ارزیابی پارامترهای بنیه بذر کلزا تحت تاثیر دوره‌های خیس و خشک‌کردن بذور (پرایمینگ)

حشمت امیدی*
* عضو هیات علمی دانشگاه شاهد، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت.
E- mail: heshmatomidi@yahoo.com

چکیده

به منظور ارزیابی تکنیک پرایمینگ بر بنیه بذر و پارامترهای جوانه‌زنی کلزا در شرایط تنش خشکی، مطالعه‌ای بصورت فاکتوریل در قالب کرتهای کاملاً تصادفی در۳ تکرار در آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشگاه شاهد اجرا گردید. ماده آزمایشی شامل بذور ژنوتیپ‌های کلزای RGS، Modena و Okapi و عوامل آزمایشی شامل پرایمینگ پتانسیل اسمزی ۰ (کنترل) ، ۳-، ۶-، ۹-، ۱۲- و ۱۵- bar و تنش خشکی شامل صفر (کنترل) ، ۵-، ۱۰- و ۱۵- bar بود. نتایج نشان داد پرایمینگ و تنش خشکی اثر معنی‌داری بر طول ریشه چه، طول ساقه چه، وزن ترگیاهچه، وزن خشک گیاهچه، میزان جوانه زنی و شاخصهای میانگین مدت زمان جوانه زنی(MGT)، ضریب جوانه زنی(GC)، واریانس میانگین مدت زمان جوانه زنی(VMGT)، همگنی جوانه زنی(UG) و شاخص بنیه بذر (SV) داشت. بطوریکه ژنوتیپ Okapi و RGS بیشترین و کمترین میزان جوانه زنی داشته و پتانسیل اسمزی بالاتر اثر بازدارندگی بیشتری روی رشد ساقه داشت. در شرایط تنش، ژنوتیپ Okapi دارای طول ریشه چه بلندتری بود بطوریکه این امر منتج به افزایش تعداد ریشه های جانبی، نسبت طول ریشه چه به طول ساقه چه بیشتر و مقاومت به خشکی بیشتر آن شد.

کلمات کلیدی: تنش خشکی، پرایمینگ، ژنوتیپ کلزا، بنیه بذر و PEG 6000

مقدمه

کلزا یکی از گیاهان روغنی است که به عنوان نقطه قوتی جهت تامین روغن مورد نیاز کشور و رهایی از وابستگی به شمار می رود. چون کشور ما در منطقه خشک و نیمه خشک قرار دارد بنابراین کمبود آب یکی از موانع اصلی توسعه سطح زیر کشت این گیاه و عامل مهم در کاهش عملکرد آن به شمار می رود. گسترش سریع سطح زیر کشت ژنوتیپ‌های اصلاح شده ضرورت دارد(۸). با توجه به اینکه یکی از حساسترین مراحل رشد گیاه به کمبود آب مرحله جوانه‌زنی بذر میباشد بنابراین جهت توسعه سطح زیر کشت کلزا در کشور بهبود مقاومت به خشکی در مرحله جوانه‌زنی بذر ضروری بنظر می‌رسد. امروزه یکی از روشهای بهبود مقاومت به تنشهای محیطی در مرحله جوانه‌زنی اعمال تیمار خیس کردن و خشک کردن بذور قبل از کاشت میباشد که اصطلاحاً پرایمینگ نام دارد(۳و۱). فرایند خیساندن بذور در مواد اسمزی هوادهی شده در پتانسیل پایین آب برای کنترل مقدار آبی که جذب می نمایند(۴). نمک ها و مانیتول در طیف وسیعی بعنوان مواد اسمزی مورد استفاده قرار می گیرند اما مقداری از آنها جذب بذور می شود. پلی اتیلن گلیکول(PEG) بعنوان مواد اسمزی ترجیح داده می شود و یک ترکیب بی خاصیت با وزن مولکولی بالا(۸۰۰۰-۶۰۰۰ دالتون) است(۱). وزن مولکولی بالای آن مانع ورود به بذر و ایجاد اثرات سمی می باشد. عیب اساسی پلی اتیلن گلیکول(PEG) این است که حلالیت اکسیژن با غلظت آن رابطه معکوس دارد. بنابراین هنگامیکه پلی اتیلن گلیکول طی پروسه پرایمینگ استفاده می شود بایستی محلول اغلب هوادهی گردد(۴و۵). برای توانایی مطلوب بذر برای جوانه‌زنی سریع(seed performance) بذور در دمای ۱۵ درجه سانتیگراد و در مواد اسمزی با پتانسیل اسمزی ۱/۶ – تا ۰/۸ - مگا پاسکال به مدت چند ساعت تا چند هفته قرارگیرند(۳). حفظ پتانسیل آب از طریق روش برادفورد با استفاده از پلی اتیلن گلیکول(PEG) مطلوب است(۱). زیرا اثرات آن ناشی از اثر متقابل آب با گروههای هیدروکسیل(OH) آزاد پلیمر است وPEG در پتانسیل آب پایینتر نسبت به غلظت مولکولی مورد انتظار بهتر عمل می کند(۱و۲). از طرفی هنگامی که بذور طی دوره اسمو پرایمینگ آب جذب می نمایند نهایتا پتانسیل آب پلی اتیلن با دما تغییر می نماید ممکن است محلول پلی اتیلن گلیکول در دمای ۲۰ درجه دارای پتانسیل آب Mpa ۱- باشد اما همین محلول در دمای ۵ درجه سانتیگراد دارای پتانسیل آب Mpa ۱/۱۵- و یا دردمای ۳۵ درجه دارای پتانسیل آبMpa ۰/۸۵- باشد. این روش برای محصولات بذر ریز خوب است و برای محصولات دانه درشت با موفقیت کمتری همراه است(۴). رطوبت مهمترین فاکتور فیزیولوژیک مورد نیاز جوانه زدن بذر بشمار می رود. اما تعیین چه مقدار آب و تحت چه ساختار فیزیکی، مشکل اساسی بنظر می‌رسد. عمل پرایمینگ در واقع نوعی تیمار قبل از کاشت بذر است که بذر در محلول نمک معدنی یا پلی اتیلن گلیکول و یا آب معمولی خیسانده می شود. به طوریکه فعالیت‌های متابولیکی قبل از جوانه‌زنی بدون

خروج ریشه چه انجام شود. این فرایند تاثیر مثبت در کاهش زمان لازم برای جوانه زنی، ظهور گیاهچه، و جوانه زنی نهایی تحت شرایط نامساعد برای بذور با قدرت رشد پایین دارد(۸و۲).

مواد و روشها:

به منظور بررسی عکس العمل شرایط تنش آب بر جوانه زدن بذور ژنوتیپ های کلزا آزمایشی بصورت فاکتوریل در دو مرحله، در در آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد در قالب طرح کرتهای کاملا تصادفی در ۳ تکرار اجرا گردید. مادهٔ آزمایشی، پتری دیش حاوی بذور ژنوتیپ های کلزا و تیمار های آزمایشی شامل سطوح مختلف پتانسیل اسمزی محلول پلی اتیلن گلیکول(PEG 6000) بود. مادهٔ آزمایشی از بذور ۳ ژنوتیپ کلزای RGS، Modena و Okapi تشکیل و در مرحلهٔ اول تحت تاثیر تیمارهایی با پتانسیل اسمزی(پرایمینگ)۰، ۳-، ۶- ، ۹- ، ۱۲- و ۱۵-bar (pa) بر اساس محلول پلی اتیلن گلیکول۶۰۰۰ از رابطه میشل و کافمن(Michel and Kaufman) قرار گرفتند(۶). آزمایش داخل انکوباتور با دمای ۲۰ درجه سانتیگراد انجام شد. در این آزمایش از هر ژنوتیپ۲۵ عدد بذر یکنواخت انتخاب و ضد عفونی شد. در ابتدا بذور جهت ضدعفونی در الکل ۹۹ درصد به مدت ۱۰ ثانیه و بعد از آن در محلول هیپوکلریت سدیم(وایتکس) ۱۰ درصد به مدت یک دقیقه و بالاخره در محلول بنومیل ۲ در هزار به مدت یک دقیقه قرار داده شدند و در نهایت با آب مقطر شستشو گردید. بعد از انجام عمل ضد عفونی بذور داخل پتری دیش هایی (به قطر ۹ و ارتفاع ۱/۵ سانتیمتر) که حاوی دو عدد کاغذ واتمن شماره یک بودند گذاشته شده و هر پتری دیش بعنوان یک تکرار از تیمار مورد آزمایش در نظر گرفته شد. در هر یک از پتری دیش ها به میزان ۱۰ میلی لیتر از محلول دارای پتانسیل اسمزی مورد آزمایش، ریخته بطوریکه بذرها در محلول غوطه ورنبوده و سپس آنها داخل انکوباتور در حرارت ۰/۵ + ۲۰ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. پس از گذشت ۷ روز درصد جوانه‌زنی بذور مشخص (طول ریشه چه ۲ سانتیمتر) سپس از هر پتری دیش ۱۰ نمونه بذر بطور تصادفی انتخاب و طول ریشه چه و سایر صفات اندازه گیری شد. خشک کردن نمونه ها در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد و به مدت ۴۸ ساعت صورت گرفت. میانگین مدت زمان جوانه زنی(MGT) (رابطه۱)، ضریب جوانه زنی(GC) (رابطه۲)، واریانس میانگین مدت زمان جوانه زنی(VMGT) (رابطه۳)، همگنی جوانه زنی(UG) (رابطه۴) و شاخص بنیه بذر (SV) (رابطه۵) توسط روابط زیر برآورد شد(۹). که N_i و D_i بترتیب تعداد بذرهای جوانه زده در روز ام و S و N به ترتیب تعداد بذر کاشته شده سبز و شده می باشد.

$$MGT = \frac{\sum_{i=n}^{mi} NiDi}{\sum Ni} \quad \text{(رابطه ۱)} \qquad GC=(\frac{1}{MGT})*100 \quad \text{(رابطه ۲)} \qquad VMGT=\frac{\sum_{i=1}^{n}(Di-\bar{D})^2 N}{N} \quad \text{(رابطه ۳)} \qquad UG=(\frac{1}{VMGT})*100 \quad \text{(رابطه ٤)}$$

$$\text{واریانس } \sigma_j^2 = \frac{\sum D\bar{i}^2 - \frac{\left(\sum \bar{Di}\right)^2}{n}}{(n_j - 1)} \qquad SVI=MGT*(\frac{\sum Ni}{\sum S}) \quad \text{(رابطه ۵)}$$

نتایج و بحث

طول ریشه چه- نتایج نشان داد که پیش تیمار پرایمینگ در سطح احتمال ۱ درصد روی صفت طول ریشه چه اثر معنی داری داشته است بطوریکه با منفی ترشدن پتانسیل اسمزی (۱۵- بار) میزان رشد ریشه چه از کاهش بیشتری برخوردار گردید. البته در پتانسیل اسمزی ۵- بار طول ریشه چه افزایش و پس از آن با افزایش سطح پتانسیل اسمزی طول ریشه چه کاهش یافت. مقایسه میانگین نشان داد که ژنوتیپ Okapi با ۷/۸ سانتیمتر و ژنوتیپ RGS با ۲/۲۸ سانتیمتر دارای بیشترین و کمترین میزان طول ریشه چه بودند. با افزایش پتانسیل اسمزی، پتانسیل آب کاهش پیدا کرده، لذا آب کمتری در اختیار بذور قرار گرفت. جذب کمتر آب نیز کاهش تورژسانس سلولهای جنین بذر را بدنبال داشته و با توجه به اینکه یکی از فاکتورهای تقسیم سلولی تورژسانس سلولی است، نتیجتاً با کاهش آب قابل دسترس بذر و کاهش تورژسانس، در نهایت رشد ریشه چه کاهش یافت(۱۱و۱۰).

طول ساقه چه- تجزیه واریانس نشان داد بین ژنوتیپ ها، پیش تیمار درسطح احتمال ۱ درصد تفاوت معنی داری وجود دارد و ژنوتیپ Okapi دارای بیشترین و ژنوتیپ RGS دارای کمترین مقدار طول ساقه چه بودند. میانگین طول ساقه چه کمتر از میانگین طول ریشه چه بود. با منفی تر شدن پتانسیل اسمزی، کاهش میزان طول ساقه چه بیشتر بود. بطوریکه سطوح ۵- و ۱۵- بار دارای بیشترین (۲/۵ سانتی متر) و کمترین (۲ سانتی متر) میزان طول ساقه چه بودند. اثر متقابل ژنوتیپ و پیش تیمار درسطح احتمال ۱ درصد معنی دار گردید و ژنوتیپ Okapi در سطوح صفر و ۱۵- بار و ژنوتیپ RGS در سطح پتانسیل اسمزی ۱۵- بار به ترتیب دارای بیشترین و کمترین میزان طول ساقه‌چه بوده اند. پتانسیل اسمزی مرحله جوانه زدن از نظر طول ساقه چه معنی دار گردید و سطوح ۳- و ۱۵- بار دارای بیشترین و کمترین میزان بودند.

وزن خشک گیاهچه- پرایمینگ، تنش خشکی و ژنوتیپ اثر معنی داری روی صفت وزن گیاهچه داشته و پتانسیل ۵- بار و صفر بار بترتیب دارای بیشترین و کمترین میزان وزن خشک گیاهچه بودند و برتری با ژنوتیپ Okapi بود. پتانسیل اسمزی ۶- و ۹- بار و پتانسیل اسمزی ۱۵- بار بیشترین و کمترین میزان بودند. اثر متقابل ژنوتیپ و تنش خشکی معنی دار گردید (جدول۱). پتانسیل اسمزی بالاتر از حد (تنش خشکی) سبب سنتز بیشتر ترکیبات با وزن مولکولی پایین نظیر اسید آمینه پرولین (۱۱) و از سنتز سایر ترکیبات با وزن مولکولی بالاتر نظیر پرتئین ها کاسته شده لذا وزن خشک گیاهچه کاهش می یابد(۱۰و۵). اثر متقابل ژنوتیپ، پیش تیمار و تنش خشکی معنی‌دار و ژنوتیپ Okapi در پتانسیل ۶- بار پیش تیمار و ۱۰- بار خشکی دارای بیشترین وزن خشک گیاهچه و ژنوتیپ RGS در پیش تیمار ۱۵- بار و تنش صفر بار و ژنوتیپ Modena در پتانسیل پیش تیمار۱۵- و ۱۵- بار تنش دارای کمترین میزان وزن خشک بودند.

میزان جوانه زنی- پرایمینگ تفاوت معنی داری داشت، بطوریکه با منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی، میزان جوانه زنی بذور با کاهش بیشتری روبرو گردید. البته در سطوح پایینی پتانسیل تفاوت معنی داری دیده نشد. مقایسه میانگین نشان داد که ژنوتیپ Okapi و RGS بیشترین و کمترین میزان جوانه زنی داشتند. ژنوتیپ Okapi در پتانسیل صفر و ۵- بار و ژنوتیپ Modena در پتانسیل ۶- بار برتری و ژنوتیپ RGS در پتانسیل ۶- بار کاهش نشان داد.

میانگین مدت زمان جوانه زنی- متوسط مدت زمان جوانه زنی مرتبط با مدت زمانی(روز) است که ریشه چه خارج می گردد. هر چه مقدار عددی آن کوچکتر باشد نشان از جوانه زنی سریعتر می باشد(۱). نتایج نشان داد که بین ژنوتیپ تفاوت معنی داری دیده نشد، اما ژنوتیپ Okapi و RGS بترتیب با ۳/۲ و ۳/۶ روز دارای کمترین و بیشترین مدت زمان بودند. بعبارتی بطور متوسط ژنوتیپ Okapi در مدت ۳/۲ روز و ژنوتیپ RGS در مدت ۳/۶ روز جوانه می‌زنند.

جدول ۱: میانگین مربعات تجزیه واریانس پارمترهای جوانه زنی ژنوتیپ های کلزا.

منابع تغییرات S.O.V	d.f	طول ریشه چه	طول ساقه چه	میزان جوانه زنی	وزن خشک گیاهچه	میانگین مدت زمان جوانه‌زنی
ژنوتیپ های	۲	۶۳۷/۰۱۲**	۲۱/۶۰۵**	۱/۳۸۹**	۱/۵۵۹**	۳/۲۵۴ ns
پیش تیمار(پرایمینگ)	۵	۱۰۳/۹۹۷**	۱۱/۳۹۲**	۰/۰۷۳**	۰/۸۱۰**	۰/۶۲۸**
تنش خشکی	۳	۵۰/۱۳۹**	۲/۹۷۹**	۰/۰۰۳**	۰/۹۹۹**	/۶۴۱ns
ژنوتیپ * تنش خشکی	۶	۲۳/۳۵۶**	۳/۲۲۲**	/۰۹۵**	۰/۰۳۶**	/۱۰۳**
ژنوتیپ * پیش تیمار	۱۰	۱۹/۱۷۸**	۳/۹۰۷**	/۰۳۳**	۰/۳۴۷**	/۱۳۴**
تنش خشکی * پیش تیمار	۱۵	۵/۵۱۷**	۲/۶۰۷**	/۰۳۹**	۰/۱۸۱**	/۰۴۳**
تنش خشکی*پیش تیمار *ژنوتیپ	۳۰	۷/۴۸۰**	۲/۱۳۸**	۰/۰۳۴**	۰/۱۷۰**	/۰۶۵**
خطا	۱۴۴	۰/۳۳۹	۰/۰۹۹	۰/۰۰۵	۰/۰۲۶	۰/۰۱۷
ضریب تغییرات(٪) (CV)		۱۳/۲۲	۱۴/۳۴	۸/۹۵	۱۹/۳۰	۳/۷۲

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

جدول۲: مقایسه میانگین خصوصیات جوانه زنی ژنوتیپ های کلزا

ژنوتیپ	طول ریشه چه(cm)	طول ساقه چه(cm)	وزن خشک گیاهچه gr)	میزان جوانه زنی	مدت زمان جوانه‌زنی(روز)
RGS	۲/۲۸ c	۱/۷۹ c	۰/۷۳b	۰/ ۶۱b	۳/۶۸ a
Modena	۳/۱۲ b	۱/۹۷ b	۰/۷۷ B	۰/۸۱ab	۳/۴۶a
Okapi	۷/۸a	۲/ ۸۱a	۱ a	/۸۷a	۳/۲۵a
پیش تیمار (بار)					
۰	۲/۹۶d	۲/۱۹c	۰/۹۴ab	۰/۷۵b	۳/۵۰b
-۳	۶ /۰۳ a	۲/۷۶a	۰/۷۶D	۰/۸ a	۳/۳۴d
-۶	۶/۱۲A	۲/۷a	۰/۸۹B	۰/۸۲a	۳/۳۵ d
-۹	۴/۹۵B	۲/۲۹b	۱A	۰/۷۷ab	۳/۴۱ c
-۱۲	۴/۴۹C	۲/۲۰c	۰/۸۴C	۰/۷۵b	۳/۴۷ b
-۱۵	۱/۶۸E	۱/۱۴d	۰/۵۸e	۰/۶۹c	۳/۷ a
تنش خشکی (بار)					
۰	۴/۴۲ b	۲/۵۷a	۰/۶۹c	۰/۸۵a	۳/۳۵ d
-۵	۵/۵۱a	۲/۵۴a	۱/۰۱ A	۰/۷۹ab	۳/۴۱ c
-۱۰	۴/۵۲ b	۲/۰۹b	۰/۸۶b	۰/۷۵b	۳/۴۷ b
-۱۵	۳/۱۶ c	۲/۰۶b	۰/۷۸bc	۰/۶۹c	۳/۷ a

میانگین های دارای حروف مشترک در هر ستون مطابق آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی دار ندارند

جدول۳: مقایسه میانگین خصوصیات بنیه بذردر سطوح مختلف تنش خشکی.

تنش خشکی (بار)	میانگین مدت زمان جوانه‌زنی	درصد جوانه زنی	واریانس جوانه زنی	یکنواختی جوانه زنی
۰	۲/۴۲a	۹۵/۵۷A	۰/۱۲۶۹ c	۸۶/۵۴ a
-۵	۲/۵۱B	۸۴/۵۴A	۰/۱۰۶۱ a	۷۶/۶۷ b
-۱۰	۴/۵۲ C	۶۵/۰۹b	۰/۰۸۶۰a	۵۴/۴۵ c
-۱۵	۵/۱۶ D	۴۴/۰۶C	۲/۷۸bc	۴۲/۱۲ d

میانگین های دارای حروف مشترک در هر ستون مطابق آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی دار ندارند

منابع و مراجع مورد استفاده

Bradford, M., Kent, J., 1995. I. Water relation in seed germination. 351-396. II. Water potential: the key to successful seed priming). Plant Physiology. 1416-1419.

Delachiave, M.E.A., Pinho, S.Z., 2003. Germination of Senna Occidentalis link: seed at different osmotic potential levels. Brazilian Arch. Boil. Technol. 46(2): 163-166.

Fujitakura, Y., Kraak, H. L., Basra, A., 1993. Hydropriming, a simple and inexpensive priming method. Seed science and Technology, 21: 3, 639-642.

Hsu, S.Y., Hsu, Y.T., Kao, C.H., 2003. The effect of polyethylene glycol on proline accumulation in rice leaves. Biologia Plantarum 46, 73–78.

Jeet, L., Welbaum, G., Morse, R., 1996. Does primed seed improve stand establishment and yield of broccoli? HortTechnology, 5: 314-317.

Michel, B.E., Kaufmann, M.R., 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. Plant Physiol 51; 914-916.

Nishiyama, N., Suzuki, K., Nagatsuka, A., Yokota, I., Nemoto, K., 2003. Dissociation states of collagen functional groups and their effects on the priming efficacy of HEMA bonded to collagen. Biomat. Bioeng. 82, 257–261.

Omidi, H., Soroushzadeh, A., Salehi A., Dinghezeli F., 2005. Osmopriming on rapeseed (Brassica napus L.) germination. Agriculture industrial and science journal. 19. 2. 125-137P.

Shekari, F., Javanshir, A., 2000. Enhancemente of canola seed germination and seedling emergence inlow water potentials by priming. Journal of Field Crop (Turkish), 5: 54-60.

Xirong, O., Voorthuysen, T. V., Toorop, P. E., Henkw, M. H., 2002. Seed vigor, aging and osmopriming affect anion and sugar leakage during imbibition of maize (Zea mays L.) caryopses. Int. J. Plant Sci, 163(1): 107-112.
Yamamoto, A., Turgeon, J., Duich, J. M., 1997. Field emergence of solid matrix seed primed Turfgrasses. Crop Sci, 37: 220-225.