Archive of SID

آفات و بیماری های گیاهی
جلد ۷۱، شماره ۲، اسفند ۱۳۸۲

بررسی برخی از عوامل مؤثر برخفتگی بذر یولاف وحشی (*Avena ludoviciana* Durieu)

An investigation on factors affecting seed dormancy in wild oats (*Avena ludoviciana* Durieu).

حمیرا سلیمی و مه لقا قربانلی
موسسه تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی و دانشگاه تربیت معلم.
(تاریخ دریافت : تیر ۸۱ تاریخ پذیرش : دی ۸۲)

چکیده

یولاف وحشی (*Avena ludoviciana* Durieu) یکی از علف‌های هرز مهم غلات خصوصا گندم است که بذرهای آن به صورت خفته در خاک باقی مانده و هر ساله تعدادی از آن‌ها جوانه زده و آلودگی ایجاد می نمایند. در این پژوهش عوامل مؤثر بر خفتگی بذر مورد بررسی قرار گرفت. با کشت رویان جدا شده از بذرهای خفته، جوانه‌زنی کامل مشاهده شد که ثابت نمود رویان فاقد خفتگی است و بنابر این علت خفتگی در جایی خارج از رویان قرار داشت. نتایج نشان داد دو عامل در ایجاد خفتگی بذر دخالت داشتند. اولین عامل سبوسه بود که به طریق مکانیکی از جوانه‌زنی بذر جلوگیری نمود و عامل دوم لایه آلورون موجود در گندمه بود که با کاهش انتقال آب و در نتیجه دستیابی کمتر رویان به آب جهت رشد باعث خفتگی گردید. الکتروفورز پروتئین به روش SDS- PAGE ، ۸ نوار پلی پپتیدی را در بذرهای خفته نشان داد. چهارنوار دارای وزن مولکولی بیش از ٦٦٠٠٠دالتون بودند. وزن مولکولی چهار نوار دیگر ٥٣٣٨٠، ٤٦٥٠٥، ٣٨٦٩٥ و ٢٠٣٣٤ دالتون بود. در بذرها غیر خفته نیز دو نوار پلی

www.SID.ir

Archive of SID

پپتیدی با وزن مولکولی ۳۲۱۹۷ و ۲۵۵۸۷ دالتون مشاهده گردید. وجود نوارهای پلی پپتیدی متفاوت در بذرهای خفته و غیرخفته احتمال دخالت ژن‌ها را در پدیده خفتگی نشان داد.

واژه های کلیدی : یولاف وحشی، بذر، خفتگی، جوانه زنی، فیزیولوژی.

مقدمه

Avena ludoviciana یکی از علف‌های هرز مهم مزارع محسوب می شود. بذرهای آن دارای دوره خواب طولانی است که موجب ابقای گیاه و ماندگاری آن در مزارع می شود. بذر یولاف وحشی دارای قسمت های زیر در اطراف رویان است ۱- سبوسه (glumels) ۲- قسمت های موجود در میوه گندمه(caryopsis) که شامل پیرابر (pericarp) و اندوخته (endosperm) است. لایه آلورون آخرین لایه اندوخته است که در زیر پیرابر قرار دارد. بذرهاعلف‌های هرز با داشتن انواع مختلف خواب و باقی ماندن طویل المدت در خاک باعث مشکلاتی در امر کشاورزی شده است. وجود خواب در بذرها و تنوع در جوانه‌زنی آنها معمولا به عنوان مانع اصلی در کنترل گیاه شناخته ایجاد شده اند. فهم انواع خفتگی وشناخت راه های طبیعی شکستن آن از نظر اقتصادی حایز اهمیت است، Hsiao و همکاران (1983)، Johnson (1935) وAtwood (1914) معتقد بودند که خفتگی در بذر *A. fatua* مربوط به غیر قابل نفوذ بودن پوشش بذر به اکسیژن است. اما تحقیقات بعدی نظریه فوق را مردود شناخت، Naylor & Christe (1957) (Simmonds & Simpson, 1971). دریافتند که سبوسه موجود در اطراف بذر *A. fatua* موجب کاهش درصد جوانه‌زنی می گردد. Black (1959) نشان داد که سبوسه در گندمیان به سه طریق در خفتگی مؤثر است : ۱- در برداشتن بازدارنده های رشد ۲- جلوگیری از تبادل گاز ۳- جلوگیری از بیرون رفتن بازدارنده های موجود در گندمه. Simmonds & Simpson (1971) نشان دادند که خواب بذر در *A. fatua* حاصل عدم جذب اکسیژن نبوده و میزان جذب اکسیژن بین رویان های جدا شده خفته و غیرخفته قبل از جوانه‌زنی یکسان می باشد. Naylor (1966) نشان داد که در آلورون جدا شده از بذر *A. fatua* سنتز α آمیلاز توسط ژیبرلین یا مخلوطی از آمینواسیدها و قند شروع می گردد. Bailin &

www.SID.ir

Archive of SID

Foley (1994) تفاوت نوارهای پلی پپتیدی را در بذرهای خفته و غیرخفته ی *A. fatua* نشان دادند.

با شناخت عامل یا عوامل ایجاد کننده خفتگی می توان ابزار مؤثر در حذف خواب را پیدا نمود وبذرها را به جوانه‌زنی واداشت، سپس با اعمال روش های مختلف شیمیایی و غیرشیمیایی گیاهچه های آنها را یکباره از بین برد و از ایجاد بانک بذر درخاک جلوگیری نمود.

روش بررسی

۱- آزمایش های جوانه‌زنی درون تشتک پتری

بذرها یولاف وحشی پس از جمع آوری از مزارع گندم دشت مغان مورد آزمایش قرار گرفت. بذرهای زیرین و زبرین موجود در یک سنبلچه از یکدیگر جدا شد و سپس صد عدد از آن‌ها درون تشتک پتری به قطر ۱۵ سانتی متر و حاوی یک عدد کاغذ صافی واتمن شماره یک قرار گرفت و ۸ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه شد و در صورت کاهش آب، مجددا آب مقطر اضافه گردید. مدت زمان لازم جهت جوانه‌زنی بذر در ژرمیناتور با دمای ۱۵° C و تاریکی، دو هفته در نظر گرفته شد. سبوسه به طور کامل با دست برداشته شد. ایجاد سوراخ در سبوسه و ایجاد حفره در گندمه به کمک یک سوزن نازک انجام پذیرفت. رویان از کل پوشش‌ها با کاردک تیز جدا شد. آزمایش‌ها در چهار تکرار انجام وطرح آماری آنها کاملا تصادفی انتخاب گردید. با توجه به اینکه داده های آزمایش به صورت در صد بود، ابتدا تبدیل آرک سینوس(Arcsin) روی آنها انجام شد و سپس درتجزیه واریانس مورد استفاده قرار گرفت، Conn (1990). تفسیر نتایج به کمک تجزیه واریانس وآزمون LSD صورت گرفت و برای آزمایش های دو تیماره از آزمون t-test استفاده شد. در آزمایش اول جهت تعیین خفتگی در قسمت های مختلف بذر از بذرها تازه برداشت شده(یک هفته پس از برداشت) استفاده گردید. در این آزمایش سه تیمار در چهار تکرار وجود داشت تیمارها شامل کشت رویان، گندمه (بذر بدون سبوسه) وبذر کامل(بذر دارای سبوسه) بود. در آزمایش دوم و سوم جهت بررسی چگونگی تاثیر سبوسه در ایجاد خفتگی به ترتیب از دو و سه تیمار در چهار تکرار

www.SID.ir

Archive of SID

استفاده شد در آزمایش دوم کشت بذر کامل و کشت گندمه همراه با سبوسه اضافه شده در محیط و در آزمایش سوم کشت بذر کامل، بذرها با سبوسه سوراخ شده در جلو ریشه چه و بذرها با سبوسه سوراخ شده درمکانی غیر از جلو ریشه چه به عنوان تیمارهای آزمایش در نظر گرفته شد، Metzger (1992). در آزمایش چهارم جهت تعیین مقدار آب بذر و تاثیر پوشش های بذر در نفوذ آب از بذر کامل و گندمه مرطوب شده، بذر کامل و گندمه خشک و بذر مرطوبی که دارای منفذ بر روی سبوسه بود به عنوان پنج تیمار استفاده شد. آزمایش پنجم و ششم برای بررسی وجود مواد شیمیایی در پوشش های بذر و تاثیر آن در خفتگی انجام گردید. در آزمایش پنجم از رویان به تنهایی و قرار دادن مجدد رویان در کنار بخش جدا شده به عنوان دو تیمار و در آزمایش ششم از گندمه سالم، گندمه‌ای که در جلو ریشه چه سوراخ شده بود و گندمه‌ای که در کنار لپه سوراخ شده بود به عنوان سه تیمار استفاده شد. در آزمایش هفتم جهت بررسی تاثیر پوشش های رویان در نفوذ اکسیژن ازگندمه‌ای که دارای منفذ باز و نیز گندمه‌ای که دارای منفذ پوشیده با خمیر لانولین بود به عنوان دوتیمار استفاده گردید.

۲- تعیین زیستایی (viability) بذر یولاف وحشی (tetrazolium chloride test)

پس از حذف سبوسه، یک سوم بذرکه دارای رویان بود با برش مورب جدا گردید وبه تعداد ۱۰۰ عدد در چهار تکرار در محلول یک در صد تترازولیوم کلراید درون انکوباتور با دمای ۳۰°C و تاریکی مطلق به مدت ٤٨ ساعت قرار گرفت Esno (1966). با آزمایش فوق درصد بذرهای زنده (viability) به ترتیب ۹۸ و ۹۹ در صد برای بذرهای زیرین و زبرین بدست آمد.

۳- تعیین درصد آب بذر

جهت تعیین درصد آب بذرهایی که تحت تیمارهای مختلف قرار گرفته بودند، پس از توزین اولیه، درآون با دمای ٦٥° C به مدت ٤٨ ساعت خشک شدند. پس از توزین مجدد درصد آب بر اساس وزن خشک از فرمول زیر محاسبه گردید، Hsiao (1979).

وزن تر / ۱۰۰ × (وزن خشک - وزن تر) = میزان درصد آب

www.SID.ir

Archive of SID

٤- تهیه مواد برای الکتروفورز

الف ـ آماده سازی نمونه ها

بذرهای یک ساله و غیرخفته با بذرهای تازه برداشت شده و خفته که قبلا در شرایط بهینه جوانه‌زنی قرار گرفته بودند و وجود خفتگی و یا عدم خفتگی در آن‌ها بررسی شده بود (Salimi & Ghorbanli, 2001) مورد مقایسه قرار گرفتند و چهار حالت زیر جهت الکتروفورز درنظر گرفته شد : ١- بذرهای زیرین خفته (A) ٢- بذرهای زیرین غیرخفته (B) ٣- بذرهای زبرین خفته (C) ٤- بذرهای زبرین غیرخفته (D).

ب ـ استخراج پروتئین‌ها و الکتروفورز

درهر بار استخراج ٠/٥ گرم بذر که قبلا درهاون و در دمای ٤° C-٠ ساییده شده بود با ٥ میلی لیتر بافر استخراج Tris – Gly در دمای ٤° C-٠ مخلوط و به مدت ١٠ دقیقه ساییده شد. سپس محلول حاصل به مدت ٦٠ دقیقه در ١٨٠٠٠ دور در دقیقه سانتریفوژگردید. محلول رویی پس از سانتریفوژ جدا ودر ویالهای کوچک در فریزر(٢٠° C -) نگهداری شد. بخشی از محلول نیز جهت سنجش میزان پروتئین آن استفاده گردید. سنجش پروتئین و آماده سازی ژلهای پلی آکریل آمید از محلول های استوک و TEMED در الکتروفورز به روش SDS-PAGE، (Gomori, 1955) انجام گردید. با اندازه گیری تحرک نسبی (Relative mobility: RM) نوار های حاصل از جدا سازی پروتئین ها، معادله خط به طریقه آماری به دست آمد و جرم مولکولی نوارهای پلی پپتیدی تعیین شد.

نتیجه و بحث

١- شناخت عوامل درونی مؤثر بر ایجاد خفتگی در قسمت های مختلف بذر

آزمایش اول : استفاده از بذرهای تازه برداشت شده

در بذرهای زیرین جوانه‌زنی رویان های جدا شده با جوانه‌زنی گندمه و بذرهاکامل (شاهد) تفاوت معنی دار داشت ولی جوانه‌زنی گندمه با شاهد تفاوت معنی دار نشان نداد. در بذرهای زبرین تفاوت معنی دار بین هر سه تیمار وجود داشت. در بذرهای تازه برداشت شده،

www.SID.ir

Archive of SID

رویان‌ها کاملا از نظر فیزیولوژیک و تشریحی بالغ و رسیده بود و حتی خفتگی اولیه در آنها وجود نداشت، (جدول ۱).

جدول ۱- تعیین مکان عامل خفتگی در بذرهای یولاف وحشی

Table 1. Determination of the site of seed dormancy factor on *Avena ludoviciana*

تیمار Treatment	بذرهای زیرین Lower seed	بذرهای زبرین Upper seed
شاهد (Con.)	4b	0c
گندمه (Caryopsis)	8b	3.5b
رویان (Embryo)	99.5a*	97a
LSD 5%	10.6395	8.957

* میانگین هایی که دارای حروف مشترک هستند از نظر آماری تفاوت معنی دار ندارند.

* The means with common sings are not signify cantly different.

۲- بررسی چگونگی تاثیر سبوسه در ایجاد خفتگی

آزمایش دوم : اضافه نمودن سبوسه درمحیط اطراف بذرهای بدون سبوسه

بین جوانه‌زنی بذرهای کامل (دارای سبوسه) و گندمه های بدون سبوسه‌ای که در محیط اطرافشان سبوسه اضافه شده بود از لحاظ آماری اختلاف معنی داری در سطح ۵ در صد

جدول ۲- بررسی تاثیر شیمیایی سبوسه درخفتگی بذرهای یولاف وحشی. اضافه نمودن سبوسه درمحیط اطراف میوه گندمه

Table 2. Chemical effect of glumels in seed dormancy. Adding glumel on around of caryopsis in petri dishes

تیمار Treatment	بذرهای زیرین Lower seed	بذرهای زبرین Upper seed
(Con.)	78.55b*	11b
Tre.	99a	30.75a
	P<0.05sig	P<0.05sig

*میانگین هایی که دارای حروف مشترک هستند از نظر آماری تفاوت معنی دار ندارند

* The means with common sings are not signify cantly different.

Con = Intact seed بذر کامل

Tre.=Adding glumels on around of caryopsis. گندمه + سبوسه اضافه شده در محیط تشتک پتری

www.SID.ir

Archive of SID

مشاهده شد. (جدول۲). به طوری که گندمه هایی که سبوسه در اطراف آنها قرار داشت در صد جوانه‌زنی بیشتری داشت.

آزمایش سوم : ایجاد منفذ بر روی سبوسه ودرجلو ریشه چه

ایجاد سوراخ بر روی سبوسه و در جلو ریشه چه جوانه‌زنی را نسبت به بذرهاسالم و نیز بذوری که سبوسه آنها در مکانی به غیر از جلو ریشه چه سوراخ شده بود به طور معنی داری افزایش داد. (جدول ۳).

جدول ۳- بررسی چگونگی تاثیر سبوسه در خفتگی بذرهای یولاف وحشی. ایجاد منفذ بر روی سبوسه

Table 3. Effect of glumel on seed dormancy. Puncturing on glumel

تیمار Treatment	بذرهای زیرین Lower seed	بذرهای زبرین Upper seed
A	44b*	1.5b
B	91.25a	53.5a
C	45.5b	1.75b
LSD 5%	4.846	8.275

*میانگین هایی که دارای حروف مشترک هستند از نظر آماری تفاوت معنی دار ندارند

* Means with common sings are not signify cantly different.

A =Intact seeds (شاهد) بذرهاسالم

B=Seeds with puncturing on glumel near radicle. بذرهای دارای منفذ برروی سبوسه ودرجلوریشه چه.

C=Seeds with puncturing on glumel not near radicle.

بذرهای دارای منفذ برروی سبوسه درقسمتهایی به غیر از جلو ریشه چه

آزمایش چهارم : بررسی امکان ایجاد خفتگی توسط سبوسه با جلوگیری ازانتقال آب به رویان

دو گروه بذرهای سالم و بذرهای کامل دارای منفذ برروی سبوسه که هر دو عمل جذب آب انجام داده بودند مقدار آب یکسانی داشتند و دریک گروه قرار گرفتند (گروه a). بذرهای بدون سبوسه (گندمه) که عمل جذب آب انجام داده بودند نیز در گروه دوم قرار گرفتند

www.SID.ir

Archive of SID

(گروه b). بذرهای سالم و بذرهای بدون سبوسه‌ای (گندمه) که جذب آب انجام نداده بودند آب کمتری نسبت به دو گروه فوق دارا بودند ودرگروه سوم قرار گرفتند (گروهc)(جدول ٤).

Table 4. Determination of water percent in seeds. جدول٤- تعیین درصد آب موجود در بذر

تیمار Treatment	بذرهای زیرین Lower seed	بذرهای زبرین Upper seed
جذب آب - بذر سالم Intact seeds – Imbibition	6.09c*	5.93c
جذب آب + بذر سالم Intact seeds + Imbibition	37.73a	35.33a
جذب آب+بذر دارای منفذ برروی سبوسه Punctured glumel + Imbibition	40.10a	37.72a
جذب آب+ میوه گندمه Caryopsis + Imbibition	27.71b	29.78b
جذب آب - میوه گندمه Caryopsis – Imbibition	6.71c	6.61c
LSD 5%	1.195	1.565

*میانگین هایی که دارای حروف مشترک هستند از نظر آماری تفاوت معنی دار ندارند

* Means with common sings are not signify cantly different.

۳- بررسی چگونگی تاثیرگندمه و پوشش های موجود در آن در ایجاد خفتگی

آزمایش پنجم : قرار دادن رویان های جدا شده در کنار نیمه دوم گندمه

نظر به اینکه تاثیر پوشش های گندمه (پیرابر و سلول های اندوخته ای) درایجاد خفتگی ممکن است به طریقه فیزیکی، شیمیایی ویا هر دو آنها باشد، رویان از گندمه جدا گردید و سپس مجددا در کنار هم قرار گرفتند. درصد جوانه‌زنی رویان های جدا شده با رویان های جدا شده‌ای که در کنار نیمه دیگر گندمه قرار گرفته بود مقایسه گردید. نتایج نشان داد درصد جوانه‌زنی آنها تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد نداشت و جوانه‌زنی در هر دو تیمار در صد بالایی را نشان داد (جدول ۵).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۵- بررسی چگونگی تاثیر گندمه در ایجاد خفتگی بذرهایولاف وحشی. قرار دادن رویان های جدا شده در کنار نیمه دوم گندمه

Table 5. Effect of pericarp and endosperm on seed dormancy. The embryo put near the second half of caryopsis

تیمار Treatment	بذرهای زیرین Lower seed	بذرهای زبرین Upper seed
(Con.)	98.25	97
Tre.	98	97
	P>0.05n.s	P>0.05n.s

Con. = embryo (شاهد) رویان جدا شده

Tre.= The embryo put near the second half of caryopsis.

قرار دادن رویان های جدا شده درکنار نیمه دوم گندمه.

آزمایش ششم : ایجاد منفذ بر روی گندمه

درصد جوانه‌زنی گندمه های سالم(شاهد) به طور معنی دار کمتر از گندمه های سوراخ شده بود وهر دو نوع سوراخ ایجاد شده در گندمه موجب افزایش یکسانی در جوانه‌زنی گردید. به طوری که تفاوت معنی دار بین گندمه هایی که در کنار ریشه چه سوراخ شده بودند با گندمه‌هایی که درجلو لپه سوراخ شده بودند مشاهده نگردید. (جدول ٦).

جدول ٦- بررسی چگونگی تاثیر پوشش های موجود در گندمه در ایجاد خفتگی بذرهای یولاف وحشی. ایجاد منفذ بر روی گندمه

Table 6. Effect of pericarp and endosperm on seed dormancy. Puncturing on caryopsis

تیمار Treatment	بذرهای زیرین Lower seed	بذرهای زبرین Upper seed
Con.	55b*	14b
B	100a	60a
C	100a	61.25a
LSD 5%	10.620	3.99

*میانگین هایی که دارای حروف مشترک هستند از نظر آماری تفاوت معنی دار ندارند

* Means with common sings are not signify cantly different.

Con.= Intact seeds (شاهد) بذر سالم

A= Seeds punctured near the scutellum بذر دارای سوراخ در جلو لپه

B = Seeds punctured near the radicle بذر دارای سوراخ درکنار ریشه چه

www.SID.ir

Archive of SID

آزمایش هفتم : پوشانیدن منفذ ایجاد شده درگندمه توسط خمیرلانولین

درصد جوانه‌زنی بذرهایی که منفذ موجود در سطح گندمه آن‌ها بـا خمیـر پوشـیده شـده بـود تفاوتی با بذرهایی که دارای منافذ باز بودند نداشت. (جدول ۷).

جدول ۷ – بررسی چگونگی تاثیر گندمه در ایجاد خفتگی بذرهایولاف وحشی. پوشانیدن منافذ ایجاد شده در گندم توسط خمیر لانولین

Table 7. Effect of caryopsis in seed dormancy. Covering of hole by lanolin

تیمار Treatment	بذرهای زیرین Lower seed	بذرهای زبرین Upper seed
(Con.)	99.25	57.75
Tre.	99	56.75
	P>0.05n.s	P>0.05n.s

Con. = Not covered بذر دارای منفذ باز

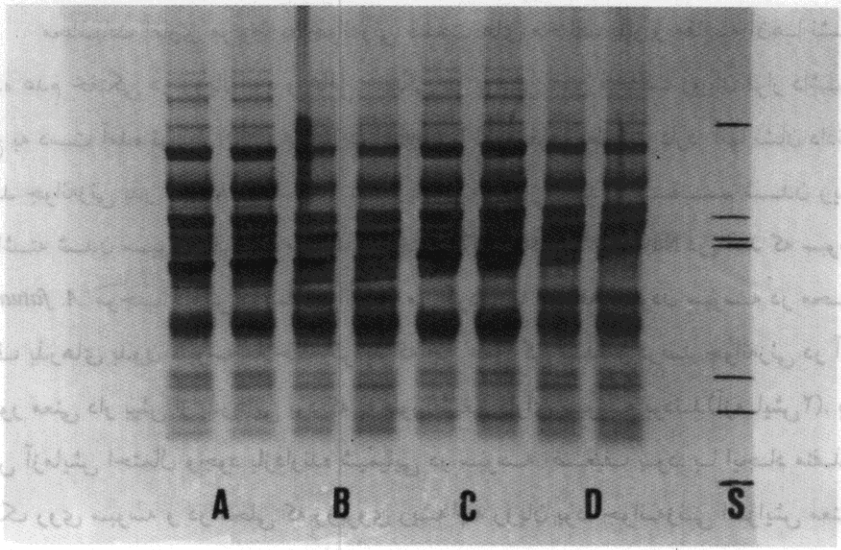
Tre. = Covered by lanolin. بذری که منفذ آن با لانولین پوشیده شده بود

٤ – بررسی تغییرات پروتئین های بذر یولاف وحشی دراثر شکستن خفتگی

با توجه به شکل ۱ و جدول ۸ در بذرهای خفته ۸ نوار اختصاصی وجود داشـت کـه بذرهای غیر خفته فاقد آن بود. با توجه به این جدول در بذرهای خفته چهار نوار پلی پپتیـدی سنگین (بیش از ٦٦۰۰۰ دالتون) وجود داشت که در ابتدا و قبل از بقیـه نوارهـا جـدا شـده و چهار نوار بعدی به ترتیب دارای وزن مولکولی ۵۳۳۸۰، ٤٦٥۰٥،۳۸٦۹٥و ۲۰۳۳٤ دالتون بودنـد. بذرهای غیرخفته دارای نوارهایی با وزن مولکولی کمتر بودند کـه وزن آنهـا ۳۲۱۹۷ و ۲٥٥۸۷ دالتون بود.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- مقایسه نوارهای پلی پپتیدی تفکیک شده برروی ژل پلی آکریل آمید در بذرزیرین و زبرین خفته (C, A). وبذر زیرین و زبرین غیر خفته (D, B). و پروتئین استاندارد (S)

Fig. 1. Comparison of seperated polypeptide bands on acrylamid gel in dormant (A,C), nondormant (B,D) and standard protein(S) in lower and upper seeds

جدول ۸ - RM و وزن ملکولی نوارهای پروتئین استاندارد و پلی پپتیدی بذرهای خفته وغیر خفته

Table 8. RM and molecular weight of standard protein bands and polypetids of dormant and nondormant seeds

پروتئین استاندارد		بذرهای خفته		بذرهای غیرخفته	
Standard Protein		Dormant seeds A&C		Nondormant seeds B&D	
RM	MW(Da)	RM	MW(Da)	RM	MW(Da)
0.26	66000	0.08*	>66000	0.56**	32197
0.45	45000	0.13*	>66000	0.66**	25587
0.51	36000	0.15**	>66000		
0.53	29000	0.21*	>66000		
0.70	24000	0.34*	53380		
0.79	20100	0.40**	46505		
0.91	14200	0.48*	38695		
		0.76**	20334		

** Strong color bands , نوارهای پر رنگ * Light color bands , نوارهای کم رنگ

www.SID.ir

Archive of SID

محاسبات آماری مربوط به جوانه‌زنی قسمت های مختلف بذر و مقایسه آن‌ها نشان دهنده عدم خفتگی در رویان بود و عامل خفتگی در پوشش های مختلف رویان قرار داشت. نتایج به دست آمده توسط Anghel & Raina (960) با نتایج فوق مطابقت دارد. آنها نشان دادند درصد جوانه‌زنی بذر *A. ludoviciana* و *A. fatua* در اثر باز شدن، منقسم شدن ویا برداشته شدن سبوسه افزایش می‌یابد. همچنین Naylor & Christe (957) دریافتند که سبوسه در *A. fatua* موجب کاهش درصد جوانه‌زنی می گردد. با اضافه نمودن سبوسه در محیط اطراف بذرهای بدون سبوسه ملاحظه گردید که این عمل گی نشده و درصد جوانه‌زنی در آنها به طور معنی دار بیش از بذرهایی بود که به طور طبیعی دارای سبوسه بودند(آزمایش۲). بر اساس آزمایش احتمال وجود بازدارنده شیمیایی در سبوسه ضعیف بود. با ایجاد منفذی کوچک روی سبوسه و در محلی که روبروی ریشه چه رویان بود، جوانه‌زنی افزایش معنی داری یافت که حاکی از عدم وجود بازدارنده شیمیایی درون سبوسه بود. با ایجاد منفذ در قسمت های دیگری از سبوسه به غیر از جلو ریشه چه ومشاهده ی عدم جوانه زنی، وجود بازدارنده‌ها در سبوسه منتفی شد (آزمایش ۳). به طوری که اگر وجود منفذ در جلو ریشه چه موجب کاهش میزان بازدارنده‌ها و یا عمل آنها می گردید، ایجاد منفذ در نقطه‌ای دیگر نیز موجب این پدیده می شد و جوانه‌زنی افزایش می یافت که عملا چنین نبود.به این ترتیب وجود یک عامل فیزیکی در سبوسه به اثبات رسید که احتمالا با جلوگیری از تبادل گاز، انتقال آب به رویان و یا با ایجاد یک سد مکانیکی درجلو ریشه چه ازجوانه‌زنی رویان جلوگیری می نمود Simmond & Simpson (971) نشان دادند که بذرهای خفته و غیر خفته *A. fatua* قبل از جوانه‌زنی دارای تنفس و تبادل گازی یکسانی بوده و اکسیژن در خفتگی بذر نقشی نداشته است. با ایجاد منفذ در قسمت های دیگری از سبوسه (به غیر از جلو ریشه چه) و عدم افزایش جوانه‌زنی احتمال جلوگیری از تبادل گاز توسط سبوسه رد شد. (آزمایش۳). با توجه به مشاهدات فوق احتمال خفتگی به دلیل جلوگیری از انتقال آب به رویان مورد بررسی قرار گرفت (جدول ٤). پس از آماس (imbibition)، یکسان بودن مقدار آب در بذرهای سالم و بذرهایی که سبوسه آنها سوراخ شده بود نشان داد که سبوسه در انتقال آب به درون بذر نقش منفی نداشته و با ایجاد سوراخ در آن نیز آب بیشتری به درون بذر منتقل نشده است. در نتیجه

www.SID.ir

Archive of SID

سبوسه در انتقال آب به رویان نقشی بازدارنده نداشت. افزایش جوانه‌زنی در بذرهای سوراخ شده نسبت به بذرهای سالم نیز به علت انتقال بیشتر آب به درون رویان نبود. مقدار آب در بذرهای بدون سبوسه و مرطوب در گروه دوم قرار داشت و کمتر از بذرهای سالم مرطوب بود. با توجه به مشاهده فوق نتیجه گرفتیم که نه تنها سبوسه ازانتقال آب به درون رویان جلوگیری نکرد، بلکه آب دربذرهای دارای سبوسه به علت دارا بودن قابلیت جذب زیاد آب در آن بیشتر بوده است. بذرهای فاقد سبوسه با وجود آب کمتر جوانه‌زنی بیشتری نسبت به بذرهای دارای سبوسه داشتند. درصد آب در بذرهای خشک فاقد سبوسه با درصد آب بذرهای خشک دارای سبوسه برابری نموده ودریک گروه قرار گرفتند. بنابراین سبوسه فاقد آب بوده و پس ازجذب آب آن را دراختیار رویان قرار می دهد. با مشاهدات فوق احتمال اینکه سبوسه با جلوگیری از انتقال آب موجب خفتگی بذر شود منتفی گردید و تنها احتمال اینکه سبوسه از طریق ایجاد یک سد مکانیکی موجب خفتگی بذر یولاف وحشی گردد برجای ماند. با قرار دادن رویان‌های جدا شده درکنار نیمه دوم گندمه و مشاهده جوانه‌زنی یکسان آنها با رویان های کشت شده وجود بازدارنده شیمیایی در گندمه رد شد. با ایجاد منفذ روی گندمه و افزایش جوانه زنی، عدم وجود بازدارنده شیمیایی در گندمه ثابت شد. (آزمایش۵ و ٦). Hsiao (1983) و Raju و همکاران (1986) نشان دادند که با ایجاد زخم برروی گندمه *A. fatua* آب بیشتری درمحل زخم تجمع می‌یابد. آنها وجود منافذ را در افزایش پتانسیل آب در آن نقطه و افزایش جوانه‌زنی مؤثر دانستند. با پوشانیدن زخم توسط لانولین و مشاهده جوانه‌زنی بذور، نتیجه گرفتیم که با حضورلانولین و پوشش های بذر اکسیژن قادر به عبور بوده و پوشش های گندمه از ورود اکسیژن به بذر جلوگیری نکرده است (آزمایش ۷). با توجه به آزمایش‌های فوق نقش قسمت‌های موجود در گندمه (پیرابر، اندوخته و لایه آلورون) در خفتگی تنها به علت کاهش آب قابل استفاده رویان جهت رشد معرفی گردید. پیرابر به عنوان خارجی‌ترین پوشش گندمه از سلول های له شده و فشرده‌ای تشکیل شده است که دارای شکاف‌ها و موهایی (antrose) است که جاذب آب می باشند و به عنوان یک اسباب نم نمایی (hygroscopic) به شمار می آیند و بنابر این هیچ گونه سدی جهت دخول آب به درون بذر محسوب نمی گردد، Raju وهمکاران (1986). ایجاد زخم

www.SID.ir

Archive of SID

روی گندمه موجب شکاف ساختمان لایه آلورونی گردید که خارجی‌ترین بخش سلول‌های اندوخته‌ای است و در نتیجه لایه آلورون که سد مهمی برای ورود آب است درهم شکسته شد و جذب آب افزایش یافت(Raju & Winnie 1986, Raju & Walter 1988) . الکتروفورز پروتئین وجود تغییرات پروتئینی پس ازحذف خفتگی بذر یولاف وحشی را نشان داد. ۸ نوار اختصاصی در بذرهای خفته مشاهده شد که چهار نوار دارای وزن مولکولی بیشتری نسبت به چهار نوار دیگر بودند. بذرهای غیر خفته نیزدارای دو نوار اختصاصی با وزن مولکولی کمتری بودند. ممکن است پروتئین‌های فوق و بیان ژنی آنها در شکستن خفتگی مؤثر باشند. مشاهدات فوق با نظرات Bailin & Foley (1994) مطابق بود که ثابت نمودند در رویان های خفته و غیرخفته، پروتئین ها و mRNA ها ی خاصی وجود دارد که شناخت آنها در فهم خفتگی بذر و عوامل مؤثر در شکستن آن مفید و مؤثر است.

سپاسگزاری

از جناب آقای دکتر حسن ابراهیم زاده، سرکار خانم دکتر اعظم سلیمی و آقای دکتر حسن رهنما بخاطر راهنمایی و در اختیار گذاشتن آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه تهران در انجام آزمایش الکتروفورز نهایت تشکر و قدردانی را دارد.

نشانی نگارندگان: حمیرا سلیمی، موسسه تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی. تهران.بخش تحقیقات علف‌های هرز. صندوق پستی۱٤٥٤،تهران ۱۹۳۹۵. مه لقا قربانلی، دانشگاه تربیت معلم، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

www.SID.ir