جوانه زنی بذر گیاه انجیر معابد (*Ficus religiosa* L.) در شرایط *in vitro* و *in vivo*

محسن حسامی[1*] و محمد حسین دانشور[2]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان. ۲- استاد گروه علوم باغبانی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان.

*نویسنده مسئول: mohsenhessami33@yahoo.com

چکیده

انجیر معابد (*Ficus religiosa* L.) درخت جنگلی چند منظوره با طول عمر طولانی می‌باشد. این گیاه ارزش مذهبی، زینتی و دارویی داشته و میزان باززایی آن در طبیعت پایین است.این پژوهش به منظور بررسی جوانه زنی این گیاه در شرایط *in vitro* و *in vivo* صورت پذیرفت. بیشترین درصد جوانه‌زنی بذر در شرایط *in vitro* مربوط به تیمار محیط کشت MS $\frac{1}{10}$ غلظت در شرایط روشنایی با میانگین ۸۳/۳۳ درصد بود. بیشترین درصد جوانه زنی در شرایط *in vivo* با خیساندن بذور در آب با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد و سپس خیساندن بذرها در اسید جیبرلیک (۱۰۰ppm) به مدت ۲۴ ساعت با میانگین ۴۲/۶۶ بدست آمد.

کلمات کلیدی: اسید جیبرلیک، انجیر معابد، جوانه‌زنی، روشنایی، محیط کشت MS.

مقدمه

انجیر معابد با نام علمی *Ficus religiosa* L. از تیره Moraceae و از مشهورترین گونه‌های جنس *Ficus* می‌باشد. جنس *Ficus* دارای ۸۰۰ گونه است. این گیاه بومی هند و بنگالادش است و به طور گسترده‌ای در سراسر جهان کاشته می‌شود (McFarland, 1944; Galil, 1984). این گیاه تنومند و پر شاخه و برگ به علت شکل و فرم زیبای آن می‌تواند به عنوان یک گیاه نمونه در فضای سبز استفاده شود.ازدیاد جنسی انجیر معابد در کشور هاوایی، به علت عدم حضور زنبور گرده افشان، امکان پذیر نمی‌باشد. بنابراین مناسب‌ترین روش تکثیر انجیر معابد در این جزیره از طریق قلمه و یا کشت بافت است ولی در کشور فلسطین اشغالی، گرده افشانی این گیاه بوسیله زنبور گرده افشان *Blastophaga quadraticeps* با موفقیت صورت گرفته است (Galil and Eisikowitch, 1968). انجیر معابد گیاهی چند ساله است که در آب و هوای موسمی با شاخه‌های گسترده، نیمه برگ‌ریز یا به طور کامل برگ‌ریز می‌باشد. برگ‌های این گیاه پهن و تخم مرغی شکل، براق و چرم مانند و به رنگ سبز تیره می‌باشد. طول آن‌ها ۱۸-۱۲ سانتی‌متر و نوک آن دم مانند است. میوه‌های انجیر معابد گرد، سبز رنگ و عرض آن ۱/۵سانتی‌متر است که هنگام رسیدن، به رنگ بنفش با نقطه‌های قرمز مشاهده می‌شود (Brickell and Zuk, 1997). بسیاری از مردم کشور هند از عصاره انجیر معابد به عنوان تقویت کننده مغز، استفاده می کنند. این گیاه در طب سنتی هند برای بیماری‌های مختلفی استفاده می‌شود (Chandrasekar et al., 2010). میوه‌های انجیر معابد دارای بسیاری از خواص دارویی از جمله خواص ضد دیابت، ضد سرطان، ضد تشنج، ضد ویروس و دارای ترکیبات ثانویه است (Parasharami et al., 2014).

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۹۴-۱۳۹۳ بر روی گیاه انجیر معابد در گروه باغبانی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان انجام گردید. میوه‌های انجیر معابد از درخت ۵۰ ساله در دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان در خرداد ماه جمع‌آوری شدند و سپس در سردخانه آزمایشگاه کشت بافت گروه علوم باغبانی در دمای ۱±۴+ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۸۰٪ نگهداری شدند. به منظور جوانه زنی بذر گیاه انجیر معابد در شرایط *in vitro* بذرها پس از ۳۰ دقیقه شست و شو با آب جاری، به مدت ۱۰ ثانیه درالکل اتیلیک ۷۰٪ و ۵ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۱۰٪ ضد عفونی شدند. پس از ۳ بار شست و شو با آب مقطر استریل به محیط کشت MS (Murashige and Skoog, 1962) با غلظت‌های مختلف و pH برابر ۵/۸ ، ساکارز ۳٪ و آگار ۰/۶٪ منتقل شدند. کلیه مواد، ظروف و محیط‌های کشت در دمای ۱۲۱/۵ درجه سانتی گراد و فشار ۱ اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو

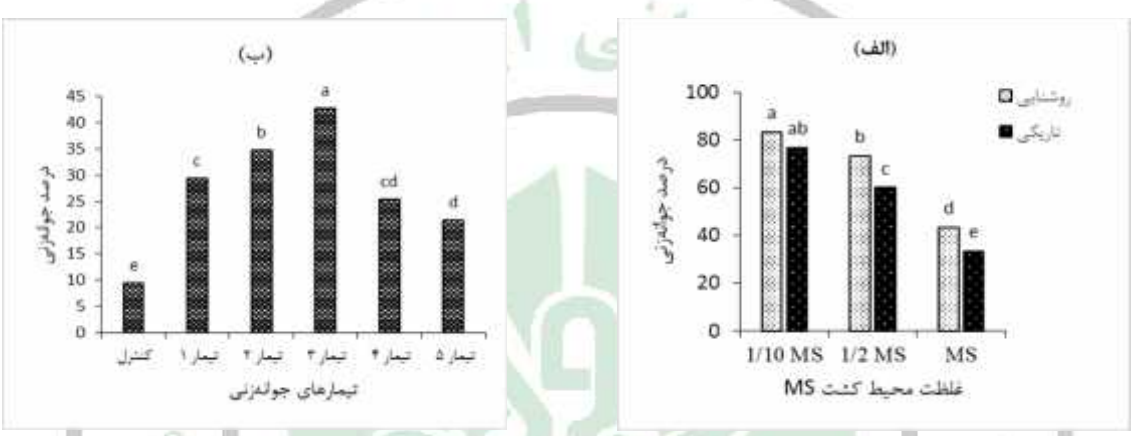
شدند. بذرها در محیط کشت‌های با غلظت‌های مختلف MS (MS تمام غلظت، MS $\frac{1}{2}$ غلظت و MS $\frac{1}{10}$ غلظت) برای جوانه‌زنی در دو شرایط تاریکی (شرایط کاملاً تاریکی با استفاده از پلاستیک‌های مشکی) و روشنایی (دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و شدت نور ۱۲۰۰-۱۰۰۰ لوکس) و دمای ۲±۲۵ درجه سانتی گراد در اتاقک رشد نگهداری شدند. در این پژوهش آزمایش جوانه‌زنی (با ۲ فاکتور غلظت‌های مختلف محیط کشت MS و شرایط نوری) به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار (۱۰ نمونه) بر روی شاخص درصد جوانه‌زنی بذر مورد بررسی قرار گرفت. به منظور جوانه زنی بذر گیاه انجیر معابد در شرایط *in vivo*، از تیمارهای مختلف جوانه‌زنی ذیل استفاده گردید: شاهد (بدون استفاده از هرگونه تیماری)، خیساندن بذور در آب با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه (تیمار ۱)، خیساندن بذور در اسید جیبرلیک (۱۰۰ppm) به مدت ۲۴ ساعت (تیمار ۲)، خیساندن بذور در آب با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد و سپس خیساندن بذور در اسید جیبرلیک (۱۰۰ppm) به مدت ۲۴ ساعت (تیمار ۳)، خیساندن بذور در اسید سولفوریک ۱۰٪ به مدت ۱۰ دقیقه (تیمار ۴) و خراش دهی با کاغذ سمباده (تیمار ۵). بذور (۲۵ عدد بذر) هر تیمار جداگانه در پتری دیش بر روی کاغذ صافی قرار داده شد و هر روز ۶ میلی‌گرم آب مقطر به هر پتری دیش اضافه گردید. برای جلوگیری از بیماری‌های قارچی ،ضدعفونی بذور با استفاده از قارچ کش ویتاواکس انجام شد و سپس پتری دیش‌ها در داخل کیسه‌های نایلونی شفاف قرار داده شده و جهت جوانه‌زنی به ژرمیناتور منتقل شدند. شرایط اتاقک رشد به صورت ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۷۰٪ تنظیم شده بود. شمارش بذور از آغاز جوانه‌زنی به مدت ۱۲ روز انجام شد و معیار جوانه‌زنی یک بذر رشد کلئوپتیل به میزان ۲ میلی مترفرض گردید. در این پژوهش آزمایش جوانه‌زنی در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار (هر تکرار شامل ۲۵ عدد بذر) بر روی شاخص درصد جوانه‌زنی بذر مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم افزار آماری (۹/۳) SASتجزیه و تحلیل شد و نمودارهای مربوطه با استفاده از نرم افزار (۲۰۱۳) Excel رسم گردید. مقایسه میانگین‌ها در سطح ۵٪ با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج اثر برهمکنش غلظت‌های مختلف محیط کشت MS و شرایط نوری مختلف بر درصد جوانه‌زنی بذر در شرایط *in vitro* پس از ۵ روز نشان داد، بهترین تیمار به منظور جوانه‌زنی بذر گیاه انجیر معابد مربوط به تیمار محیط کشت MS $\frac{1}{10}$ غلظت در شرایط روشنایی با میانگین ۸۳/۳۳ درصد جوانه‌زنی بود که با سایر تیمارها به جز تیمار محیط کشت MS $\frac{1}{10}$ غلظت در شرایط تاریکی در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌دار داشت. همچنین نتایج این آزمایش نشان داد که بذرهای گیاه انجیر معابد در تیمار محیط کشت MS تمام غلظت در شرایط تاریکی با میانگین ۳۳/۳۳ درصد جوانه‌زنی، کم‌ترین میزان جوانه‌زنی را داشتند (شکل ۱-الف). کیم و همکاران[1] (۱۹۹۴) گزارش داد با افزایش غلظت املاح در محیط کشت، مقدار انرژی بذر که باید صرف جذب آب و مواد غذایی شود افزایش می‌یابد و این عمل باعث افزایش تنفس و کاهش جوانه‌زنی بذر می‌گردد. ملونی و همکاران[2] (۲۰۰۱) نیز گزارش دادند، غلظت بیش اندازه نمک، پتانسیل آب را کاهش می‌دهد و گیاه قادر به دریافت آب و مواد غذایی نمی‌باشد و در نتیجه موجب بهم خوردن تعادل یونی می‌شود. یکی دیگر از دلایل کاهش جوانه‌زنی بذر فشار اسمزی است، بعضی از املاح به دلیل ایجاد فشار اسمزی بالاتر بیش از املاح دیگر قادر به ممانعت از جوانه‌زنی بذور می‌باشد، با این وجود بسته به نوع املاح جوانه‌زنی بذر کاهش می‌یابد (Ungar, 1978). همچنین با استناد به نتایج ویلیام و همکاران[3] (۱۹۹۸) این احتمال وجود دارد که آنزیم‌های که در جوانه‌زنی بذر مؤثرند در محیط کشت MS تمام غلظت در اثر غلظت بالای املاح غیر فعال می‌شوند و بذرها در این شرایط قادر به جوانه‌زنی نیستند و با کاهش غلظت املاح در محیط کشت، شرایط برای جوانه‌زنی بذرها با فعال شدن این آنزیم‌ها فراهم

[1]. Kim *et al.*
[2]. Meloni *et al.*
[3]. William *et al.*

می‌گردد. نتایج تیمارهای مختلف بر درصد جوانه‌زنی بذر در شرایط *in vivo* نشان داد، بهترین تیمار به منظور جوانه‌زنی بذر گیاه انجیر معابد مربوط به تیمار خیساندن بذور در آب با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد و سپس خیساندن بذور در اسید جیبرلیک (۱۰۰ppm) به مدت ۲۴ ساعت (تیمار ۳) با میانگین ۴۲/۶۶ درصد بود که با سایر تیمارها در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌دار داشت. همچنین نتایج این آزمایش نشان داد که بذرهای گیاه انجیر معابد در تیمار شاهد با میانگین ۹/۳۳ درصد جوانه‌زنی، کم‌ترین میزان جوانه‌زنی را داشتند (شکل ۱- ب). خیساندن بذور در آب گرم، نفوذپذیری پوسته بذر را افزایش داده و در نتیجه موجب افزایش جوانه زنی بذر می‌گردد (Thapliyal and Thapliyal, 2005). جیبرلیک اسید به عنوان یک تنظیم کننده رشد گیاهی مشوق جوانه‌زنی بوده و با فراهم کردن مواد غذایی برای جنین موجب افزایش جوانه‌زنی می‌گردد (Mukherjee, 2008). ماتیو و همکاران[1] (۲۰۱۱) گزارش دادند که خیساندن بذور گیاه انجیر معابد در آب با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد و سپس خیساندن بذور در اسید جیبرلیک (۱۰۰ppm) به مدت ۲۴ ساعت موجب ۴۴ درصد جوانه‌زنی گردید که در توافق با نتایج این پژوهش می باشد.



شکل ۱- جوانه‌زنی بذر گیاه انجیر معابد، (الف) اثر برهمکنش شرایط نوری و غلظت‌های مختلف محیط کشت MS بر درصد جوانه‌زنی در شرایط *in vitro* و (ب) اثر تیمارهای مختلف جوانه‌زنی در شرایط *in vivo*.

* بر اساس آزمون مقایسه میانگین دانکن در سطح احتمال ۵٪ ستون‌هایی که حروف متفاوت دارند از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشند و ستون‌های دارای حروف مشابه معنی‌دار نمی‌باشند.

نتایج این پژوهش نشان داد که درصد جوانه زنی بذور انجیر معابد در شرایط *in vitro* به مراتب بیشتر از شرایط *in vivo* می‌باشد. در این باره پیریک (۱۹۷۶) گزارش داد که بذور ریز در شرایط *in vivo* به دلیل محدود بودن ذخیره غذایی قادر به جوانه‌زنی یا زنده ماندن نخواهند بود و یا جوانه‌زنی کمی خواهند داشت.

منابع

۱. پیریک، آر. ال. ام. ۱۹۷۶. مبانی کشت بافت‌های گیاهی، (مترجمین: باقری، ع. ر. و صفاری، م. ۱۳۸۴)، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، صص ۲۰۳-۱۹۱.

2. Brickell, C. and Zuk, J.D. 1997. A-Z Encyclopedia of Garden Plants. The American Horticultural Society. DK Publishing, Inc., NY.
3. Chandrasekar S.B., Bhanumathy, M., Pawar, A.T. and Somasundaram, T. 2010. Phytopharmacology of *Ficus religiosa* Rev. Pharmacogn. 4:195-199.
4. Galil, J. 1984. *Ficus religiosa* L. – the tree-splitter. Botanical Journal of the Linnean Society. 88: 185–203.
5. Galil, J. and Eisikowitch, D. 1968. On the pollination ecology of *Ficus religiosa* in Israel. Phytomorphology. 18: 356-363.
6. Kim, K., Yoo, Y. and Lee, G. 1994. Comparative salt tolerance study in Korean lawn grasses, comparison with western turf grasses *in vitro* salt tolerance test. Journal of the Korean Society for Horticultural Science. 32(1): 117-133.

[1]. Mathew *et al.*

7. Mathew, G., Skaria, B.P. and Joseph, A. 2011. Standardization of conventional propagation techniques for four medicinal species of genus *Ficus* Linn. Indian journal of natural products and resources. 2(1): 88-96.
8. McFarland, G.B. 1944. Thai-English Dictionary. Stanford University press, Stanford, California, pp. 601.
9. Meloni, D.A., Oliva, M.A., Ruiz, H.A. and Martinez, C.A. 2001. Contribution of proline and inorganic solutes to osmotic adjustment in cotton under salt stress. Journal of Plant Nutrition. 24: 599–612.
10. Mukherjee, D. 2008.Germination improvement in *Swertia chirayita*: An endangered medicinal herb. J. Med. Arom. Plant sci. 30:136-138.
11. Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiological Plant. 15: 473- 497.
12. Parasharami, V., Yadav, P., Mandkulkar, S. 2014. *Ficus religiosa* L.: Callus, suspension culture and lectin activity in fruits and *in vitro* regenerated tissues. British Biotechnology Journal. 4(2): 215-227.
13. Thapliyal, M. and Thapliyal, R.C. 2005. Recent advances in research on seed technology on medicinal plants _ Indian scenario. J. Med. Arom. Plant sci. 27:320-327.
14. Ungar, I.A. 1978. Halophyte seed germination. Botanical Review. 44: 233-264.
15. William, J. I., Ungar, A. and Mitchell, P. 1998. Effect of Salinity on Germination and Seedling Growth of two Atriplex species (Chenopodiaceae). Annals of Botany. 82: 167-175.

Seed germination of *Ficus religiosa* L. in *in vitro* and *in vivo* conditions

M. hesami[1*] and M. H. Daneshvar[2]

1- M.Sc. of Horticultural Science, Ramin University of Agriculture and Natural Resources, Khoozestan. 2- Professor, Dep. of Horticulture Science, Ramin University of Agriculture and Natural Resources, Khoozestan.

*Corresponding author: mohsenhessami33@yahoo.com

Abstract

Bodhi tree (*Ficus religiosa*) is a long-lived valuable multipurpose forest tree. The tree is exploited because of its religious, ornamental and medicinal value and the regeneration rate in natural habitat is low. This study aims to evaluate the seed germination in *in vitro* and *in vivo* conditions. The highest percentage of *in vitro* seed germinations were occured in 0.1 MS medium in the light condition (83.33%). The highest percentage of *in vivo* seed germinations were occured in soaking in hot water (65ºC) for 10 minutes followed by soaking in gibberellic acid (100 ppm) for 24h (42.66%).

Key words: *Ficus religiosa*, Gibberellic acid, Light condition, MS medium, Seed germination.