# بررسی رکود فیزیکی و فیزیولوژیکی بذور گیاه دارویی سیاه توسه

ادریس مهدوی فیکجور [۱]، حسن ساری‌خانی [۲]، سید رضا طبائی عقدایی [۳]
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشگاه آزاد واحد کرج، کرج. ۲- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان. ۳- موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، کرج.

## چکیده:

سیاه توسه یکی از گیاهان دارویی در معرض نابودی است که بومی قسمت‌های شمالی کشور است. تکثیر آن از طریق رویشی و جنسی سخت می‌باشد. پژوهش حاضر با هدف بررسی و از بین بردن رکودهای فیزیکی و فیزیولوژیکی بذر سیاه انجام شد. ابتدا زنده بودن بذر توسط آزمون تترازولوم مورد بررسی قرار گرفت. تیمارهای خراش دهی مکانیکی (سمباده و چاقو) و خراش دهی شیمیایی با اسید سولفوریک غلیظ (به مدت ۲، ۴، ۸، ۲۰ و ۳۰ دقیقه) برای از بین بردن رکود فیزیکی پوسته بذر استفاده شدند. برای از بین بردن رکود عمیق فیزیولوژیکی از اسید جیبرلیک (در غلظت‌های ۱۲۵ و ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر) و نیترات پتاسیم (۱۰۰ و ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم در لیتر) به همراه تیمارهای خراش‌دهی (چاقو، سمباده و اسید سولفوریک) استفاده شد. نتایج آزمون تترازولیوم زنده بودن درصد بالایی از بذرها را تایید کرد. از بین تیمارهای مورد استفاده برای خراش‌دهی پوسته بذر، تیمار خراش‌دهی مکانیکی (سمباده و چاقو) و تیمار اسید سولفوریک با زمان طولانی (۳۰ دقیقه) تاثیر مطلوبی را بر افزایش نفوذپذیری پوسته بذر نشان دادند. بررسی تاثیر متقابل خراش‌دهی پوسته بذر و تیمارهای مواد شیمیایی برای از بین بردن رکود عمیق فیزیولوژیکی تاثیر مطلوب تیمارهای خراش‌دهی با سمباده و چاقو را تایید کرد. همچنین تیمار جیبرلیک اسید در غلظت ۵۰۰ میلی گرم در لیتر بیشترین تاثیر را در از بین بردن رکود عمیق فیزیولوژیکی را نشان داد.

کلید واژه: سیاه توسه، رکود بذر، خراش‌دهی فیزیکی و شیمیایی، اسید جیبرلیک، نیترات پتاسیم، جوانه‌زنی.

## مقدمه:

سیاه توسه با نام علمیMillFrangula alnusگیاهی از خانواده عناب است. منشا این گیاه اروپای شمالی و مرکزی، آسیا، سیبری و ایران است. در ایران، در جنگل‌های شمال کشور در نور و لاهیجان یافت می‌شود (صمصام شریعت، ۱۳۸۹). سیاه توسه یکی از گیاهان دارویی با ارزش این خانواده است که در صنایع داروسازی، رنگ سازی و صنایع چوب کاربرد فراوان دارد (امید بیگی، ۱۳۸۸). پرورش این گیاه دارویی ارزشمند در کشور معمول نیست لیکن به لحاظ اهمیت و استفاده روزافزون آن در صنایع داروسازی از پوست این گیاه، نمی‌توان تنها به استفاده از گیاهان وحشی رو به انقراض اکتفا نمود. تکثیر این گیاه از طریق جنسی و کاشت بذر امکان پذیر می‌باشد. اما بذر این گیاه به دلیل داشتن پوسته‌ی سخت قادر به جوانه زنی آسان نبوده و تعداد کمی از بذور به گیاهچه تبدیل می‌شود. از طریق رویشی نیز به دلیل وجود متابولیت‌های ثانویه در پوست شاخه، به سختی از طریق قلمه زدن قابل تکثیر است.

برای ازبین بردن رکود فیزیکی روش های مختلف تیمارهای خراش دهی که باعث نرم شدن یا ضعیف شدن پوسته بذر می‌شوند توصیه می گردد. بذور سخت معمولا برای تسهیل جذب آب و جوانه زنی به خراش دهی شیمیایی، فیزیکی و غوطه وری در آب در حال جوشیدن، استراتیفیکاسیون و یا هوادیدگی نیاز دارند (فلوی، ۲۰۰۱). به طور کلی، هر تیماری که نفوذ پذیری پوسته ی بذر را از بین ببرد یا کاهش دهد، خراش دهی یا اسکاریفیکاسیون نامیده می‌شود (لاکروکس و استینفورس، ۱۹۶۴). روش‌های مختلفی برای نرم کردن پوسته های بذر و سایر پوشش‌های همراه بذر مانند خراش دهی مکانیکی، خراش دادن با آب گرم، خراش دهی با اسید، خراش

دهی مرطوب گرم و خراش دهی با دمای زیاد استفاده می‌شوند (خوشخوی، ۱۳۸۴). خیساندن این بذور در اسید سولفوریک، اسید رقیق به مدت چند دقیقه نیز سبب نازک شدن پوسته ی بذر و تسریع در جوانه زنی خواهد شد.

با توجه به موطن و شرایط آب و هوایی مورد نیاز برای گیاهان خانواده عناب، بذور این خانواده به طور معمول دارای رکود از نوع درونی هستند که شامل رکود عمیق فیزیولوژیکی می‌باشد. بهترین روش از بین بردن رکود فیزیولوژیکی تیمارهای چینه سرمایی است که به طور معمول این تیمارها در سردخانه یا در شرایط طبیعی با استفاده از سرمای موجود در طبیعت انجام می‌گردد. با این حال چینه سرمایی مرطوب نیاز به زمان طولانی دارد (خوشخوی، ۱۳۸۸). در بسیاری از پژوهش‌ها برای از بین بردن رکود فیزیولوژیکی در کوتاه مدت از تیمارهایی نظیر کاربرد جیبرلین یا نیترات پتاسیم استفاده شده است. این ترکیبات می‌توانند جایگزین سرما شده و رکود بذر را از بین ببرند. بسیاری از انواع جیبرلین‌ها، تحریک کننده جوانه زنی هستند اما در این بین اسید جیبرلیک بیشترین استفاده را در از بین بردن رکود فیزیولوژیکی دارد (وادا و رید، ۲۰۱۱). واکنش بذور گیاهان مختلف به جیبرلین یا نیترات پتاسیم متفاوت بوده و غلظت این ترکیبات نیز در میزان تاثیر آنها بر برطرف نمودن رکود موثر است.

پژوهش حاضر با هدف شناسایی موانع جوانه زنی یا رکود بذر گیاه سیاه توسه و بررسی جوانه زنی بذور نمونه‌های جمع آوری شده و همچنین یافتن تیمارهای مناسب برای از بین بردن رکود بذر این گیاه با استفاده از تیمارهای برطرف کننده رکودهای فیزیکی و فیزیولوژیکی انجام شده است.

## مواد و روش ها

میوه‌های رسیده و سیاه رنگ گیاه دارویی سیاه توسه در اواخر شهریور از درختان بالغ بالای ۵ سال در ارتفاع ۱۰۳۳ متر از سطح دریا از موطن اصلی گیاه در استان گیلان جمع آوری گردید و بذرگیری صورت گرفت. زنده بودن بذور با استفاده از محلول تترازیلیوم کلراید (۱٪) در ژرمیناتور با دمای ۲± ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و شرایط تاریکی و پس از ۳۰ ساعت زیر استریومیکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت.

از تیمارهای شاهد (بدون خراش دهی)، خراش دهی با سمباده، خراش دهی با تیغ یا چاقو، خراش دهی با اسید سولفوریک به مدت ۲، ۴، ۸، ۲۰ و ۳۰ دقیقه برای خراش‌دهی پوسته بذر استفاده شد. در هر تیمار تعداد ۷۵ بذر در سه تکرار (۲۵ عدد بذر در هر تکرار) مورد مطالعه قرار گرفت. پس از تیمارهای اسید سولفوریک غلیظ، بذرها به مدت ۱۰ دقیقه با آب مقطر آبکشی شدند. در تمامی تیمارها، بذور قبل از قرار گرفتن در داخل پتری دیش با ترازوی دقیق (با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم) وزن شده و پس از اضافه کردن آب به پتری دیش‌ها، از نظر سرعت و میزان جذب آب با فاصله هر ۶ ساعت مورد بررسی قرار گرفتند.

برای برطرف نمودن رکود فیزیولوژیکی بذور، روی بهترین‌های تیمار خراش دهی شامل خراش دهی با اسید سولفوریک به مدت ۳۰ دقیقه، خراش دهی با سمباده و خراش دهی با چاقو تیمارهای زیر به صورت آزمایش فاکتوریل با دو فاکتور نوع خراش دهی در سه سطح و تیمارهای شاهد، نیترات پتاسیم در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرومولار و جیبرلیک اسید در غلظت‌های ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر در هفت سطح در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و تعداد ۲۵ بذر در هر تکرار انجام گرفت. بدین منظور بذرها پس از ضد عفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم در غلظت یک درصد به مدت ۵ دقیقه در داخل پتری‌دیش، روی کاغذ صافی قرار گرفتند و توسط محلول‌های تهیه شده از تیمارهای فوق تیمار شدند. سپس پتری‌دیش‌ها به درون ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده و جوانه زنی بذرها روزانه مورد ارزیابی قرار داده شد.

آزمایش‌های ذکر شده به صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و یک پتری دیش در هر تکرار انجام شدند. داده های حاصل با استفاده از نرم افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱، کارولینای شمالی، آمریکا) آنالیز شده و با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن میانگین‌ها با هم مقایسه شدند.

## نتایج و بحث

بذرهای پوسته جدا شده تیمار شده با ترازولیوم کلراید گیاه دارویی سیاه توسه پس از ۳۰ ساعت شروع به تغییر رنگ کردند و در نهایت پس از ۴۸ ساعت به اندازه کافی به رنگ قرمز تغییر رنگ نشان دادند تا زنده مانی بذرها مشخص شود. در زمان پنج هفته پس از برداشت میوه، ۹۶/۷ درصد از بذرها تغییر رنگ نشان دادند. بذر سیاه توسعه جزو بذرهای متوسط عمر است. زنده‌مانی بذرها با گذشت زمان نگهداری کاهش یافت. لونا و همکاران (۲۰۰۱) بیان کردند که بذرهای گیاهان جنس Rhamnus می‌توانند به مدت ۵ تا ۷ سال در صورتیکه در دمای ۳ تا ۵ درجه سانتیگراد نگهداری شوند جوانه زنی مطلوبی را داشته باشند

اثر تیمارهای خراشدهی بر میزان جذب آب و افزایش وزن بذر سیاه توسه در تمامی زمانهای اندازه گیری وزن در سطح یک درصد معنی دار شد. در زمان ۴۸ ساعت پس از تیماردهی، بیشترین جذب آب در تیمارهای خراش‌دهی با اسید سولفوریک به مدت ۳۰ دقیقه و خراش دهی با چاقو مشاهده شد. پس از آن تیمار خراش‌دهی با سمباده قرار گرفت. در این زمان بین تیمار اسید سولفوریک غلیظ به مدت ۲۰ دقیقه و تیمار شاهد اختلاف معنی داری مشاهده نشد. تیمارهای اسید سولفوریک غلیظ به مدت، ۴ و ۸ دقیقه افزایش وزن کمتر از تیمار شاهد را نشان دادند و کمترین میزان افزایش وزن در تیمار اسید سولفوریک غلیظ به مدت ۲ دقیقه مشاهده شد.

تیمارهای خراش‌دهی، تیمارهای هورمونی و اثر متقابل بین تیمارهای خراش‌دهی و تیمارهای هورمونی اثر معنی داری را در سطح یک درصد برجوانه زنی بذر سیاه توسه نشان داد. در اثر متقابل خراش‌دهی و تیمارهورمونی بالاترین درصد جوانه زنی در تیمار جیبرلیک اسید ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر به همراه تیمار خراش‌دهی سمباده مشاهده گردید. پس از آن تیمار های اسید جیبرلیک ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر به همراه تیمار خراش‌دهی با چاقو و اسید جیبرلیک ۵۰۰ و ۲۵۰ میلی گرم در لیتر به همراه تیمار خراش‌دهی با سمباده مشاهده شد. درتیمارهای خراش‌دهی با اسید سولفوریک غلیظ و تیمارهای شاهد هورمونی هیچگونه جوانه زنی بذر مشاهده نشد (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل خراش‌دهی و تیمار هورمونی بر جوانه زنی بذر سیاه توسه

| تیمار | سمباده | چاقو | اسید سولفوریک غلیظ |
|---|---|---|---|
| شاهد | ۰/۰۰f | ۰/۰۰ f | ۰/۰۰ f |
| جیبرلیک اسید ۱۲۵ | ۴۴/۸۰c | ۳۶/۰۰ c | ۰/۰۰ f |
| جیبرلیک اسید ۲۵۰ | ۶۲/۴۰b | ۴۸/۰۰ b | ۰/۰۰ f |
| جیبرلیک اسید ۵۰۰ | ۶۵/۳۲a | ۵۲/۰۰ b | ۰/۰۰ f |
| نیترات پتاسیم ۱۰۰ | ۱۰/۶۸ e | ۱۰/۶۸ e | ۰/۰۰ f |
| نیترات پتاسیم ۲۰۰ | ۶/۶۸ e | ۶/۶۸ e | ۰/۰۰ f |
| نیترات پتاسیم ۴۰۰ | ۶/۶۸e | ۱۷/۳۲d | ۰/۰۰ f |

حروف همسان نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵٪ با استفاده از آزمون دانکن می باشد.

تیمار خراش دهی به روش فیزیکی (کاغذ سمباده و استفاده از چاقو) بر درصد سبز شدن بذر های سیاه توسه دارای بیشترین اثر نسبت به سایر تیمارها بود. این نتیجه با نتایج پژوهش قاسمی پیربلوطی و همکاران (۱۳۸۶) مطابقت داشت. این پژوهشگران از روش‌های

خراش‌دهی فیزیکی (کاغذ سمباده)، آب گرم، اسید سولفوریک غلیظ جهت جوانه زنی نمونه های بذر دو گونه گون و یونجه استفاده نمودند و نتیجه گرفتند که درصد کامل جوانه زنی و سریع سبز شدن نمونه بذر دو گونه به روش فیزیکی (کاغذ سمباده) حاصل شد.
همچنین این نتیجه با تحقیق بوسکاگلیا و ستته۱ (۲۰۰۱) مطابقت داشت. این پژوهشگران جهت افزایش جوانه زنی مرزه گونهS.montana از تیمارهای برش پوسته بذر، خراش دهی با کاغذ سمباده، اسید سولفوریک غلیظ، ماورا صوت، گرمای خشک و مرطوب و رفع خواب فیزیولوژیک از تیمارهای پیش سرما در دمای ۵ تا ۷ درجه سانتی گراد برای دو ماه با تنش بذور با آب و الکل اتانول و جیبرلیک اسید برای تحریک جنین استفاده نمودند. براساس نتایج آنها، روش خراش دهی با استفاده از برش پوسته بذر و کاغذ سمباده بیشترین اثر را روی افزایش جوانه زنی نسبت به سایر تیمارها داشت.
شارما و گریو (۲۰۰۵) مشاهده کردند که در بذرهای گونه های جنس Rhamnus تیمار اسید سولفوریک باعث کاهش شدید جوانه زنی بذر گردید که این موضوع با پژوهش حاضر مطابقت دارد. اگرچه از نظر جذب آب، تیمار اسید سولفوریک غلیظ به مدت ۳۰ دقیقه باعث افزایش جذب آب گردید اما با توجه به نتایج حاضر و نتایج شارما و گریو (۲۰۰۵)، به نظر می رسد بذر گونه های جنس Rhamnus به تیمار اسید سولفوریک غلیظ حساس هستند و ممکن است رویان آنها در اثر اسید سولفوریک آسیب می بیند که این موضوع نیازمند بررسی بیشتر است.
همچنین در بررسی اثر تیمارهای مختلف روی جوانه زنی ۵ گونه دارویی نشان داده شد که تیمار نیترات پتاسیم و جیبرلیک اسید بیشترین اثر مثبت را دارا بود. اثر نیترات پتاسیم می تواند به دلیل به تعادل رساندن نسبت هورمونی در بذر و کاهش مواد بازدارنده های رشدی نظیر آبسیزیک می باشد که در نهایت باعث شکسته شدن خواب فیزیولوژیکی بذر می شود (فرهادی و همکاران، ۱۳۸۵). در پژوهش حاضر جیبرلیک اسید بسیار بیشتر از نیترات پتاسیم باهث افزایش حوانه زنی بذور سیاه توسه گردید.

## منابع


امیدبیگی، رضا، ۱۳۸۸. تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد اول. چاپ پنجم. انتشارات آستان قدس رضوی.

خوشخوی، مرتضی، ۱۳۸۴. گیاه افزایی (ازدیاد نباتات). مبانی و روش‌ها (ترجمه). چاپ ششم. مرکز نشر دانشگاه شیراز.

صمصام شریعت، هادی،. ۱۳۸۶. گزیده گیاهان دارویی. چاپ دوم. اصفهان. انتشارات مانی.

فرهادی، م. شریفانی، م. حشمت الله، ح. کوهرفی، ع. ۱۳۸۵. تاثیر پوسته بذر و سرمادهی مرطوب بر جوانه زنی بذر سفید پلت، نشریه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۱۳ (۲): ۴۴ تا ۴۹

قاسمی پیربلوطی، ع. گلپرور، ا. ریاحی دهکردی، م. نوید، ع. ۱۳۸۶. بررسی اثر تیمارهای مختلف در شکستن خواب و تحریک جوانه زنی بذر ۵ گونه گیاه دارویی منطقه چهارمحال بختیاری. پژوهش و سازندگی، ۱۹۲. ۷۴-۱۸۵

Boscaglia, B. and B. Sette, ۲۰۰۱. Seed germination enhancement in Satureja montana. Journal of Seed Science and Technology, ۲۹: ۳٤۷-۳٥٥.

Foley, M.E. ۲۰۰۱. Review article: seed dormancy and update on terminology, physiological, genetics, and quantitative trait loci regulating germin ability. Weed Scienc, ٤۹:۳۰٥-۳۱۷.

Lacroix, L. J. and D.W. Steniforth, ۱۹٦٤. Seed dormancy in velvet leaf. Weeds, ۱۲:۱۷۱-۱۷٤.

Luna, T., D. Wick, and J. Evans. ۲۰۰۱. Propagation protocol for production of container Rhamnus alnifolia L'Her plants. Glacier National Park, West Glacier, MT. In: Native Plant Network. URL: http:// www.nativeplantnetwork.org (accessed December, ۲۰۱۲).


[1]- Boscaglia and Sette

Sharma J. and W.R. Graves, ۲۰۰۵. Propagation of Rhamnus alnifolia and Rhamnus laceolata by seeds and cuttings. Journal of Environmental Horticulture, ۲۳(۲):۸٦-۹۰.
Wada S. and B.M. Reed, ۲۰۱۱. Optimized scarififcation protocols improve germination of diverse Rubus germplasm. Scientia Horticulturae, ۱۳۰: ٦٦۰-٦٦٤.

## Study on Physical and Physiological Seed Dormancy in Frangula alnus Medicinal Plant

**Edris Mahdavi Fikejvar[۱], Hassan Sarikhani[۲], Seyed Reza Tabaei Aghdaei[۳]**
۱) Islamic Azad Univesrity, Karadj Branch, Karadj, Iran. ۲) Department of Horticultural Science, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran. ۳)Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran

**Abstract**
Glossy buckthorn (Frangula alnus), one of endangered medicinal plant, is native to northern part of Iran. The propagation, vegetative or sexual is very difficult. In the present study, seeds were collected from its natural habitant. First, seed viability were analyzed by using triphenyl tetrazolium chloride. For physical scarification, a sharp knife or sand paper were utilized. For chemical scarification, seeds were immersed in pure sulphuric acid up to ۲, ٤, ۸, ۲۰ or ۳۰ min and were evaluate for their water absorption ability. After scarification, different treatments of gibberellic acid (۱۲٥, ۲٥۰ and ٥۰۰ mg/l) and potassium nitrate (۱۰۰, ۲۰۰ and ٤۰۰ mg/l) together with selected scarification treatments (sharp knife, sand paper and sulphuric acid) were applied to break dormancy and speed up the germination process. Results showed that seeds scarified with knife; sand paper or treated with sulphuric acid for ۳۰ min absorbed the highest. However, results of interaction of scarification and physiological dormancy breaking treatments showed significant germination of such seeds under knife and sand paper scarification. Beside, significant effects of gibberellin at ٥۰۰ mg/l on seed germination were observed. These results suggested that Frangula alnus seeds' paradormancy and endodormancy could be removed by acid scarification and gibberellic acid treatment; respectively.
Keywords:Glossy buckthorn, Frangula alnus, seed dormancy, physical and chemical scarification, gibberellin, germination.