

February 2019, Tehran, Iran

مطالعه واکنش جوانه زنی گیاه دارویی پروانش (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don) در

پاسخ به فیتوهورمون جاسمونیک اسید

مرضیه عباسف^۱، حشمت امیدی^{۲*}، عبدالمهدی بخشنده^۳

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۲- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۳- استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین، اهواز، ایران

چکیده

به منظور بررسی تعیین مطلوبترین مدت زمان و غلظت پرایمینگ بذر پروانش با جاسمونیک اسید، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل پیش تیمار بذر با جاسمونیک اسید در سه سطح، صفر، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار، در پنج سطح زمانی صفر، ۶، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت بودند. نتایج نشان داد که غلظت و مدت زمان پرایمینگ بر تمام شاخص های مورد مطالعه معنی دار بود. هم چنین اثر برهمکنش غلظت و مدت زمان پرایمینگ بر تمام شاخص ها بجز، شاخص وزنی بینه بذر معنی دار بود. درصد جوانه زنی در غلظت های ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار جاسمونیک اسید و در مدت ۲۴ ساعت به (۹۸/۳۳ درصد) رسید که ۳۴/۱ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت. بالاترین سرعت جوانه زنی، در تیمار ۱۰ میکرومولار و در مدت زمان ۱۲ ساعت بود که ۴۲/۸ درصد نسبت به تیمار شاهد بیشتر بود. به طور کلی نتایج نشان داد پرایمینگ بذر با ۱۰ میکرومولار جاسمونیک اسید در مدت ۲۴ ساعت موجب بهبود اکثر شاخص های مورد مطالعه شد.

کلمات کلیدی: ارزش جوانه زنی، پرایمینگ بذر، پروانش، جاسمونیک اسید

۱. مقدمه

گیاه پروانش با نام علمی *Catharanthus roseus* (L.) G. Don و نام انگلیسی Madagascar Periwinkle شناخته شده است. پروانش یک گیاه دولپه ای، خودگشن و جزء گیاهان زینتی دارویی از خانواده خرزهره (Apocynaceae) است و در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری در سراسر جهان یافت می شود و به طور گسترده ای در اسپانیا، ایالات متحده، چین، آفریقا، استرالیا، هند، و جنوب اروپا برای مصرف داروهای آن کشت می شود گیاه پروانش یکی از گیاهان دارویی مهم است که متابولیت های ثانویه زیادی تولید می کند و از دوران باستان به خاطر ترکیبات فیتوشیمیایی و اثر

¹ Corresponding author: omidi@shahed.ac.ir

درمانی اش مورد استفاده قرار گرفته است. از پروانش قرنهای در اروپا برای درمان دیابت و از عصاره برگ آن برای درمان نیش زنبور و ممانعت از خونریزی استفاده شده است. از خواص پروانش می توان به خاصیت ضد سرطان، ضد دیابت، ضد فشار خون و آنتی اکسیدانی آن اشاره کرد. پروانش به عنوان یک مدل مناسب در بسیاری از مطالعات جهت بررسی آکالوئیدهای گیاهی معرفی شده است. این گیاه دوره ی رویشی نسبتاً طولانی دارد. از بدو رویش بذر تا رسیدن و کامل شدن میوه، ۱۸۰ تا ۲۰۰ روز به طول می انجامد. رشد اولیه ی آن بسیار کند است [1]. پرایمینگ بذر یک فرآیند فیزیولوژیکی است و از روش های شناخته شده جهت جوانه زنی سریع بذر و بهبود استقرار گیاهچه است [2]: [3] هم چنین یک ابزار مهم برای بهبود توان محصول است [4]. پرایمینگ بذر با کاهش طول دوره ی رشد موجب افزایش بهره وری زمین های زراعی شده به طوری که کشاورزان هندی توانستند سه محصول در یک سال برداشت کنند. پرایمینگ بذر موجب افزایش جوانه زنی یکسان، درصد و سرعت جوانه زنی بذرها می شود [5].

جاسمونات ها به عنوان ترکیبات پیام رسان کلیدی معرفی شده اند که تجمع متابولیت های ثانویه را باعث می شوند. این مولکول ها منجر به القای فعالیت آنزیم های ویژه ای می شوند که واکنش های بیوسنتزی مربوط به تولید ترکیبات دفاعی مانند پلی فنل ها، آکالوئیدها و ترکیبات ترپنوئیدی را کاتالیز می کنند. جاسمونیک اسید نقش مهمی در پاسخ فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان به شرایط محیطی دارد [6].

با توجه به دوره ی رشد طولانی گیاه پروانش و کوچک بودن بذر و عدم استقرار مناسب آن در مزرعه با خاک هایی با بافت نیمه سنگین و سنگین، این تحقیق با هدف بررسی اثر هورمون پرایمینگ بذر با جاسمونیک اسید در غلظت ها و مدت زمان های متفاوت بر بهبود شاخص های جوانه زنی بذر پروانش انجام شد.

۲. مواد و روش

به منظور بررسی تأثیر مدت زمان و غلظت های مختلف جاسمونیک اسید بر جوانه زنی بذر پروانش، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشکده ی علوم کشاورزی دانشگاه شاهد تهران در سال ۱۳۹۶ اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل مدت زمان پرایمینگ در چهار سطح (۶، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت) و جاسمونیک اسید در دو سطح (۱۰ و ۱۰۰ میلی مولار) بود. از بذور خشک (پرایم نشده) نیز به عنوان شاهد استفاده شد. بذرها از شرکت مزرعه سبز نمین تهیه شد. بذرها با اتانول ۷۰ درصد به مدت ۳۰ ثانیه و سپس سه مرتبه با آب مقطر شستشو داده شدند و پس از آن با هیپوکلریت سدیم تجاری (۲/۵ درصد) به مدت ۱۵ دقیقه ضد عفونی شده و مجدداً با آب مقطر شسته شدند [7] بذرها در زمان های (۶، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت) در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد با غلظت های مورد نظر تیمار سپس با آب مقطر شسته شده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار داده شدند تا به رطوبت اولیه بذر رسیدند [8]. در هر پتری ضد عفونی شده حاوی یک کاغذ واثمن اتوکلاو شده با قطر ۹ سانتی متر ۵۰ عدد بذر کشت شد به هر پتری ۵ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. به منظور کاهش میزان تبخیر آب، در پتری ها به وسیله پارافیلیم بسته شد پس از این مرحله پتری های حاوی بذور به دستگاه ژرمیناتور منتقل و تحت دمای ۲۵+۱ درجه سانتی گراد و تناوب نوری ۱۲ روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفتند [9] و از روز دوم پس از کشت شمارش بذرها روزانه در ساعت معینی به مدت ۱۰ روز انجام گرفت [10]. تعداد بذور جوانه زده (با طول ریشه چه دو میلی متر) روزانه شمارش و یادداشت شد [11]. برای تعیین درصد جوانه زنی بذرها [12]،

سرعت جوانه زنی [13]، میانگین زمان جوانه زنی [14]، شاخص طولی و وزنی بنیه بذر [15] و ارزش جوانه زنی [16] از معادلات زیر استفاده شد.

رابطه ۱) $Germination\ percentage\ (GP) = (N \times 100) / M$ درصد جوانه زنی

رابطه ۲) $Mean\ germination\ time\ (MGT) = \sum(N_i D_i)$ میانگین زمان جوانه زنی

(رابطه ۲)

رابطه ۳) $Germination\ Speed\ (GS) = \sum N_i / T_i$ سرعت جوانه زنی

رابطه ۴) $Seed\ length\ vigor\ index\ (SLV) = GP \times Seedling\ length\ (SL)$ شاخص طولی بنیه بذر

(رابطه ۴)

رابطه ۵) $Seed\ weight\ vigor\ index\ (SWV) = GP \times Seedling\ dry\ weight\ (SD)$ شاخص وزنی بنیه بذر

رابطه ۶) $Germination\ Value\ (GV) = GP \times MDG$ ارزش جوانه زنی

N: تعداد بذره‌های جوانه Ni: زمان از شروع آزمایش تا روز مشاهده Di: تعداد کل بذره‌های کشت شده M: مجموع بذره‌های جوانه زده در پایان آزمایش Di: دوره جوانه زنی T: تعداد بذره‌های جوانه زده در پایان آزمایش $\sum N_i$: زده در زمان Di

تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS صورت گرفته و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

۳. نتایج و بحث

درصد جوانه زنی

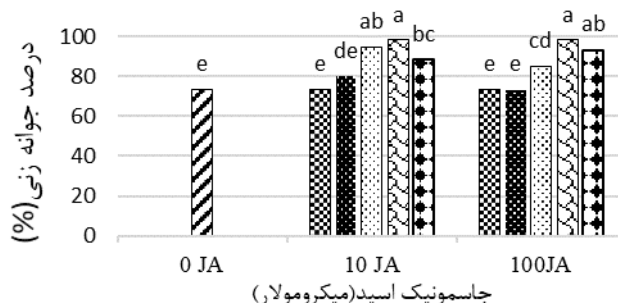
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که غلظت جاسمونات اسید، مدت زمان و اثر متقابل غلظت و مدت زمان پرایمینگ بر درصد معنی دار بود (جدول ۱). نتایج نشان داد بیشترین میزان جوانه زنی را بذره‌های پرایم شده نسبت به بذره‌های پرایم نشده داشت. مشاهده شد با افزایش مدت زمان پرایمینگ تا مدت زمان ۲۴ ساعت، درصد جوانه زنی در سطح ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار جاسمونات به بیشترین میزان خود (۹۸/۳۳ درصد) رسید (شکل ۱). گزارش شده است که پرایمینگ با جاسمونات اسید تولید پلی آمین آزاد را در بافت‌های گیاهی تحریک می‌کند بنابراین جاسمونات به صورت سینرژیم عمل می‌کند و آماده سازی بذر با جاسمونات درصد جوانه زنی را افزایش می‌دهد [17]. نتایج این مطالعه مطابق با یافته‌های [18] است که نشان داند بیشتر شدن مدت زمان پرایمینگ تأثیر مثبتی بر جوانه زنی بذره‌های سرخارگل دارد. [6] گزارش کردند پرایمینگ بذر با متیل جاسمونات منجر به بهبود درصد جوانه زنی بذره‌های برنج شد که این یافته‌ها با نتایج این پژوهش هم‌خوانی دارد.

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر مدت زمان و غلظت پرایمینگ با جاسمونیک اسید بر شاخص های جوانه زنی بذر پروانش

میانگین مربعات							منابع تغییرات
شاخص طولی بنیه بذر	شاخص وزنی بنیه بذر	ارزش جوانه زنی	میانگین زمان جوانه زنی	سرعت جوانه زنی	درصد جوانه زنی	درجه آزادی	
۳۱۴۳۳/۲۹**	۵۴۸۹/۳۴**	۸۷۹۰/۷۲**	۰/۱۷*	۲/۳۲**	۸۰/۱۶۷**	۲	جاسمونیک اسید
۱۶۱۰۵/۲۳**	۱۱۳۵/۹۶**	۳۸۳۸/۴۸**	۰/۳۹**	۱/۱۷**	۴۳۸/۸۹**	۴	زمان
۴۵۲۳/۰۳**	۲۶۹/۲۸ ^{n.s}	۱۳۱۴/۹**	۰/۱۳*	۰/۳۵**	۱۳۶/۳۹**	۸	غلظت×زمان
۲۹۹/۵۸	۶۵	۱۳۳/۰۲	۰/۰۴	۰/۰۳	۲۰/۰۰	۳۰	خطای آزمایش
۵	۱۱	۱۰/۱۹	۴/۵۶	۵/۱۱	۵/۴۸	-	ضریب تغییرات (%)

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

■ T0 ■ T6 ■ T12 ■ T24 ■ T48

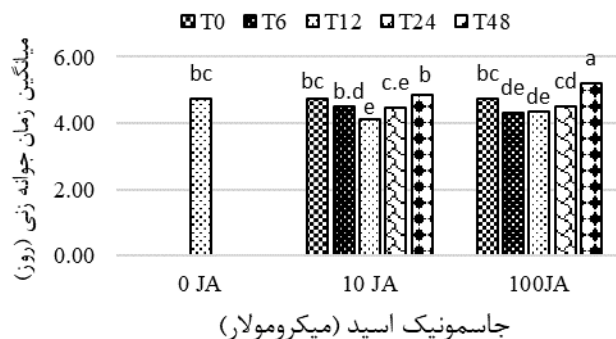


شکل ۱- مقایسه میانگین اثر مدت و غلظت جاسمونیک اسید بر درصد جوانه زنی

سرعت جوانه زنی

نتایج معنی دار بودن اثر غلظت جاسمونات اسید، مدت زمان پرایمینگ و اثر متقابل غلظت و مدت زمان پرایمینگ بر سرعت جوانه زنی را نشان داد (جدول ۱). مشاهده شد سرعت جوانه زنی بذرهای پرایم شده نسبت به بذرهای پرایم نشده بالاتر بود. نتایج افزایش معنی دار سرعت جوانه زنی را با بیشتر شدن مدت زمان پرایمینگ و سطوح غلظت جاسمونات اسید را نشان داد به طوری که بیشترین میزان سرعت جوانه زنی در مدت زمان ۲۴ ساعت پرایمینگ با سطوح ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار جاسمونات اسید مشاهده شد (شکل ۲). گزارش هایی مبنی بر افزایش درصد و سرعت جوانه زنی بذر گیاهان با جاسمونات اسید وجود دارد [19] که با نتایج این مطالعه هم راستا است. [20] گزارش کردند که پرایمینگ بذر در مدت ۲۴ ساعت با هورمون جیبرلین موجب افزایش سرعت جوانه زنی بذرهای پرایم شده استویا می شود. به دلیل طول زمان پرایمینگ، چنین نمو پیدا

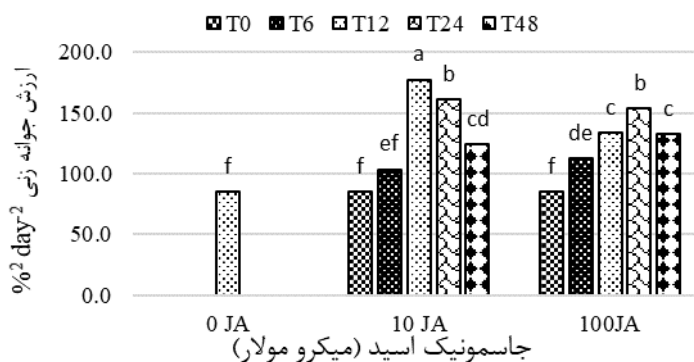
February 2019, Tehran, Iran



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر مدت و غلظت جاسمونیک اسید میانگین زمان جوانه زنی

ارزش جوانه زنی

نتایج معنی دار بودن اثر غلظت جاسمونات اسید، مدت زمان پرایمینگ و اثر متقابل غلظت و مدت زمان پرایمینگ بر ارزش جوانه زنی را نشان داد (جدول ۱). مشاهده شد بذره‌های پرایم شده با جاسمونات اسید نسبت به بذره‌های بدون پرایم بیشترین میزان ارزش جوانه زنی را داشت. نتایج افزایش معنی دار ارزش جوانه زنی را با بیشتر شدن مدت زمان پرایمینگ تا مدت زمان ۱۲ ساعت در غلظت ۱۰ میکرومولار جاسمونات اسید را نشان داد (شکل ۴). [20] گزارش دادند که پرایمینگ بذر موجب افزایش ارزش جوانه زنی بذر می‌شود و تیمار ۲۴ ساعت پرایم بیشترین ارزش جوانه زنی را نشان داد.

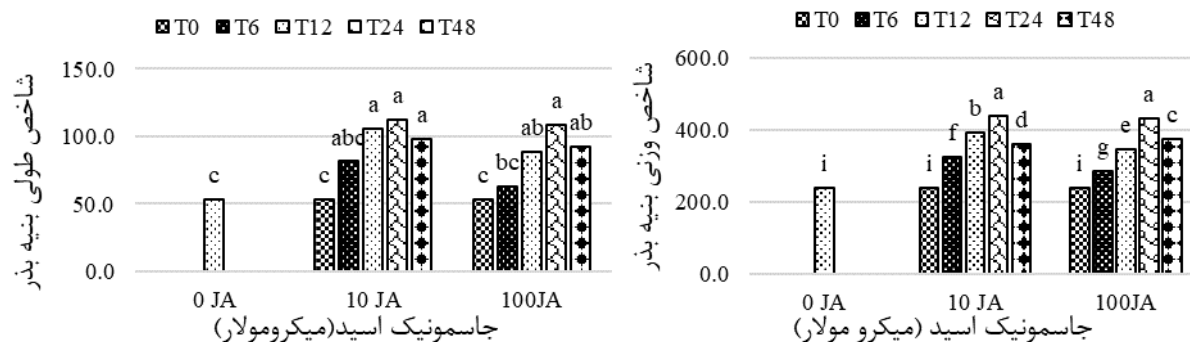


شکل ۴- مقایسه میانگین اثر مدت و غلظت جاسمونیک اسید ارزش جوانه زنی

شاخص وزنی و طولی بنیه بذر

نتایج نشان داد اثر غلظت جاسمونات اسید، مدت زمان پرایمینگ و اثر متقابل غلظت و مدت زمان پرایمینگ بر شاخص وزنی و طولی بنیه بذر معنی دار بود (جدول ۱). مشاهده شد بذره‌های پرایم شده نسبت به بذره‌های پرایم نشده بیشترین میزان شاخص طولی و وزنی بنیه بذر را داشت. نتایج افزایش معنی دار شاخص طول و وزنی بنیه بذر را با افزایش مدت زمان پرایمینگ

و سطوح غلظت جاسمونات اسید را نشان داد به طوری که بیشترین میزان شاخص طولی و وزنی بنیه بذر در مدت زمان ۲۴ ساعت در غلظت ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار جاسمونات اسید مشاهده شد (شکل ۵ و ۶). نتایج این پژوهش مطابق با نتایج پژوهش پروار و همکاران (۲۰۱۴) دارد که گزارش کردند با افزایش مدت زمان پرایمینگ میزان شاخص بنیه بذر افزایش یافت، هم چنین [6] گزارش کردند که پرایمینگ بذر برنج با متیل جاسمونات موجب افزایش شاخص های بنیه بذر شد. شاخص طولی و وزنی بنیه بذر از صفات با ارزش در مطالعات جوانه زنی به شمار می آیند، در نتیجه بذرهایی که درصد و سرعت جوانه زنی بالایی برخوردار باشند دارای بنیه بیشتری خواهند بود. در بررسی اثر پیش تیمار متیل جاسمونات بر طول گیاهچه و وزن تر و خشک برنج گزارش شد که پیش تیمار متیل جاسمونات تأثیر مثبتی بر این صفات داشته و در نتیجه باعث افزایش شاخص های بنیه بذرهایی پرایم شده نسبت به بذرهایی شاهد شده است [6].



شکل ۵، ۶- مقایسه میانگین اثر مدت و غلظت جاسمونیک اسید شاخص طولی و وزنی بنیه بذر

۴. نتیجه گیری

از نتایج به دست آمده از این پژوهش می توان نتیجه گیری کرد افزایش مدت زمان پرایمینگ و غلظت جاسمونات اسید به طور معنی داری بر مولفه های درصد و سرعت جوانه زنی، میانگین زمان جوانه زنی، انرژی جوانه زنی و شاخص طولی و وزنی بنیه بذر تأثیر گذار بود و موجب بهبود این صفات و تسریع جذب آب و جوانه زنی بذرها گردید. بنابراین مطالعه آزمایشگاهی گیاه پروانش در شرایط پرایمینگ حاکی از آن است افزایش سطوح غلظت پیش تیمار جاسمونات اسید سبب بهبود رشد و تسریع جوانه زنی بذرهایی پروانش با افزایش زمان پرایمینگ تا ۲۴ ساعت گردید به طوری که بیشترین میزان شاخص های جوانه زنی در مدت زمان ۲۴ ساعت پرایمینگ در غلظت ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار جاسمونات اسید مشاهده شد.

۵. منابع

1. Nejat, N., Valdiani, A., Cahill, D., Tan, Y.-H., Maziah, M., & Abiri, R. (2015). "Ornamental exterior versus therapeutic interior of Madagascar Periwinkle (Catharanthus roseus): the two faces of a versatile herb." The Scientific World Journal, 2015.

2. Pouramir-Dashtman, F., Khajeh-Hosseini, M., & Esfahani, M. (2014). "Improving chilling tolerance of rice seedling by seed priming with salicylic acid". Archives of Agronomy and Soil Science, 60(9), 1291-1302.
3. Paparella, S., Araújo, S., Rossi, G., Wijayasinghe, M., Carbonera, D., & Balestrazzi, A. (2015). "Seed priming: state of the art and new perspectives". Plant cell reports, 34(8), 1281-1293.
4. Batool, A., Ziaf, K., & Amjad, M. (2015). "Effect of halo-priming on germination and vigor index of cabbage (*Brassica oleracea* var. capitata)." Journal of Environmental and Agricultural Sciences, 2(7), 8pp.
5. Santini, B. A., & Martorell, C. (2013). "Does retained- seed priming drive the evolution of serotiny in drylands? An assessment using the cactus *Mammillaria hernandezii*". American Journal of Botany, 100(2), 365-373.
6. Sheteiwy, M. S., Gong, D., Gao, Y., Pan, R., Hu, J., & Guan, Y. (2018). "Priming with methyl jasmonate alleviates polyethylene glycol-induced osmotic stress in rice seeds by regulating the seed metabolic profile". Environmental and Experimental Botany, 153, 236-248.
7. Taha, H., El-Bahr, M., & Seif-El-Nasr, M. (2009). "In vitro studies on Egyptian *Catharanthus roseus* (L.). II. Effect of biotic and abiotic stress on indole alkaloids production". Journal of Res. Applied Sciences, 5, 1826-1831.
8. Iqbal, M., & Ashraf, M. (2007). "Seed Treatment with Auxins Modulates Growth and Ion Partitioning in Salt- stressed Wheat Plants". Journal of Integrative Plant Biology, 49(7), 1003-1015.
9. Senbagalakshmi, P., Rao, M., & Kumar, T. S. (2017). "In vitro studies, biosynthesis of secondary metabolites and pharmacological utility of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don.: a review *Catharanthus roseus*". (pp. 153-199): Springer.
10. Barkat, M. A., Abul, H., & Rahman, M. A. (2017). "Agricultural, pharmaceutical, and therapeutic interior of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don *Catharanthus roseus*". pp. 71-100: Springer.
11. Kaya, M. D., Okçu, G., Atak, M., Cıkılı, Y., & Kolsarıcı, Ö. (2006). "Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.)". European journal of agronomy, 24(4), 291-295.
12. Panwar, P., & Bhardwaj, S. (2005). "Handbook of practical forestry: Agrobios (India)".
13. Pagter, M., Bragato, C., Malagoli, M., Brix, H., 2009. "Osmotic and ionic effects of NaCl and Na₂SO₄ salinity on *Phragmites australis*". Aquatic Botany, 90(1): 43-51.
14. Ranal, M. A., & Santana, D. G. d. (2006). "How and why to measure the germination process?" Brazilian Journal of Botany, 29(1), 1-11.
15. Abdul-Baki, A. A., & Anderson, J. D. (1973). "Relationship Between Decarboxylation of Glutamic Acid and Vigor in Soybean Seed 1". Crop science, 13(2), 227-232.
16. Ghasemi Gholozani, K., Dalil, B., (2011). "Germination and seed vigor tests". Publications Jahad Daneshgahi Mashhad.

۱۷. طاهره مقبلی و آروین، م. ج. (۱۳۹۲)، "اثر آماده سازی بذر با تنظیم کننده های رشد بر خصوصیات جوانه زنی رشد و عملکرد میوه طالبی،" نشریه تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی، سال چهارم، شماره چهاردهم، ۳۳-۲۳.
18. Paravar, A., Omidi, H., Sadat Esaynezhad, N. and Amirzad, M. (2015). "Effect of hydroperimmunizing on reducing the effects of salinity stress on germination and proline content of seeds of two species of Purple coneflower (*Echinacea angustifolia*) and chicory (*Chicorium intybus*)", *Journal of Seed Research*. 5(4): 33-43.
19. Korkmaz, A., M. Uzunlu and R. Demirkiran. (2007). "Acetyl salicylic acid alleviates chilling-induced damage in muskmelon seedlings". *Canadian Journal of Plant Science* 80: 581-585.
20. Shahverdi, M. A., Omidi, H. & Tabatabaei, S. J. (2017). "Determination of optimum duration and concentration of Stevia (*Stevia rebaudiana* Bert.) seed priming with Boric acid (H3BO3)". *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 4: 24-30.
۲۱. مکی زاده تفتی، م. فرهودی، ر. و راستی فر، م. (۱۳۹۰). "بررسی تأثیر اسموپرایمینگ بر جوانه زنی گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L) تحت تنش شوری،" فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، جلد ۲۷، شماره ۴، ۵۸۶-۵۷۳.
۲۲. فتحی امیر خیز، ک. امید، حشمت. حشمتی، سیاوش. و جعفرزاده، ل. (۱۳۹۱). "بررسی تاثیر تسريع کننده ها بر بنیه بذر و خصوصیات جوانه زنی گیاه دارویی سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) تحت تنش شوری،" نشریه پژوهشهای زراعی ایران، جلد ۱۰ شماره ۲، ۲۹۹-۳۱۰.
23. Foti, R., Abureni, K., Tigere, A., Gotosa, J. & Gere, J. (2008): "The efficacy of different seed priming osmotica on the establishment of maize (*Zea mays* L.) caryopses". *Journal of Arid Environments*, 72, 1127-1130.
24. Brancalion, P., Novembre, A., Rodrigues, R. & Tay, D. (2008): "Priming of *Mimosa bimucronata* seeds-a tropical tree species from Brazil". *Acta Horticulturae*, 782, 163.