

بررسی روش‌های شکست خواب بذر در گونه *Astragalus fridae* Rech.

صدیقه اربابیان^۱، مریم مغالو^۲، احمد مجد^۳

۱- استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال. Arabias@yahoo.com

۲- کارشناسی ارشد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال.

۳- استاد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه تربیت معلم تهران.

تاریخ پذیرش: ۸۸/۹/۱۰

تاریخ دریافت: ۸۸/۶/۱۵

چکیده

در میان گیاهان گلدار جهان گونه‌ها یکی از بزرگ‌ترین جنس‌ها بوده و با بیش از ۳۳۰۰ گونه، دارای پراکنش وسیعی در سراسر مناطق معتدله جهان می‌باشند. گونه‌ها از نظر دارویی، علوفه‌ای و اقتصادی، پراکنش وسیعی در کشور داشته و بدین منظور هدف از این پژوهش، بررسی شکست خواب، جوانه‌زنی و یافتن مناسب‌ترین تیمار جهت برطرف نمودن خواب بذر گونه *Astragalus fridae* است. به منظور بررسی شکست خواب بذر در گیاه گونه *Astragalus fridae* آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با هشت تیمار و سه تکرار به اجرا درآمد. تیمارهای آزمایش شامل چند روش سرمادهی و چند روش نفوذپذیر کردن پوسته بذر بود و نتایج نشان داد که تیمارهای خواب شکنی، تیمارهای خراش دهی و هم چنین تیمارهای خراش دهی به همراه ۱۰ و ۱۵ روز سرمادهی، از لحاظ میزان درصد جوانه‌زنی (۹۷٪-۹۶٪)، سرعت جوانه‌زنی و بنیه بذر اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها دارند. بذرهای تحت تیمار سرمادهی (۱۰ روزه) بدون خراش دهی درصد جوانه زنی بسیار پایین داشته، ولی بذرهای خراش داده شده چه در معرض سرما و چه بدون سرما بیشترین درصد جوانه‌زنی را داشتند. بنابراین با توجه به آزمایش صورت گرفته می‌توان دلیل خواب بذر در این گونه را بیشتر به علت پوسته سخت بذر دانست.

کلید واژه: گونه (*Rech. Astragalus fridae*)، خواب بذر، جوانه زنی و پوسته بذر.

مقدمه

منبع صمغ‌های گیاهی استفاده می‌شود (۱،۳). جنس گون دارای ترکیب‌های دارویی نظیر پلی ساکاریدها و ساپونین‌ها، ترکیب‌های سمی مانند آلکالوئیدهای ایندولوزولیدین و ترکیب‌های نیتروآلیفاتیک و سلینیوم است. از گونه‌ها مواد دارویی مختلفی از جمله آنتی اکسیدان، محرک‌های سیستم ایمنی، حفاظت کننده‌های کبدی، مواد ضد ویروسی و باکتریایی و مواد موثر بر رگ‌های قلبی استخراج شده است (۱). ترکیب‌های آنتی اکسیدان درون ریشه از کاهش محتوی گلیکوژن کبدی جلوگیری کرده، پروتئین و آلبومین کل سرم را افزایش می‌دهد.

در میان گیاهان گلدار جهان گونه‌ها یکی از بزرگ‌ترین جنس‌ها بوده و شامل بیش از ۳۳۰۰ گونه با پراکنش وسیع در سراسر مناطق معتدله جهان می‌باشند. کشور ایران خاستگاه اصلی و یکی از مراکز تنوع گونه‌های گون در دنیای قدیم بوده که بر اساس آخرین اطلاعات ۸۰۴ گونه در ایران وجود دارد که از آن میان ۵۲۷ گونه بومی و ۲۷۷ گونه مشترک با کشورهای همسایه است (۲،۳). اگر چه مصرف عمده گون به عنوان علوفه برای دام‌ها و جانوران وحشی می‌باشد، ولی از ۳۲ گونه آن برای مصارف غذایی، دارویی، آرایشی و جانشینی برای چای و قهوه یا به عنوان

محیط زیست در قالب طرح کاملاً تصادفی با هشت تیمار و سه تکرار به اجرا در آمد. بذره‌های مورد آزمایش از استان سمنان و منطقه افتر در سال ۱۳۸۶ جمع آوری شدند. تیمارهای خواب شکنی بر روی بذرها شامل خراش دهی با سمباده، خراش دهی به همراه ۱۰ روز سرمادهی (که پس از خراش دهی با سمباده در سرمای ۴-۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ روز نگهداری شدند)، خراش دهی به همراه ۱۵ روز سرمادهی (سرمای ۴-۰ درجه سانتی گراد)، ۱۰ روز سرمادهی (سرمای ۴-۰ درجه سانتی گراد)، استفاده از مخلوط‌های یخ و آب (۴ دوره ۶ ساعته در دمای زیر صفر و ۶ ساعت دمای اتاق در حالی که بذرها روی کاغذ کشت مرطوب قرار داشتند) و آب‌های داغ ۶۰ درجه و ۷۵ درجه سانتی گراد است. بذرها قبل از استفاده به مدت یک دقیقه در اتانل ۷۰ درصد غوطه‌ور و با آب مقطر استریل شده چندین بار شستشو، سپس ۲۰ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۲۵ درصد قرار گرفته و پس از آن نیز چندین بار با آب مقطر استریل شستشو گردیدند. پس از آن بذرها پس از اعمال تیمارها بر روی یک لایه کاغذ کشت مرطوب درون پتری دیش و در داخل ژریناتوری با دمای ثابت ۲۴ درجه سانتی گراد، رطوبت ۷۰ درصدی و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند. خروج ریشه چه به طول یک میلی متر به عنوان معیار بذر جوانه زده در نظر گرفته شد. شمارش بذره‌های جوانه زده هر روز انجام و تا زمانی که در دو شمارش متوالی افزایشی در جوانه زنی مشاهده نگردید، ادامه یافت. در پایان طول ریشه چه، طول ساقه چه، نسبت ریشه چه به ساقه چه، شاخص ویگور، سرعت جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی یادداشت شدند. سپس با استفاده از روابط زیر، سرعت جوانه‌زنی و شاخص ویگور (بنیه بذر) محاسبه گردید:

محاسبه سرعت جوانه زنی (۱۱):

$$Vg = \sum Ni / Di$$

Vg = سرعت جوانه زنی برحسب تعداد بذر در روز

شمارش

Ni = تعداد بذر جوانه زده در هرروز

جدیدترین خواص دارویی شناخته شده گون‌ها در زمینه اثرات ضد ایدزی و ضد سرطانی آن‌ها است که در این راستا ترکیب‌های کاستانوسپیرمین و آستراگالوزوئید نیز در دست بررسی می‌باشد (۴،۸،۱۲). پوسته بذر گیاهان خانواده پروانه آسها معمولاً سخت و نسبت به آب و گازها نفوذ ناپذیر است. بنابراین، بذرها عموماً دارای خواب از نوع پوسته سخت بوده و سخت پوستی تحت تأثیر جنس، گونه و شرایط محیطی زمان نمو بذر قرار می‌گیرد (۴). البته در برخی موارد ممکن است که علاوه بر سخت پوستی، مواد بازدارنده جوانه زنی نیز در بذر وجود داشته باشند که در چنین وضعیتی حتی در صورت نفوذپذیر بودن پوسته نسبت به آب، باز هم جوانه‌زنی صورت نمی‌گیرد (۹). در بیشتر موارد بررسی ریخت شناسی بذر و رفتار آن راهنمای خوبی برای انتخاب تیمارهای خواب شکنی می‌باشد مثلاً برای بر طرف نمودن خواب بذره‌های لگوم با پوسته‌های غیرقابل نفوذ نسبت به آب، تیمار خراش دهی مناسب و اعمال تیمار پیش سرما برای بر طرف شدن خواب در بذرهایی که آب جذب می‌کنند، اما جوانه نمی‌زنند، مفید خواهد بود (۷،۱۰). این نوع خواب ممکن است منشأ فیزیولوژیکی داشته باشد. تیمارهای مختلفی از جمله خراش دهی مکانیکی، خراش دهی شیمیایی، یخ و آب، آب داغ و سرمادهی، امواج فرا صوت و برخی هورمون‌ها جهت بر طرف کردن خواب فیزیولوژیکی بذرها مورد استفاده قرار می‌گیرند (۶،۱۴). بنابراین با توجه به اهمیت ویژه گون‌ها از نظر دارویی، علوفه‌ای و اقتصادی و گسترش وسیع آن‌ها در کشور انجام بررسی‌های مختلف در زمینه‌های شکست خواب، کشت بافت و تکثیر بر روی گونه‌های مهم این جنس به خصوص گونه‌های در حال انقراض حائز اهمیت می‌باشد. بدین منظور هدف از این تحقیق بررسی شکست خواب، جوانه‌زنی و یافتن مناسب‌ترین تیمار جهت بر طرف نمودن خواب بذر گونه *Astragalus fridae* Rech است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در آزمایشگاه ژنتیک سازمان حفاظت

شامل آب ۶۰ درجه سانتی گراد، شاهد، یخ آب، آب ۷۵ درجه سانتی گراد و ۱۰ روز سرمادهی ملاحظه گردید (نمودار ۱).

در مقایسه درصد سرعت جوانه زنی نیز تیمار خراش دهی با سمباده بیشترین سرعت جوانه زنی را داشته و تیمارهای خراش دهی به همراه ۱۰ روز سرما، خراش دهی به همراه ۱۵ روز سرما و آب ۶۰ درجه سانتی گراد نیز در گروه های دیگر قرار گرفتند (نمودار ۲).

بیشترین میانگین طول ساقه چه بر عکس دو تیمار قبلی، مربوط به تیمار آب ۶۰ درجه سانتی گراد و ۱۰ روز سرمادهی و کمترین میزان مربوط به تیمارهای خراش دهی با سمباده بود و مابقی در گروه های دیگر قرار گرفتند (نمودار ۳). بیشترین طول ریشه چه مربوط به تیمار خراش دهی به همراه ۱۰ روز سرمادهی می باشد که در گروه یک قرار داشته و بعد تیمارهای خراش دهی به همراه ۱۵ روز سرما قرار گرفتند. به نظر تأثیر تیمارهای اعمال شده به علت ایجاد تغییرات هورمونی باعث افزایش طول ریشه چه گردیده است (نمودار ۳). نسبت ریشه چه به ساقه چه نیز در تیمارهای ۱۰ روز سرمادهی، آب ۶۰ درجه، آب ۷۵ درجه و تیمار شاهد بیشترین نسبت را داشته و در یک گروه قرار گرفته اند و تیمارهای خراش دهی به

D_i = شماره روز پس از شروع آزمایش

محاسبه شاخص جوانه زنی (۱۳):

شاخص جوانه زنی = $(\sum T_i N_i) / S$

T_i = زمان شمارش (روز) پس از کاشت

N_i = تعداد بذره های جوانه زده در هر شمارش (روز)

S = کل بذره های کاشته شده است

فرمول شاخص بنیه (۱۴):

شاخص بنیه = میانگین طول گیاهچه (میلی متر) × درصد

جوانه زنی / ۱۰۰

برای تجزیه داده های این آزمایش از نرم افزارهای

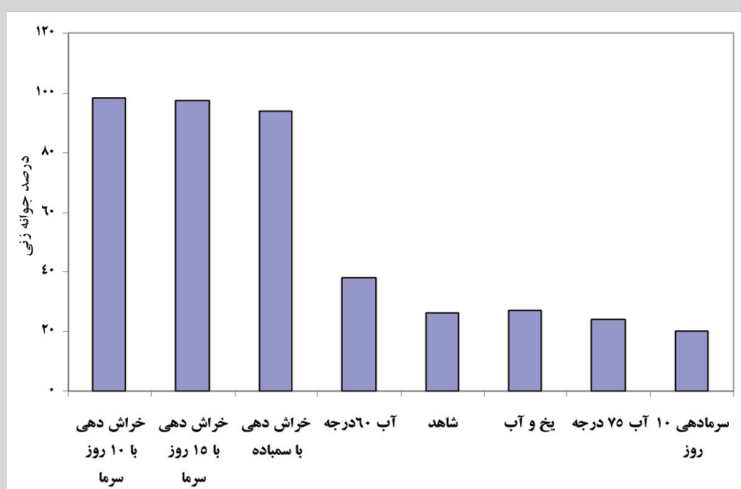
SAS، EXCELL، MINITAB استفاده شده است.

نتایج

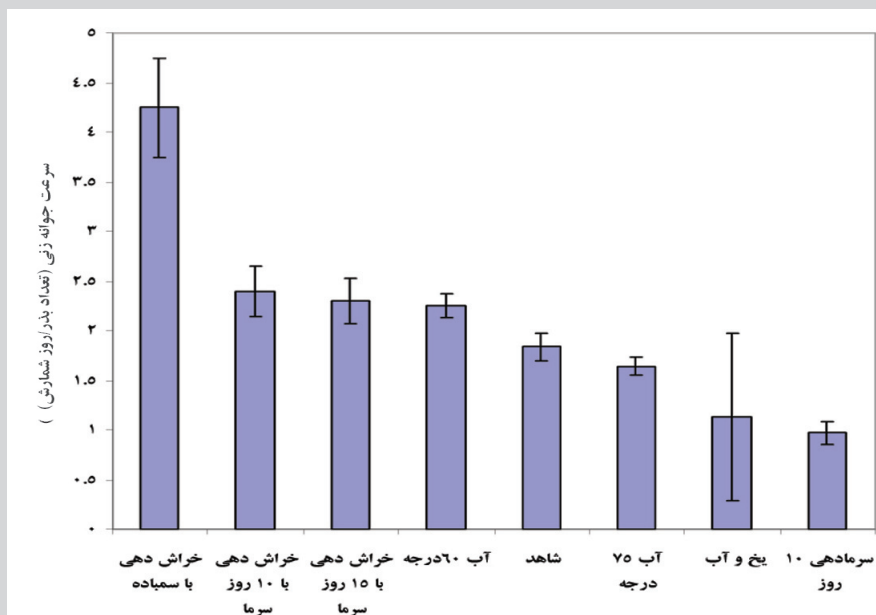
اثر تیمارهای شکست خواب بذر بر روی سرعت و

درصد جوانه زنی

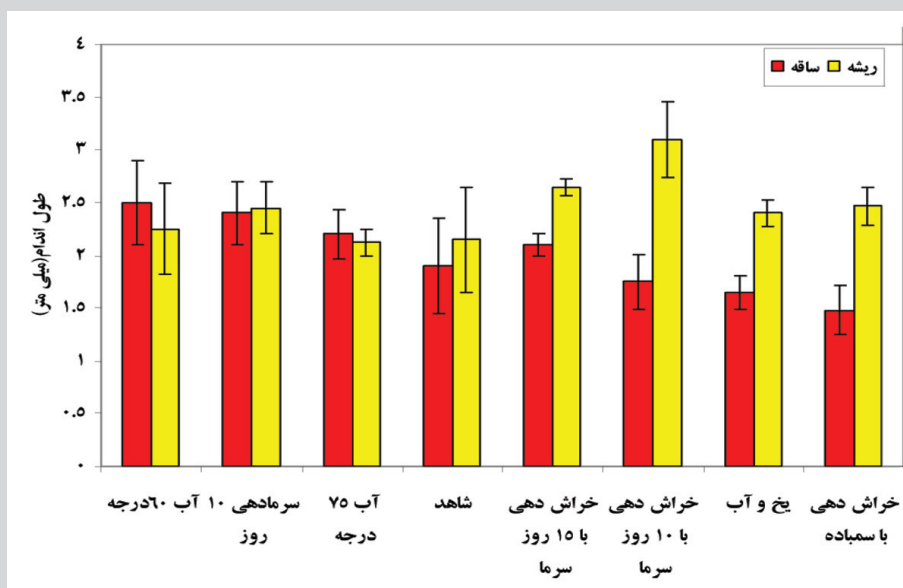
تحلیل آماری نتایج مشخص نمود که اثر تیمارها بر روی سرعت و درصد جوانه زنی در سطح یک درصد ($P < 0.01$) معنی دار است. در دسته بندی تیمارها با آزمون دانکن (در سطح احتمال ۱٪)، تیمارها در سه طبقه جداگانه قرار گرفتند. بیشترین درصد جوانه زنی به ترتیب در تیمارهای خراش دهی به همراه ۱۰ روز سرما (۹۶٪)، خراش دهی به همراه ۱۵ روز سرما (۹۶٪)، خراش دهی با سمباده (۹۴٪) و کمترین درصد جوانه زنی در گروه دوم



نمودار ۱- مقایسه درصد جوانه زنی *Astragalus fridae* تحت تأثیر تیمار شکست خواب بذر



نمودار ۲- مقایسه میانگین سرعت جوانه زنی *Astragalus fridae* تحت تأثیر تیمار شکست خواب بذر



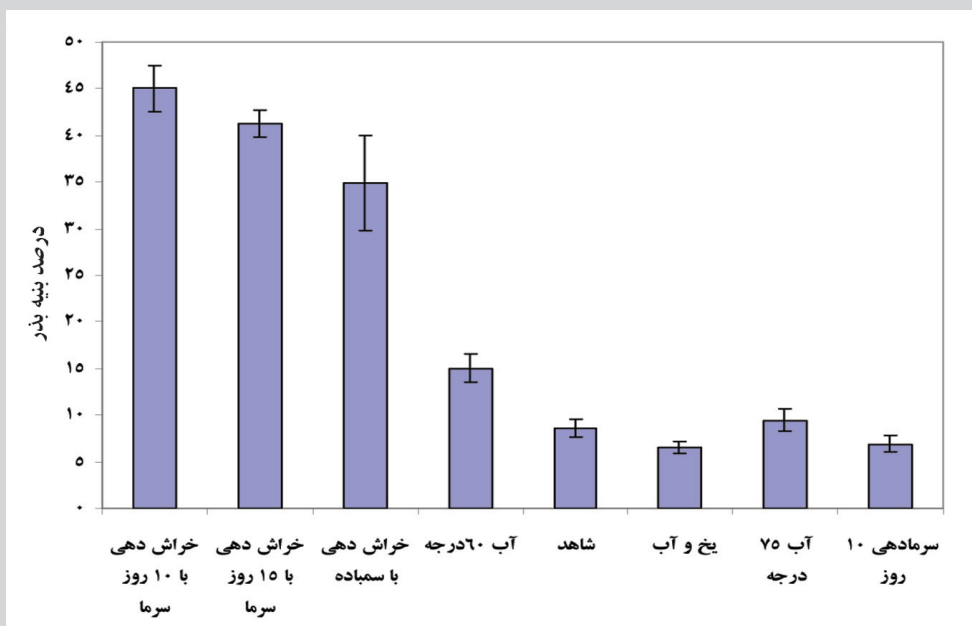
نمودار ۳- مقایسه میانگین طول ساقه چه و ریشه چه *Astragalus fridae* تحت تأثیر تیمار شکست خواب بذر

سانتی گراد، شاهد، یخ و آب و ۱۰ روز سرمادهی در گروه چهارم قرار گرفتند (نمودار ۴).

بحث و نتیجه گیری

با توجه به نتایج به دست آمده از آزمایش ها، بهترین تیمارها برای رفع خواب بذر *Astragalus fridae* Rech تیمار خراش دهی با سمباده، خراش دهی به همراه

به همراه ۱۰ روز سرما با کمترین نسبت در گروه دوم قرار دارند. بیشترین درصد بیه بذر مربوط به تیمارهای خراش دهی به همراه ۱۰ روز سرما و خراش دهی به همراه ۱۵ روز سرما بوده و در یک گروه قرار گرفته و خراش دهی با سمباده در گروه دوم قرار گرفته است و سپس آب ۶۰ درجه سانتی گراد در گروه سوم و تیمارهای آب ۷۵ درجه



نمودار ۴- مقایسه میانگین سرعت جوانه زنی *Astragalus fridae* تحت تأثیر تیمار شکست خواب بذر

طول گیاهیچه، بالا بودن این شاخص در این تیمارها امری بدیهی بوده و ناشی از بالا بودن درصد جوانه زنی و طول گیاهیچه می باشد. بخشی از افزایش طول گیاهیچه مربوط به جوانه زنی زود هنگام در این تیمارها و بخش دیگر احتمالاً به دلیل تعدیلات هورمونی ایجاد شده در جهت جوانه زنی در اثر تیمار پیش سرما است (۶، ۱۴). با توجه به نتایج به دست آمده از این آزمایش، بهترین تیمارها در این تحقیق برای شکستن خواب بذر این گونه گیاهی تیمار خراش دهی با سمباده، تیمار خراش دهی به همراه ۱۰ روز سرمادهی و تیمار خراش دهی به همراه ۱۵ روز سرمادهی می باشند که نتیجه اخیر با نتایج دیگر محققان بر روی برخی از گونه های این جنس تقریباً مطابقت داشته و امید است که در آینده نزدیک بررسی های دیگری نیز بر روی گونه های مهم و در معرض تهدید کشورمان صورت پذیرد.

سپاسگزاری

از همکاران بخش تنوع زیستی گیاهی سازمان حفاظت محیط زیست به خاطر همکاری صمیمانه شان در پیش برد این تحقیق سپاس گزاری می گردد

۱۰ روز سرمادهی و تیمار خراش دهی به همراه ۱۵ روز سرمادهی بودند، هم چنین از آن جایی که این تیمارها بیشترین میزان جوانه زنی و بنیه بذر را داشته ولی تیمار سرمادهی به تنهایی (بدون خراش دهی) کمترین درصد جوانه زنی را دارا است، می توان نتیجه گیری کرد که علاوه بر خواب مربوط به پوسته بذر، خواب فیزیولوژیکی نیز وجود دارد (۱). کمتر بودن درصد جوانه زنی در تیمار یخ و آب نسبت به تیمار شاهد احتمالاً به دلیل فشرده شدن پوسته بذر در اثر نیروی حاصل از تشکیل یخ در اطراف آن می باشد، زیرا کمبود اکسیژن خود از عوامل القا کننده خواب است (۵، ۶). به نظر می رسد که تیمارهای خراش دهی، به واسطه تسریع در جذب آب و تسهیل در تبادل گازها (به ویژه O_2 و CO_2) و تیمار سرمادهی به واسطه اثری که در برطرف نمودن عوامل بازدارنده جوانه زنی دارد سبب افزایش تعداد بذرهای جوانه زده در واحد زمان و در نهایت افزایش سرعت جوانه زنی می گردد. بیشترین درصد بنیه، از تیمارهای خراش دهی با سمباده، تیمار خراش دهی به همراه ۱۰ روز سرمادهی و تیمار خراش دهی به همراه ۱۵ روز سرمادهی به دست آمد. با توجه به رابطه مستقیم شاخص بنیه با درصد جوانه زنی و

nology letters, 25,1853-1856.

9. Ellis, R.H., Hong, T.D., Roberts, E.H. (1985). Handbook of seed technology for genebanks. Volume II. Compendium of specific germination information and test recommendations. Handbook for genebanks. No.3. IBPGR.

10. Kay, T.N. (1997). Seed dormancy in high elevation plants: Implications for ecology and restoration. Conservation and management of native plants and fungi. Native plants society of Oregon.

11. Maguire, J.D. (1962), Speed of germination in selection and evolution for seeding vigor. Crop Sci, 2,176-177.

12. Rios, J.L., Waterman, P.G. (1997). A review of the pharmacology and toxicology of *Astragalus*. Phytotherapy Research, 11,411-418.

13. Scott, S.J., Jones, R.A., Williams, W.A. (1984). Review of data analysis methods for seed germination. Crop Science, 24,1192-1199.

14. Stout, D. (1998). Rapid and synchronus germination of *Cicer milkvetch* seed following diurnal temperature priming. Crop Sci, 181,263-266.

منابع

۱- عیسوند، حمیدرضا، مداح عارفی، حسن، توکل افشاری، رضا. ۱۳۸۴. بررسی شکستن خواب و جوانه زنی بذر در گون *A.siligosus* فصلنامه پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران. ۱۳(۱):۸۴-۶۷.

۲- معصومی، علی اصغر. ۱۳۷۹. گون های ایران (جلد چهارم). انتشارات موسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع.

۳- معصومی، علی اصغر. ۱۳۸۴. گون های ایران (جلد پایانی). انتشارات موسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع.

۴- نصیری، محمد. ۱۳۷۳. بررسی عوامل مؤثر بر خواب، جوانه زنی و نمو بذرها، انتشارات سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی.

5. Abdul-baki, A.A, Anderson, J.D. (1973). Vigor determination in *soybean* seed by multiplication. Crop Sci, 3,630-633.

6. Baskin, C.C., Baskin, J.M. (1998). Seeds, ecology, biographe and evolution of dormancy and germination. Academic Press, New York.

7. Bewley, J.D. (1997). Seed germination and dormancy. The plant cell, 9,1055-1066.

8. Du, M., Wu, X.J., Ding, J., Hu, Z.B., White, K.N., Branford C.J. (2003) Astragaloside IV and polysaccharide production by hairy roots of *Astragalus membranaceus* in bioreactors. Biotech-