberellins promote tobacco seed germination by distinct pathway. *Planta*. 2001; 213: 758-763.
- Ram RS, Vidya VB, Sujatha E, Anuradha S. Brassinosteroids- A new class of phytohormones. Department of Botany, Osmania University Hyderabad. 2002; 82: 1239-1245.
- Sairam RK, Shukla DS, Deshmuk PS. A role of brassinosteroids in germination of Wheat. *Indian J. Plant Physiol*. 1996; 1:141-144.

9. Takeuchi Y, Omigava Y, Yonegama K, Konnai M. Effects of brassinolide on germination of *Orabanchae minor* seeds. *Physiologia Plantarum*. 1995; 16: 153-160.
10. Chang JW, Cai DT. *Oil crop*. China. 1998; 4: 18-22.
11. Steber CM, McCourt P. A role for brassinosteroids in germination in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*. 2001; 125(2): 763-769.
12. Birgit K, Alan Cohn M, Leubner-Metzger G. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. *Seed Science Research*. 2005; 15: 281-307.
13. Aberlenc-Bertossi F. BA enhances the germination of oil palm somatic embryos derived from embryogenic suspension cultures. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 1999; 56: 53-57.
14. Parks CA, Boyle TH. Germination of *Liatris spicata* (L.) wild, seed is enhanced by stratification, benzyladenine, or thiourea but not gibberellic acid. *Horticultural Science*. 2002; 37: 202-205.
15. Naidu CV, Rajendrudu G. Influence of kinetin and nitrogenous salts on seed germination of red sanders (*Pterocarpus santalinus*). *Seed Science and Technology*. 2001; 29(3): 669-672.
16. Thomas TH, Palevitch D, Biddington NL, Austin RB. Growth regulation and the phytochrome-mediated dormancy of celery seeds. *Physiologia Plantarum*. 1975; 35: 101-106.
17. Li M, Leung WM. Starch accumulation is associated with adventitious root formation in hypocotyls cutting of *Pinus radiate*. *Journal of Plant Growth Regulation*. 2000; 19: 423-42.
18. Bialek K, Michalczyk L, Cohen JD. Auxin biosynthesis during seed germination in *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiology*. 1992; 100: 509-517.
19. Singh V. Influence of indole acetic acid (IAA) and indole butyric acid (IBA) on seed germination of spruce. *The Indian Forester*. 1990; 116(6): 450-455.
20. Guan LQM, Scandalios JG. Catalase gene expression in response to auxin-mediated developmental signals. *Physiologia Plantarum*. 2002; 114(2): 288-295.
21. Ramaih S, Guedira M, Paulsen GM. Relationship of indole acetic acid and tryptophan to dormancy and pre-harvest sprouting of wheat. *Functional Plant Biology*. 2003; 30: 939-945.
22. Ljung K, Östlin A, Lioussanne L, Sandberg G. Developmental regulation of indole-3-acetic acid turnover in scots pine seedlings. *Plant Physiology*. 2001; 125(1): 464-475.
23. Alizadeh MA, Eisvand HR. [Germination percentage and rate and index vigour of two medicinal plants *Eruca sativa* L. and *Anthemis altissima* L. upon cold and drying storage, in persian]. *Iranian Journal of Medical and Aromatic Plants*. 2004; 20(3): 301-307.
24. Ghasemi-pierbalooti A, Golparvar AR, Riyahi M, Navid A. [Effects of different treatments on breaking seed dormancy in five medicinal plants of Charmahal-va-Bachtiari province]. *Research and Construction*. 2005; 185. persian
25. Shariati M, Tahmaseb A, Modares M. [Effects of different treatments on breaking seed dormancy in *Achillea millefoliu*]. *Iranian Journal of Rangelands Forests Plant Breeding and Genetic Research*. 2001; 15: 2-8. persian
26. Nadjafi F, Bannayan M, Tabrizi L, Rastgoo M. Seed germination and dormancy breaking techniques for *Ferula gammosa* and *Teucrium polium*. *Journal of Arid Environments*. 2006; 64: 542-547.
27. Yakimova E, Kapchina V, Groshkoff I, Ivanova G. Effects of BA and CPPU on protease and α -amylase activity of in vitro cultured explants of *Rosa hybrida* L. *Bulg. J. Plnt. Physiol*. 2000; 26(1-2): 9-47.

The effects of Plant Growth Regulators on Breaking Seed Dormancy in *Silybum marianum* L.

Naba'ee M. Ph.D.¹, Roshandel P. Ph.D.^{2*}, Mohammad Khani A. Ph.D.³

1. Postgraduate student, Biology Department, Faculty of Sciences, Shahrekord University

2. Biology Department, Faculty of Sciences, Shahrekord University

3. Horticulture Department, Faculty of Agriculture, Shahrekord University

* Email corresponding author: p_roshandel@yahoo.com

Received: 11 Agu. 2012

Accepted: 5 Feb. 2013

Abstract

Aim: Milk thistle (*Silybum marianum* L.), belonging to Asteraceae as an Iranian native-landscape plant, has a well-known position in traditional medicine. But, its seeds are dormant. The current study investigated the most efficient hormonal treatment to break the species dormancy.

Material and Methods: The seeds were treated using gibberellic acid, kinetin and auxin (100, 250, 500 and 1000 ppm) –and 24-epibrassinolid (0.5 and 1 ppm) for 24 and 48 h. Also, a combined treatment of gibberellic acid (500 ppm) and pre-chilling (for 5, 10 and 15 d) was accomplished.

Results: All treatments significantly increased seed germination in milk thistle; though the most effective treatment was gibberellic acid (500 ppm) which caused 70% increasing in seed germination. Kinetin and auxin (100 ppm) and 24-epibrassinolid (0.5 ppm), in 24 h respectively increased seed germination about, 40%, 38% and 60%. Also combination of gibberellic acid (500 ppm) and chilling (5d) treatment increased seed germinating 60%.

Conclusion: Results showed gibberellic acid (500 ppm) is the best treatment for breaking of *Silybum marianum* seed dormancy.

Key words: *Silybum marianum*, Gibberellic acid, Auxin, Kinetin, 24-epibrassinolid, Chilling