اثر عصاره آبی‌دود گیاهی بابونه و اسید جیبرلیک بر شکستن خواب بذر و بهبود صفات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه کلزا (*Brassica napus* L.) در شرایط درون شیشه‌ای

Effects of Plant-Derived Smoke and Gibberellic Acid on Seed Dormancy Breaking, Seed Germination Traits and Seedling Growth of Rapeseed (*Brassica napus* L.) Under *in Vitro* Condition

پوریا غضنفری[۱]، محمدرضا عبداللهی[۲*]، احمد معینی[۳] و سید سعید موسوی[۲]

تاریخ دریافت:۹۱/۳/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۱/۶/۵

چکیده

در این تحقیق اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی دود گیاهی بابونه به تنهایی یا در ترکیب با اسید جیبرلیک بر روی شکستن خواب بذر و همچنین بهبود جوانه‌زنی و رشد گیاهچه، در دو رقم کلزای بهاره(Topas و PF_{704}) در شرایط درون شیشه‌ی بررسی گردید. در آزمایش اول بذور خیسانده شده دو رقم کلزا با غلظت‌های مختلف عصاره آبی دود (۰/۰۰۰۵، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۲، ۰/۰۰۴، ۰/۰۱، ۰/۱ (v/v)) و شاهد آب مقطر به صورت یک آزمایش فاکتوریل ۷×۲ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار بررسی شدند. در آزمایش دوم استفاده از غلظت‌های مختلف عصاره آبی‌دود (۰/۰۰۱، ۰/۰۰۲، ۰/۰۰۴ و۰/۰۱ (v/v)) و شاهد (عدم استفاده از دود گیاهی) در محیط باززایی B_5 در ترکیب با سطوح مختلف اسید جیبرلیک (۰، ۰/۱۰، ۰/۱۵ و ۰/۲۰ میلی‌گرم در لیتر) به‌صورت آزمایش فاکتوریل (۵×۴) در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با ۳ تکرار برای هر رقم بررسی شد. در آزمایش اول، غلظت ۰/۱ (v/v) عصاره آبی دود بیشترین تأثیر را بر روی درصد جوانه‌زنی بذور القاء شده برای خواب ثانویه و طول ساقه‌چه در هردو رقم و بیشترین طول ریشه‌چه را در رقم Topas ایجاد کرد. استفاده توآم غلظت‌های ۰/۱۵ و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر اسید جیبرلیک با غلظت ۰/۱ (v/v) عصاره آبی دود در رقم Topas و کاربرد غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۱۵ میلی‌گرم در لیتر اسید جیبرلیک با تمام غلظت‌های عصاره آبی دود در رقم PF_{704} بیشترین درصد جوانه زنی بذر را نشان داد. در هر دو رقم دو غلظت عصاره دودی ۰/۰۰۴ و ۰/۰۱ (v/v) در محیط کشت حاوی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر اسید جیبرلیک بیشترین طول ریشه‌چه و ساقه‌چه را نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: جوانه‌زنی بذر، دود حاصل از گیاه، کلزا، خواب ثانویه

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان
۲. استادیاران،گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان
۳. دانشیار، گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران
*: نویسنده مسوول **Email:** mrabdollahi@hotmail.com

مقدمه

توانایی دود حاصل از سوختن مواد گیاهی در شکستن خواب بذر و تحریک جوانه‌زنی بذور اولین بار توسط *دلانگه و بوچر* (Delange & Boucher, 1990) برای گونه گیاهی *Audouinia capitata* (یک گونه گیاهی بومی مناطق آتشخیز) گزارش گردید. از زمان این کشف، کاربرد دود به شکل آئروسل و عصاره‌های آبی دود در دامنه وسیعی از گونه‌های گیاهی، چه در مناطق آتشخیز و چه در مناطق غیر آتشخیز، منجر به بهبود جوانه‌زنی گردیده است *دیکسون* و همکاران (Dixon *et al.* 1995)، *پیرس و* همکاران (Pierce *et al.* 1995)، *روچه* و همکاران (Roche *et al.* 1997)، *براون و بوتا* (Brown & Botha, 2004). دود گیاهی حاوی چندین هزار ترکیب می باشد *ماگا* (Maga, 1988). یک ترکیب بسیار فعال تحریک کننده جوانه‌زنی به نام بوتنولید (Butenolide) از دود گیاه *Passerina vulgaris* و *Themeda triandra* L. جداسازی شده است که محلول در آب می‌باشد و حتی در غلظت‌های بسیار پایین (10^{-9}مولار) قادر به تحریک جوانه‌زنی بذور می‌باشد *ون استادن و* همکاران (Van Staden *et al.* 2004)، *فلماتی و* همکاران (Flematti *et al.* 2004). اثرات مثبت دود حاصل از سوختن گیاهی چه در شکل آئروسول و چه به صورت محلول آبی دود بر روی جوانه‌زنی و بنیه گیاهچه گونه‌های مختلف گیاهی از قبیل برنج *دورتی و کوهن* (Doherty & Cohn, 2000)، ذرت بومی *مودی* (Modi, 2002, 2004)، ذرت تجاری *اسپارگ* و همکاران (Sparg *et al.* 2006)، لوبیای تجاری *ون استادن* و همکاران (2006)، برنج بومی *کول کارنی* و همکاران (Kulkarni *et al.* 2006)، کرفس *توماس و ون استادن*(Thomas & Van Staden, 1995)، کاهو *دروز* و همکاران (Drewes *et al.* 1995)، لوبیای سبز *تیلور و ون استادن* (Taylor & Van Staden, 1996)، هویج، جعفری و تره‌فرنگی *مریت* و همکاران (Merritt *et al.* 2005)، گوجه فرنگی تجاری *کول کارنی* و همکاران (2008)، توت روباهی *عبداللهی* و همکاران(Abdollahi *et al.* 2010) و خار مریم *عبداللهی* و همکاران (2011) گزارش شده است. علاوه بر این، اثرات تحریک‌کننده دود یا ترکیبات مؤثر دود برای بعضی فرایندهای رشد و نموی دیگر گیاه از قبیل گلدهی *کیلی* (Keeley, 1993)، ریشه‌زایی *تیلور و ون استادن* (1996) و رویان‌زایی سوماتیکی *سناراتنا* و همکاران (Senaratna *et al.* 1999) نیز گزارش شده است. این نتایج نشان می‌دهند که ترکیب بوتنولید فعال موجود در دود یک نقش تنظیم‌کننده‌ای در رشد و نمو گیاه بازی می‌کند و از طرفی چون این پدیده های فیزیولوژیکی توسط تنظیم کننده‌های رشد گیاهی کنترل می‌شوند این مطلب نشان‌دهنده این است که عصاره‌های دودی با هورمون‌های درون گیاه به طرق مختلف اثر متقابل دارند *ون استادن و* همکاران (2000). دود حاصل از سوختن مواد گیاهی، اثر متقابل مثبتی با هورمون‌هایی از قبیل جیبرلین‌ها، سیتوکنین‌ها و اتیلن در شکستن خواب بذور چندین گونه گیاهی نشان داده است *توماس و ون استادن* (1995)، *جاگر* و همکاران (Jager *et al.* 1996)، *ون استادن و همکاران* (1995). در این آزمایش اثر غلظت‌های مختلف دود حاصل از سوختن مواد گیاهی بابونه (*Tanacetum parthenium*) بر روی شکستن خواب ثانویه القاء شده در بذور کلزا و جوانه‌زنی این بذور، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه دو رقم Topas و PF_{704} کلزا در شرایط درون شیشه‌ای بررسی می‌گردد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از بذور یک ساله دو رقم کلزای بهاره به نام‌های Topas و PF_{704} استفاده گردید. جهت القاء خواب ثانویه در این بذور از روش محققین *تورنتون* و همکاران (Thornton *et al.* 1998) استفاده گردید. بدین‌ترتیب که ابتدا بذور در پتری‌دیش‌های ۹ سانتیمتری حاوی دو لایه کاغذ فیلتر و ۸ میلی‌لیتر از غلظت ۳۵۴/۴ گرم در لیتر پلی اتیلن گلیکول ۸۰۰۰ (PEG 8000) قرار گرفتند. این غلظت پلی‌تیلن‌گلیکول، در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد، فشار اسمزی حدود ۱۵- بار ایجاد می‌کند. به‌منظور جلوگیری از نفوذ نور، پتری دیش‌ها در کیسه‌های پلاستیکی سیاه پیچیده شده و به مدت ۴ هفته در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار گرفتند. پس از القاء خواب ثانویه در بذور کلزا، بذور توسط هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ به‌مدت۱۰ دقیقه ضدعفونی گردیدند سپس دو مرتبه هر بار به مدت ۵ دقیقه توسط آب مقطر اتوکلاو شده شستشو داده شدند. گونه گیاه دارویی بابونه در آزمایش تولید عصاره آبی دود مورد استفاده قرار گرفت و به این منظور قسمت اندام‌های هوایی گیاه از قبیل ساقه و برگ و گل این گیاهان از رویشگاه‌های خودروی اطراف دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی‌سینا همدان جمع‌آوری گردید (تقریباً ۵ کیلوگرم). به‌منظور استحصال دود از این گونه گیاه دارویی اندام‌های هوایی جمع‌آوری شده در دمای محیط خشک شدند. دود حاصل از سوختن گیاه بابونه از یک مخزن حاوی ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر به‌مدت ۴۵ دقیقه عبور داده شد *باکستر* و همکاران (Baxter *et al.* 1994)

، به طوریکه دود در آب مقطر به‌صورت یک محلول دودآب (smoke-water) درآمد و این محلول دود آب زرد رنگ بود. عصاره آبی دود طی سه مرحله با استفاده اتر، جوش شیرین ($NaHCO_3$) و سود (NaOH) یک مولار، برای حذف اسیدهای قوی و ضعیف از این محلول دودآب استخراج شد *فلماتی و همکاران* (2004). ۱۰۰ میلی‌لیتر از این عصاره به عنوان غلظت اصلی جهت تهیه غلظت‌های مختلف مورد استفاده در این آزمایش در نظر گرفته شد. ۶ غلظت متفاوت (۰/۰۰۰۵، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۲، ۰/۰۰۴، ۰/۰۱، ۰/۱ (v/v)) از ۱۰۰ میلی‌لیتر عصاره آبی دود اصلی تهیه گردید بدین ترتیب که برای غلظت‌های مورد نظر ۱ میلی‌لیتر از عصاره آبی دود اصلی به ترتیب به ۱۹۹۹، ۹۹۹، ۴۹۹، ۲۴۹، ۹۹ و ۹ میلی‌لیتر آب مقطر ضدعفونی شده اضافه شد. برای انجام آزمایش ۳۰ عدد بذر از هر رقم در هر کدام از ظروف حاوی غلظت‌های متفاوت عصاره آبی‌دود به مدت ۲ ساعت قرار داده شدند. سپس بذور توسط کاغذ صافی استریل خشک گردیدند و به تعداد ۱۰ عدد در هر پتری‌دیش حاوی محیط کشت B_5 منتقل شدند. محیط کشت B_5 حاوی mgl^{-1} ۰/۱ اسید جیبرلک و $۲۰gl^{-1}$ ساکارز، gl^{-1} ۸ آگار بود. بعد از انتقال بذور، پتری‌دیش‌های به اتاق رشد فیتوترون انتقال داده شدند و صفات درصد جوانه‌زنی بذر، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه بعد از دو هفته یادداشت گردیدند. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با ۲ رقم به‌عنوان فاکتور اول و عصاره آبی‌دود در ۷ سطح (شش غلظت متفاوت عصاره آبی دود به همراه شاهد آب مقطر) به عنوان فاکتور دوم و ۳ تکرار اجرا گردید. در آزمایش دوم اثر متقابل استفاده از ۵ غلظت متفاوت (۰، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۲، ۰/۰۰۴ و۰/۰۱(v/v)) عصاره آبی دود در محیط باززایی به همراه ۴ غلظت متفاوت مختلف اسیدجیبرلیک (۰، ۰/۱۰، ۰/۱۵و $mg\ l^{-1}$ ۰/۲۰) بر روی صفات باززایی بذور کلزا در دو رقم Topasو PF_{704} به صورت جداگانه و در سه تکرار بررسی شد. ۱۴ روز بعد از باززایی، ۳ صفت (درصد باززایی گیاهچه، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه) مورد ارزیابی قرار گرفتند. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با ۳ غلظت متفاوت مختلف اسیدجیبرلیک به‌عنوان فاکتور اول و عصاره آبی‌دود در ۴ سطح (شش غلظت متفاوت عصاره آبی‌دود) به‌عنوان فاکتور دوم و ۳ تکرار اجرا گردید.

نتایج و بحث

آزمایش اول

نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات جوانه‌زنی بذر برای غلظت‌های مختلف عصاره آبی دود و دو رقم مختلف کلزا نشان داد که غلظت‌های مختلف در سطح ۰/۰۰۱ برای همه صفات مورد بررسی معنی‌دار بودند (جدول ۱). در مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن، غلظت ۰/۱ عصاره آبی دود بیشترین درصد جوانه‌زنی(۱/۶۷ ± ۹۸/۳۳ ٪) را نشان داد و بعد از آن به‌ترتیب غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۰۴، ۰/۰۰۲ با (۶/۶۷±۷۳/۳۳٪، ۱۰/۶۴±۷۰/۰۰ ٪ ، ۸/۰۳±۵۶/۶۷ ٪) درصد باززایی نسبت به شاهد (۴/۰۱ ± ۳۸/۳۳٪) اختلاف معنی‌داری نشان دادند (شکل۱، الف). در ارتباط با طول ساقه‌چه فقط فاکتور دوم یعنی غلظت عصاره آبی‌دود معنی‌دار گردید. غلظت ۰/۱ عصاره آبی‌دود بیشترین طول ساقه‌چه را نشان داد(۹/۱۷±۰/۳۱ cm) و بعد از آن به ترتیب غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۰۴، ۰/۰۰۲ به‌ترتیب با (۶/۳۳±۰/۲۱ cm ، ۵/۰۰±۰/۰۰ cm، ۴/۶۷±۰/۲۱ cm) طول ساقه‌چه نسبت به شاهد (۳/۸۳±۰/۱۷ cm) اختلاف معنی‌داری نشان دادند (شکل ۱، ب). در دو صفت درصد جوانه‌زنی و طول ساقه‌چه رقم Topas به طور معنی‌داری در سطح ۰/۰۰۱ بهتر از رقم PF_{704} بود. اثر متقابل رقم و غلظت عصاره آبی‌دود در مورد صفت طول ریشه‌چه در سطح ۰/۰۰۱ معنی‌دار گردید (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین نشان داد غلظت ۰/۱ در رقم Topas با (۱۵/۰۰±۰/۰۰cm) طول ریشه چه بهترین تیمار است بعد از آن غلظت ۰/۱ در رقمPF_{704} با (۱۱/۳۳±۰/۳۳ cm) طول ریشه‌چه بهترین نتیجه را نشان داد. شاهد دو رقم Topas و PF_{704} به‌ترتیب با (۴/۶۷±۰/۳۳cm و ۶/۰۰±۰/۰۰cm) طول ریشه‌چه کمترین طول ریشه‌چه را داشتند (شکل۱، ج).

جدول ۱: تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی‌دود و رقم بر روی صفات جوانه‌زنی بذور کلزای القاء شده برای خواب ثانویه در آزمایش اول

Table 1: ANOVA for the effect of different concentrations of aqueous smoke extract and cultivar on seed germination traits of rapeseed seeds induced for secondary dormancy in first experiment

		میانگین مربعات Mean of squars		
منبع تغییر Source of variation	درجه آزادی Degree of freedom	درصد جوانه‌زنی Seed germination percentage	طول ساقه‌چه Shootlet length	طول ریشه‌چه Rootlet length
رقم(A) Cultivar(A)	1	5038.095***	0.095 ns	22.881***
غلظت عصاره آبی دود(B) Concentrate of aqueous smoke extract (B)	6	14361.905***	122.905***	245.810***
A×B	6	1361.905 ns	0.238 ns	29.619***
خطای آزمایشی (Error)	28	142.857	0.310	0.190
درصد ضریب تغییرات (C.V. %)		19.16	10.35	21.5

** وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۱ درصد Significant at the 0/1% level

ns عدم وجود اختلاف معنی‌دار No significant

جدول ۲: تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی‌دود و اسید جیبرلیک بر روی صفات جوانه‌زنی بذور کلزای (رقم Topas) القاء شده برای خواب ثانویه در آزمایش دوم

Table 2: ANOVA for the effect of different concentrations of aqueous smoke extract and GA3 on seed germination traits of rapeseed (cultivar Topas) seeds induced for secondary dormancy in second experiment

		میانگین مربعات Mean of squars		
منبع تغییر Source of variation	درجه آزادی Degree of freedom	درصد جوانه‌زنی Seed germination percentage	طول ساقه‌چه Shootlet length	طول ریشه‌چه Rootlet length
اسید جیبرلیک(A) Gibberlic acid (A)	3	3220.00***	7.600 ***	30.950 ***
غلظت عصاره آبی دود (B) Concentrate of aqueous smoke extract (B)	4	637.50 ***	10.042 ***	95.142 ***
A×B	12	218.611***	0.975 ***	2.075 ***
خطای آزمایشی (Error)	40	50.000	0.067	0.067
درصد ضریب تغییرات (C.V. %)		14.63	4.56	2.50

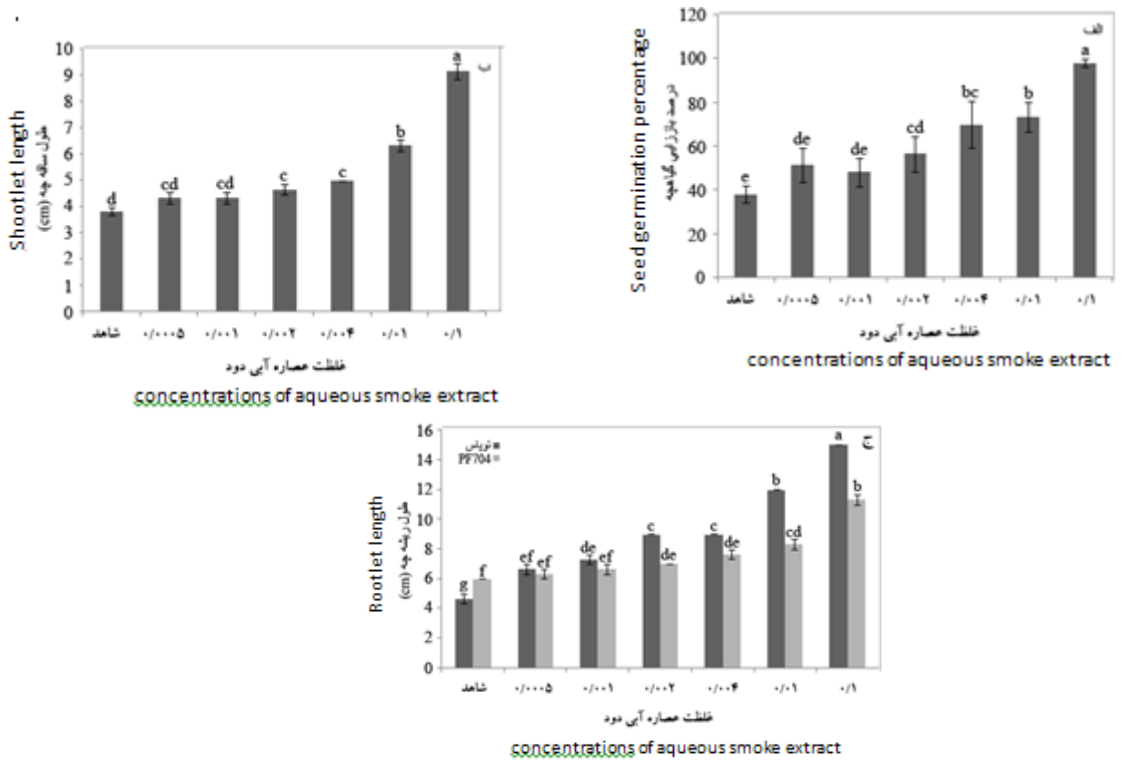
** وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۱ درصد Significant at the 0/1% level

جدول ۳: تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی‌دود و اسید جیبرلیک برای صفات جوانه‌زنی بذور کلزای (رقم PF_{704}) القاء شده برای خواب ثانویه در آزمایش دوم

Table 3: ANOVA for the effect of different concentrations of aqueous smoke extract and cultivar on seed germination traits of rapeseed (*Brassica napus* L. cv. PF_{704}) seeds induced for secondary dormancy in second experiment

		میانگین مربعات Mean of squars			
منبع تغییر Source of variation	درجه آزادی Degree of freedom	درصد جوانه‌زنی Seed germination percentage	طول ساقه‌چه Shootlet length	طول ریشه‌چه Rootlet length
اسید جیبرلیک(A) Gibberlic acid (A)	3	2424.44***	8.190 ***	30.846 ***
غلظت عصاره آبی دود (B) Concentrate of aqueous smoke extract (B)	4	3369.16 ***	7.307 ***	95.043 ***
A×B	12	175.833***	1.001 ***	2.054 ***
خطای آزمایشی (Error)	40	40.000	0.145	0.135
درصد ضریب تغییرات (C.V. %)		8.66	6.57	3.54

*** وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۱ درصد Significant at the 0/1% level

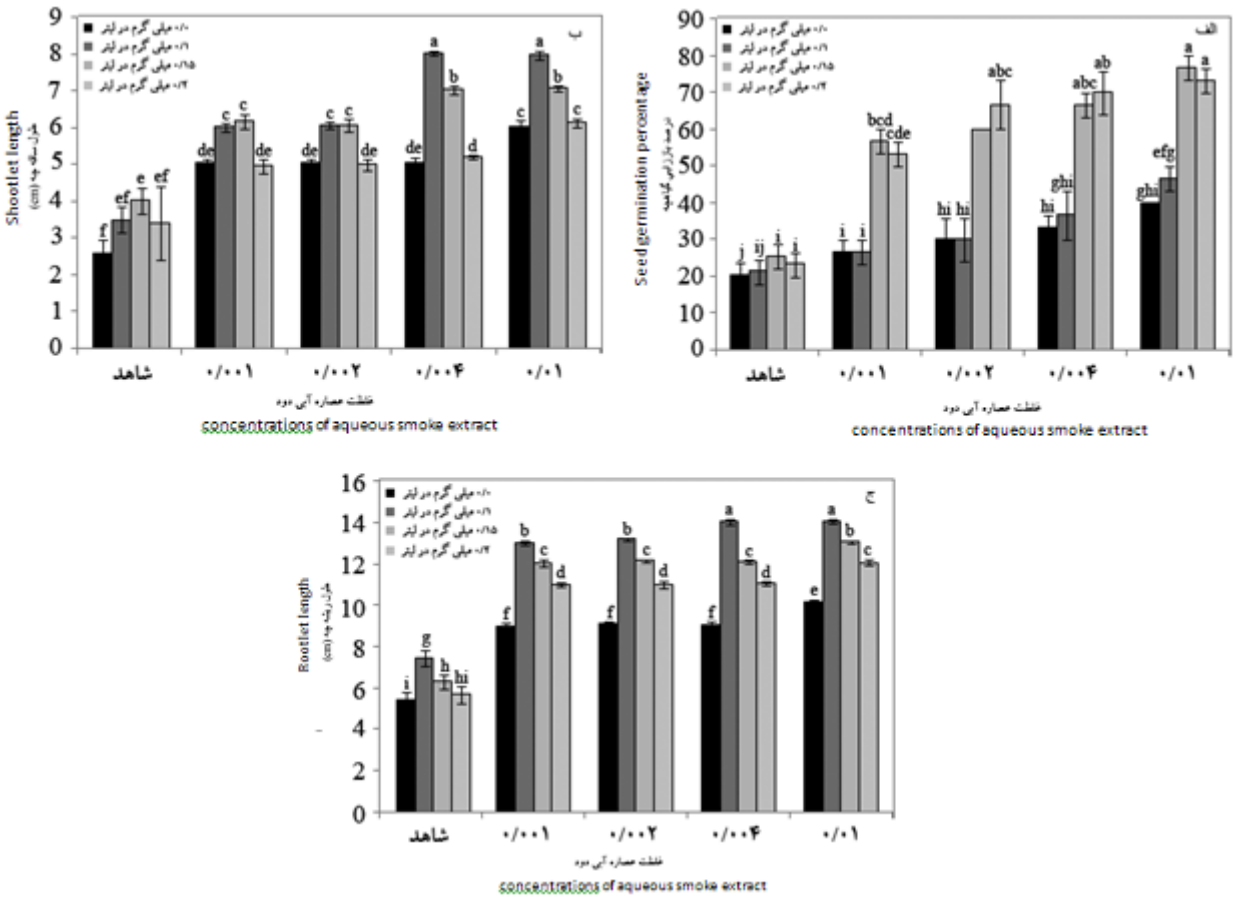


شکل ۱: اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی دود بر روی الف) درصد جوانه‌زنی ب) طول ساقه‌چه و ج) طول ریشه‌چه در بذور کلزای (ارقام Topas و PF_{704}) القاء شده برای خواب ثانویه

Fig 1: The effect of different concentrations of aqueous smoke extract on A) Seed germination percentage, B) Shootlet length and C) Rootlet length of rapeseed (cultivars PF_{704} and Topas) seeds induced for secondary dormancy

شکل۲: مقایسه صفات جوانه‌زنی بذور القاء شده برای خواب ثانویه و تیمار شده با غلظت ۰/۰۱ عصاره آبی دود در دو رقم کلزا (Topas و PF_{704}) در شرایط درون شیشه‌ای

Fig 2: Comparison of *in vitro* seed germination from rapeseed (PF_{704} and Topas) seeds induced for secondary dormancy and treated with aqueous smoke extract (concentrate of 0.01)

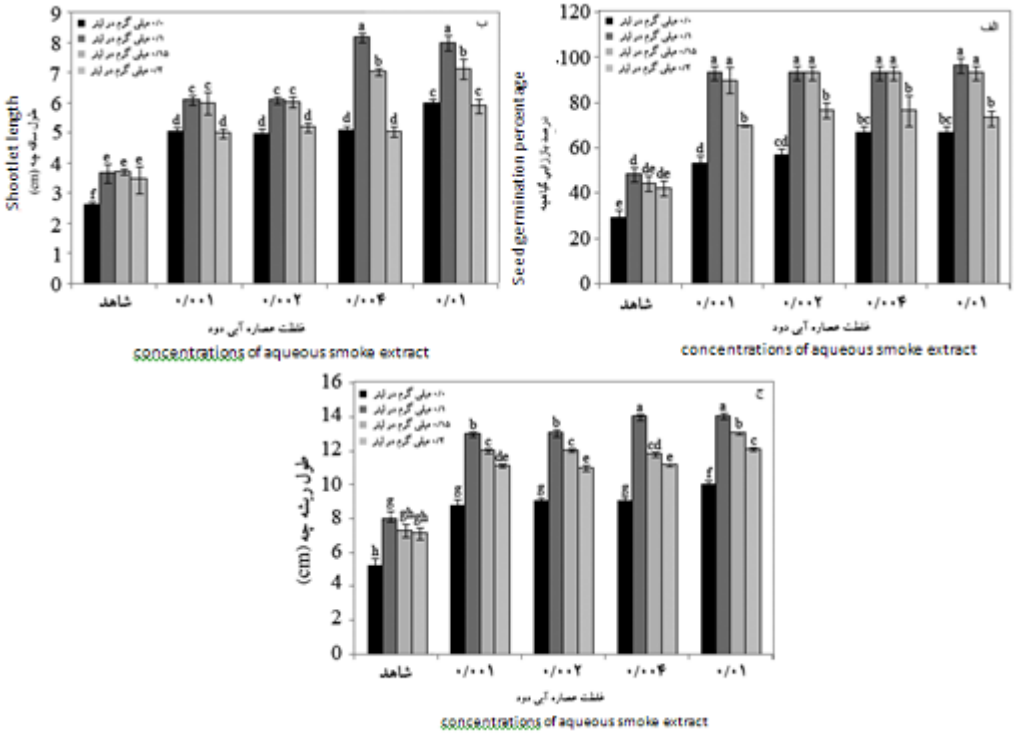


شکل ۳: اثر غلظت‌های مختلف عصـــاره آبی‌دود و اسید جیبرلیک بر روی الف) درصد جوانه‌زنی ب) طول ساقه‌چه ج) طول ریشه-چه بذور کلزای (رقم Topas) القاء شده برای خواب ثانویه

Fig 3: The effect of different concentrations of aqueous smoke extract and GA3 on A) Seed germination percentage, B) Shootlet length and C) Rootlet length of rapeseed (cultivar Topas) seeds induced for secondary dormancy

آزمایش دوم:

اثر متقابل غلظت‌های مختلف عصاره آبی‌دود و سطوح مختلف اسیدجیبرلیک برای صفات مختلف جوانه‌زنی از جمله درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه در هر دو رقم مورد مطالعه در سطح ۰/۰۰۱ معنی‌دار گردید. نتایج حاصل از مقایسه میانگین تیمارها در این آزمایش (شکل۳، الف) نشان داد که، اثر متقابل غلظت (۰/۰۱) عصاره آبی‌دود با غلظت‌های ۰/۱۵ mg l^{-1} و ۰/۲۰ mg l^{-1} اسیدجیبرلیک به‌ترتیب با (۳/۳۳ ±۷۶/۶۶٪ و ۳/۳۳ ±۷۳/۳۳٪) درصد جوانه‌زنی، بیشترین تأثیر را در درصد جوانه‌زنی از بذور کلزا رقم Topas دارند. اثر متقابل غلظت ۰/۰۰۱ عصاره آبی‌دود با غلظت ۰/۱۰ mg l^{-1} اسیدجیبرلیک با (۳/۳۳ ±۲۶/۶۷٪) کمترین تأثیر را در جوانه‌زنی از بذور این رقم نشان داد. شاهد با (۳/۳۳ ±۲۰/۳۳٪) بارزایی کمترین بارزایی را نشان داد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین تیمارها برای صفت طول ساقه‌چه (شکل ۳، ب) نشان داد که، اثر متقابل غلظت (۰/۰۱و ۰/۰۰۴) عصاره آبی‌دود با غلظت ۰/۱۰ mg l^{-1} اسیدجیبرلیک به‌ترتیب با (۰/۰۶۶ cm ± ۸/۰۳ و ۰/۱۲۰ cm ±۷/۹۶) طول ساقه‌چه بیشترین تأثیر را در طول ساقه گیاهچه‌های کلزا رقم Topas داشتند. اثر متقابل شاهد با (۰/۳۶۰ cm ±۲/۴۰) ساقه‌چه کمترین طول ساقه‌چه را نشان داد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین تیمارها برای صفت طول ریشه‌چه در رقم Topas (شکل ۳ ، ج) نشان داد که، اثر متقابل غلظت (۰/۰۱و ۰/۰۰۴) عصاره آبی‌دود با غلظت ۰/۱۰ mg l^{-1} اسیدجیبرلیک به‌ترتیب با (۰/۱۲cm ±۱۴/۰۳و ۰/۱۳ cm ±۱۴/۰۶) طول ریشه‌چه بیشترین تأثیر را در طول ریشه‌چه داشتند. اثر متقابل غلظت (۰/۰۰۲ و ۰/۰۰۱)عصاره آبی‌دود با غلظت mg ۰/۱۰l^{-1} اسیدجیبرلیک و اثر متقابل غلظت (۰/۰۱) عصاره آبی‌دود با غلظت ۰/۱۵ mg l^{-1} اسیدجیبرلیک به‌ترتیب (۰/۰۵۷cm ±۱۳/۲۰، cm ۰/۰۸۸ ±۱۳/۰۶ و cm ۰/۱۲۱ ±۱۳/۰۳) طول ریشه‌چه را نشان دادند. شاهد با (۰/۴۰۴cm ±۵/۴۰) طول ریشه‌چه کمترین طول ریشه چه را داشت. نتایج حاصل از مقایسه میانگین تیمارهای آزمایشی برای صفت جوانه‌زنی از بذور کلزا رقم PF_{704} نشان داد که، اثر متقابل غلظت (۰/۰۱، ۰/۰۰۴، ۰/۰۰۲ و ۰/۰۰۱) عصاره آبی‌دود با غلظت‌های ۰/۱۵ mg l^{-1}و۰/۱۰ mg l^{-1} اسید جیبرلیک به‌ترتیب با (۳/۳۳ ±۷۶/۶۶٪، ۳/۳۳ ±۷۳/۳۳٪، ۳/۳۳ ±۷۶/۶۶٪ و۳/۳۳±۷۳/۳۳٪) جوانه‌زنی بیشترین تأثیر را در درصد جوانه‌زنی گیاهچه داشتند (شکل ۴، الف).



شکل ۴: اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی‌دود و اسیدجیبرلیک بر روی الف) درصد جوانه‌زنی ب) طول ساقه‌چه ج) طول ریشه‌چه در بذور کلزا رقم PF_{704}

Fig 4: The effect of different concentrations of aqueous smoke extract and GA3 on A) Seed germination percentage, B) Shootlet length and C) Rootlet length of rapeseed seeds (cultivar PF_{704})

شاهد با (۳/۳۳ ±۲۹/۳۳٪) جوانه‌زنی گیاهچه کمترین تأثیر را در درصد جوانه‌زنی بذور این رقم داشت. نتایج حاصل از مقایسه میانگین تیمارهای این آزمایش نشان داد که، اثر متقابل غلظت (۰/۰۱و ۰/۰۰۴) عصاره آبی‌دود با غلظت ۰/۱۰mg l^{-1} اسید جیبرلیک با به‌ترتیب (۰/۲۶۴ cm ±۸/۰۰ و ۰/۱۴۵ cm ±۸/۱۶) طول ساقه‌چه بیشترین تأثیر را در طول ساقه چه گیاهچه‌های باززایی شده از بذور رقم PF_{704} داشتند (شکل ۴، ب). غلظت ۰/۰۱ و ۰/۰۰۴ عصاره آبی‌دود با غلظت ۰/۱۵mg l^{-1} اسیدجیبرلیک به‌ترتیب (۰/۳۱۷cm ±۷/۱۳ و ۰/۱۲۰cm ±۷/۰۳) طول ساقه‌چه را نشان دادند. شاهد با (۰/۰۸۸ cm±۲/۶۳) طول ساقه‌چه کمترین طول ساقه‌چه را داشت. مقایسه میانگین تیمارها برای صفت طول ریشه‌چه در رقم PF_{704} نشان داد که اثر متقابل غلظت (۰/۰۱و ۰/۰۰۴) عصاره آبی‌دود با غلظت ۰/۱۰ mgl^{-1} اسیدجیبرلیک با به‌ترتیب(۰/۱۲cm ± ۱۴/۰۳و ۰/۱۸ cm ± ۱۴/۰۶) طول ریشه‌چه بیشترین تأثیر را در طول ریشه‌چه داشتند (شکل ۴، ج). اثر متقابل غلظت (۰/۰۰۲ و ۰/۰۰۱) عصاره آبی‌دود با غلظت$^{-1}$ ۰/۱۰ mg l^{-1} اسیدجیبرلیک و اثر متقابل غلظت (۰/۰۱) عصاره آبی‌دود با غلظت ۰/۱۵ mg l^{-1} اسیدجیبرلیک به‌ترتیب (۰/۱۸۵cm ±۱۳/۰۶، ۰/۱۸۵ cm ± ۱۳/۰۶ و ۰/۱۲۱cm ± ۱۳/۰۳) طول ریشه‌چه داشتند. شاهد با (۰/۳۸۴cm ± ۵/۳۶) طول ریشه‌چه کمترین طول ریشه‌چه را نشان داد. نتایج به‌دست آمده از این تحقیق مؤکد نقش تحریک‌کننده عصاره آبی‌دود حاصل از سوختن مواد گیاهی بابونه بر روی جوانه‌زنی بذور کلزای القاءشده برای خواب ثانویه و همچنین تحریک رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه گیاهچه‌های باززایی شده از این بذور می‌باشد. نتایج نشان داد که استفاده از عصاره آبی‌دود گیاه دارویی بابونه چه در سطح بذور (خیساندن بذور کلزا در غلظت‌های مختلف این عصاره) و چه به‌صورت استفاده در محیط کشت می‌تواند خواب ثانویه القاء شده در بذور کلزا را بشکند و همچنین در هر دو روش رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه را در هر دو رقم مورد مطالعه تحریک کند. این نتایج تایید کننده تحقیقات محققین گذشته مبنی بر اثر مثبت عصاره آبی‌دود گیاهی بر افزایش درصد جوانه‌زنی بذور و بهبود رشد گیاهچه می‌باشد *ون استادن* (1995) *عبداللهی* و همکاران (2011 ;2010). توانایی تیمار دودی در کوتاه کردن زمان جوانه‌زنی یا افزایش سرعت جوانه‌زنی در گذشته نیز توسط محققین متعددی گزارش شده است *اسپارگ*و همکاران (2005). شواهد نشان می‌دهد که ترکیب تحریک‌کننده جوانه‌زنی در دود می‌تواند باعث القای سریع‌تر فعالیت‌های چرخه سلولی شود و در نتیجه ظهور ریشه‌چه را در بذرهای در حال جوانه‌زنی شتاب ببخشد *جین و همکاران* (Jain *et al*. 2006)، در نتیجه بذرهای تیمار شده با دود نسبت به بذور شاهد، با سرعت بیشتری جوانه می‌زنند. همچنین نتایج آزمایشات دیگر محققین نیز نشان دهنده این مطلب است که دود در ریشه‌زایی و رشد و نمو ساقه‌چه گیاهان نیز مؤثر بوده است *تیلور و ون استادن* (1996). افزایش ریشه‌های جانبی در جذب آب و موادغذایی و در نتیجه رشد سریعتر و سالم‌تر گیاه‌چه مؤثر می‌باشند *دبی و همکاران* (Debi *et al*. 2005). شکل‌گیری ریشه‌های جانبی یکی از فرایندهای تحت کنترل اکسین است *وانگ* و همکاران (Wang *et al*. 2003). پس نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که عصاره دودی احتمالاً مانند هورمون‌های گیاهی عمل می‌کند. همچنین این امکان وجود دارد که دود سطوح هورمون‌های گیاهی را در بذر تغییر داده و یا ممکن است حساسیت بافت‌ها نسبت به هورمون‌ها را تغییر دهد *ون استادن* و همکاران (2000). با توجه به معنی‌دار شدن اثر متقابل عصاره آبی‌دود با اسیدجیبرلیک و تأثیر مثبت این اثر متقابل بر روی صفات باززایی گیاهچه *وان* نتیجه‌گیری کرد عصاره آبی‌دود به همراه اسیدجیبرلیک یک اثر افزاینده دارد و می‌تواند تأثیر این هورمون‌های گیاهی را افزایش دهد. همانطور که از نتایج مشخص است عصاره آبی‌دود به تنهایی اثر کمتری نسبت به زمانی که در ترکیب با اسیدجیبرلیک استفاده شده است دارد. محققین دیگر نیز در آزمایشی نشان دادند که وقتی محلول‌های جیبرلین (GA4/7) و BA (بنزیل آدنین) و دود هر کدام به تنهایی بر روی بذور *Syncarpha vestita* استفاده شدند تأثیری روی شکستن خواب بذور نداشتند و فقط در حالت ترکیب با عصاره آبی‌دود گیاهی بر خواب بذر چیره شدند. این مطلب اثر متقابل دود و در واقع اثر افزایشی آن را با تنظیم‌کننده‌های رشد دیگر تقویت می‌کند. به‌طور مشابه غلظت‌های مطلوب عصاره آبی دود گیاهی در ترکیب با اتیلن نیز یک اثر افزایشی نشان داده‌اند همچنین اثر متقابل بین دود و هورمون ABA نیز دیده شده است *جاگر و همکاران* (1996). در بذور کاهو که برای جوانه‌زنی به نور نیاز دارند نیز آزمایش مشابهی انجام شده است و در نتیجه روشن شده است که دود می‌تواند جانشین نور گردد و خواب بذور این گیاه را از بین ببرد *دروز* و همکاران (1995). مطالعات اثر متقابل دود و هورمون‌های گیاهی مؤکد این مطلب است که دود در ترکیب با هورمون‌های گیاهی اثری افزایشی دارد البته این اثر افزایشی در غلظت‌های مشخصی وجود دارد و خارج از این دامنه حتی اثرات بازدارندگی نیز ایجاد می‌کند

ون استادن و همکاران (1995). روش‌های مختلفی برای اعمال اثر تحریکی دود پیشنهاد شده است *ون استادن* و همکاران (1995). به نظر می‌رسد دود می‌تواند حساسیت گیرنده‌های هورمون‌هایی از قبیل اتیلن، جیبرلین، سیتوکنین، اسید آبسزیک را تغییر دهد و یا اینکه نفوذپذیری غشاء را تغییر دهد و در نتیـجه هورمون‌ها به راحتی به سایت‌های فعال می‌رسند. همچنین گزارش شده است که ترکیبات فعال در دود در سیستم فعالیت آنزیم‌هایی که سرعت رشد را کنترل می‌کند نفوذ و دخالت می‌کنند *بلانک و یانگ* (Blank and Young, 1998). طی یکسری از تحقیقات، اثر ماده فعال دود را در سطح ماکرومولکول‌ها (RNA، DNA و پروتئین) در طول جوانه‌زنی بررسی شده است *ورسچاو* و همکاران (Verschaeve *et al.* 2006). در حضور بوتنولوئید سنتز DNA سریع‌تر از شاهد می‌گردد و همچنین رونویسی سریع‌تری نسبت به شاهد رخ می‌دهد. تغییرات ثبت شده در محتوای پروتئین در مراحل گوناگون رشد و نمو نقش تنظیمی بوتنولوئید در سرعت سنتز پروتئین را اثبات می‌کند. همچنین بررسی‌ها در سطح پروتئین باعث شناخت چهار پروتئین ایزوفرم شد این پروتئین‌ها در دیواره سلولی قرار دارند. در اثر تیمار گیاهچه‌ها با بوتنولوئید ساختن این پروتئین‌ها به طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد افزایش یافت این پروتئین‌ها در جابجایی الکترون‌های دخیل در فتوسنتز نقش دارند و افزایش این پروتئین‌ها منجر به فتوسنتز بیشتر و نتیجتاً بیوماس بالاتر و رشد بهتر گیاه تحت تیمار بوتنولوئید می‌گردد این افزایش در گیاه بامیه و گوجه-فرنگی دیده شده است *کول کارنی* (Kulkarni, 2008). تنها اثری که برای بوتنولوئید در سطح DNA دیده شد این بود که در حضور بوتنولوئید سنتز DNA سریع‌تر از شاهد بود *جین* و همکاران (2006). گزارش‌های اخیر از بررسی اثرات بوتنولید در سطح مولکولی باعث کشف یکسری از ژن‌های پاسـخ‌گو به دود گردید. مشخص شده است که دود بر روی رونـــویسی یکســری از ژن‌های دخیل در مرحله جوانه‌زنی مؤثر است. مطالعـــه دقیق‌تر، تعدادی ژن‌های پاسخ‌گو به دود و همچنین پاسخ‌گو به ABA و استرس‌ها را نمایان ساخت. تیمار با دود در فاز ابتدایی جوانه‌زنی منجر به سازگار شدن بهتر به استرس‌های محیطی در طول جوانه‌زنی می‌گردد که سرانجام منجر به قدرت بیشتر گیاهچه می‌شود *اسپارگ* و همکاران (2006).

شکل۵: اثر عصاره آبی‌دود و اسیدجیبرلیک بر روی صفات جوانه‌زنی بذور القاء شده برای خواب ثانویه در دو رقم کلزای Topas و PF_{704} در شرایط درون شیشه‌ای

Fig 5: The effect of aqueous smoke extract on *in vitro* seed germination from rapeseed (PF_{704} and Topas) seeds induced for secondary dormancy

نتیجه گیری

با توجه به آزمایش اول این گونه می‌توان نتیجه‌گیری کرد در هر دو رقم غلظت ۰/۱ عصاره آبی دود بیشترین تاثیر مثبت را بر روی صفات باززایی دارد و بیشترین درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه ایجاد می‌کند (شکل ۲). هرچه از میزان غلطت عصاره آبی‌دود کاسته می‌شود تأثیر آن نیـــز کمـــتر می‌گردد.

به طوری‌که غلظت‌های پایین عصاره آبی‌دود اختلاف معنی-داری با شاهد نشان نمی‌دهند. همچنین نتایج آزمایش دوم نشان می‌دهد که بین عصاره آبی‌دود و اسید جیبرلیک اثر متقابل مثبت وجود دارد و در غلظت‌های خاصی هر دو ماده در ترکیب با یکدیگر نتایج بهتری نسبت به زمانی که به تنهایی استفاده می‌شوند دارند (شکل ۵).

منابع:

جهت ملاحظه منابع به صفحه‌های ۸-۶ متن انگلیسی مراجعه شود.

Effects of Plant-Derived Smoke and Gibberellic Acid on Seed Dormancy Breaking, Seed Germination Traits and Seedling Growth of Rapeseed (*Brassica napus* L.) Under *in Vitro* Condition

Ghazanfari[1], P., Abdollahi[2]*, M. R., Moieni[3], A. and Moosavi[4], S. S.

Abstract

The effect of aqueous smoke extract derived from burning of *Tanacetum parthenium* leaves and GA3 on secondary dormancy breaking, germination and seedling growth of rapeseed seeds (Topaz and PF_{704} cultivars) was investigated in this study. In the first experiment the rapeseed seeds of two cultivars imbibed with different concentrations of aqueous smoke extract (0.0005, 0.001, 0.002, 0.004, 0.01, and 0.1 (v/v)) and distilled water (control) were investigated as a completely randomized factorial 2×7 with 3 replications. In second experiment difference concentrations of aqueous smoke extract (0.001, 0.002, 0.004, 0.01) and control (with out smoke water) combined with difference concentrations of GA3 (0, 0.1, 0.15, 0.20 mgl^{-1}) were used in B5 regeneration medium. The experiment was arranged in a completely randomized design, factorial 5×4 with 3 replications. In the first experiment, use of aqueous smoke extract (concentration of 0.1) showed the highest germination percentage and shoot length in dormant seeds of both cultivars, while this concentration showed the highest root length in Topas cultivar. Use of GA3 (concentration of 0.1 and 0.20 mgl^{-1}) in combination with aqueous smoke extract (0.1) showed the highest germination percentage in Topas, while use of GA3 (concentration of 0.1 and 0.15 mgl^{-1}) combined with all aqueous smoke extract concentrations indicated the highest germination percentage in PF_{704} cultivar. In both cultivars, two concentrations of aqueous smoke extract (0.004 and 0.01) combined with GA3 (concentration of 0.1) in culture medium showed the highest shoot length and root length.

Keywords: Seed germination, Plant-derived smoke, Rapeseed, Secondary dormancy

References

Abdollahi, M. R., Mehrshad, B. and Moosavi, S. S. 2011. Effect of method of seed treatment with plant-derived smoke solutions on germination and seedling growth of milk thistle (*Silybum marianum* L.). Seed Science and Technology, 39: 225-229.

Abdollahi, M. R., Mehrshad, B., Mirzaie Asl, A. and Sepehri, A. 2010. Plant-derived smoke solution and potassium nitrate affect seed germination and seed vigour in four medicinal plant species. Bodenkultur, 62: 5-12.

Baxter, B. J. M. and Van Staden, J. 1994. Plant-derived smoke: An effective seed pre-treatment. Plant Growth Regulation, 14: 279-282.

1. M.Sc student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan
2. Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan
3. Associate Professor, Department of Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran
4. Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan
*: Corresponding Author **Email**: m.abdollahi@basu.ac.ir

Blank, R. R. and Young , J. A. 1998. Heated substrate and smoke: Influence on seed emergence and plant growth. Journal of Range Management, 51: 577-583.

Brown, N. A. C. and Botha, P. A. 2004. Smoke seed germination studies and a guide to seed propagation of plants from the major families of the cape floristic region, South Africa. South African Journal of Botany, 70: 559-581.

De Lange, J. H. and Boucher, C. 1990. Autecological studies on *Audouinia capitata* (Bruniaceae). I. Plant-derived smoke as a seed germination cue. South African Journal of Botany, 56: 700-703.

Debi, R. B., Taketa, S. and Ichii, M. 2005. Cytokinin inhibits lateral root initiation but stimulates lateral root elongation in rice (Oryza sativa). Journal of Plant Physiology, 162: 507-515.

Dixon, K. W., Roche, S. and Pate, J. S. 1995. The promotive effect of smoke derived from burnt native vegetation on seed germination of Western Australian plants. Oecologia, 101: 185-192.

Doherty, L. C. and Cohn, M. A. 2000. Seed dormancy in red rice (*Oryza sativa*). XI. Commercial liquid smoke elicits germination. Seed Science Research, 10: 415-421.

Drewes, F. E., Smith, M. T. and Van Staden, J. 1995. The effect of plant-derived smoke extract on the germination of light-sensitive lettuce seed. Plant Growth Regulation, 16: 205-209.

Flematti, G. R., Ghisalberti, E. L., Dixon, K. W. and Trengove, R. D. 2004. A compound from smoke that promotes seed germination. Science, 305:977.

Jäger, A. K., Strydom, A. and Van Staden, J. 1996. The effect of ethylene, octanoic acid and a plant-derived smoke extract on the germination of light-sensitive lettuce seeds. Plant Growth Regulation, 19: 197-201.

Jain, N., Ascough, G. D. and Van Staden, J. 2006. A smoke-derived butenolide alleviates $HgCl_2$ and $ZnCl_2$ inhibition of water uptake during germination and subsequent growth of tomato-possible involvement of aquaporins. Journal of Plant Physiology, 165: 1422-1427.

Keeley, J. E. 1993. Smoke-induced flowering in the fire-lily *Cyrtanthus ventricosus*. South African Journal of Botany, 59:638.

Kulkarni, M. G., Sparg, S. G., Light, M. E. and Van Staden, J. 2006. Stimulation of rice (*Oryza sativa* L.) seedling vigour by smoke-water and butenolide. Journal of Agronomy and Crop Science, 192: 395-398.

Kulkarni, M. G., Ascough, G. D. and Van Staden., J. 2008. Smoke-water and a smoke-isolated butenolide improve growth and yield of tomatoes under greenhouse conditions. HortTechnology, 18: 449-454.

Maga, J. A. 1988. Smoke in Food Processing. CRC Press, Boca Raton, USA.

Merritt, D. J., Dixon, K. W., Flematti, G., Commander, L. E. and Turner, S. R. 2005. Recent findings on the activity of butenolide-a compound isolated from smoke that promotes seed germination. In: Abstract of 8th International Workshop on Seeds, Brisbane, Australia, pp. 8-13.

Modi, A. T. 2002. Indigenous storage method enhances seed vigour of traditional maize. South African Journal of Science, 98: 138-139.

Modi, A. T. 2004. Short-term preservation of maize landrace seed and taropropagules using indigenous storage methods. South African Journal of Botany, 70: 16-23.

Pierce, S. M., Esler, K. and Cowling, R. M. 1995. Smoke-induced germination of succulents (Mesembryanthemaceae) from fire-prone and fire-free habitats in South Africa. Oecologia, 102: 520-522.

Roche, S., Dixon, K. W. and Pate, J. S. 1997. Seed ageing and smoke: Partner cues in the amelioration of seed dormancy in selected Australian native species. Australian Journal of Botany, 45: 783-815.

Senaratna, T., Dixon, K., Bunn, E. and Touchell, D. 1999. Smoke saturated water promotes somatic embryogenesis in geranium. Plant Growth Regulation, 28: 95-99.

Sparg, S. G., Kulkarni, M. G. and Van Staden, J. 2006. Aerosol smoke and smoke-water stimulation of seedling vigor of a commercial maize cultivar. Crop Science, 46: 1336-1340.

Sparg, S. G., Kulkarni, M. G., Light. M. E. and Van Staden, J. 2005. Improving seedling vigour of indigenous medicinal plants with smoke. Bioresource Technology, 96: 1323-1330.

Taylor, J. L. S. and Van Staden, J. 1996. Root initiation in *Vigna radiata* (L.) Wilczek hypocotyl cutting is stimulated by smoke-derived extracts. Plant Growth Regulation, 18: 165-168.

Thomas, T. H. and Van Staden, J. 1995. Dormancy break of celery (*Apium graveolens* L.) seeds by plant derived smoke extract. Plant Growth Regulation, 17: 195-198.

Thornton, M. A., Peters, N. C. B., West, T. M. and Thomas, T. H. 1998. A novel way to control volunteer oilseed rape (*Brassica napus*). Aspects of Applied Biology, 51: 191-196.

Van Staden, J., Drewes, F. E. and Jäger, A. K. 1995. The search for germination stimulants in plant-derived smoke extracts. South African Journal of Botany, 61: 260-263.

Van Staden, J., Brown, N. A. C., Jager, A. K. and Johnson, T. A. 2000. Smoke as germination cue. Plant Species Biology, 15:167-178.

Van Staden, J., Jäger, A. K., Light, M. E. and Burger, B. V. 2004. Isolation of the major germination cue from plant-derived smoke. South African Journal of Botany, 70: 654-659.

Van Staden, J., Sparg, S. G., Kulkarni, M. G. and Light, M. E. 200. Post-germination effects of the smoke-derived compound 3-methyl-2H-furo[2,3-c]pyran-2-one, and its potential as a preconditioning agent. Field Crops Research, 98: 98-105.

Verschaeve, L., Maes, J., Light, M. E. and Van Staden, J. 2006. Genetic toxicitytesting of 3-methyl-2H- furo[2,3-c]pyran-2-one, an important biologicallyactive compound from plant-derived smoke. Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 611: 89-95.

Wang, S. S. Taketa, M., Ichii, L., Xu, K. and Zhou, X. 2003. Lateral root formation in rice (*Oryza sativa* L.): differential effects of indole-3-acetic acid and indole-3-butyric acid. Plant Growth Regulation, 41: 41- 47.