

بهبود تنژگی بذر درخت دارویی - زینتی خرنوب (*Ceratonia siliqua* L.) با استفاده از اسید و تعیین ماندگاری دانهال در دو

محیط کشت

احمد علی رستمی (۱)، محمد جمال سحرخیز (۲)، علیرضا شهسوار (۲)، سعید عشقی (۲)

۱- دانشجوی دکتری بخش علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، ۲- استادیار بخش علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

در پژوهش حاضر به منظور خراش دهی بذرهای مربوط به توده محلی خرنوب، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با به کارگیری تیمارهای ۵۰، ۶۵، ۸۰ و ۹۷٪ اسید سولفوریک در مدت های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه در ۴ تکرار روی بذر اعمال شد. درصد، سرعت، بیشینه تنژگی (PV)، میانگین تنژگی روزانه (MDG) و ارزش تنژگی بذر (GV) محاسبه گردید. نتایج نشان داد که تیمار خراش دهی در تمام غلظت های اسید و زمان های اعمال تیمار نسبت به شاهد به طور معنی داری (سطح احتمال ۱٪) باعث افزایش درصد، سرعت، میانگین تنژگی روزانه و ارزش تنژگی شد. درصد ماندگاری دانهال ها در محیط کشت ورمی کولایت در تیمار اسید ۹۷٪ و مدت ۳۰ دقیقه نسبت به شاهد و تمامی تیمارها در سطح آماری ۱٪ برتر بود. همچنین خراش دهی با تیمار اسید ۹۷٪ و زمان ۳۰ دقیقه درصد تنژگی بذر خرنوب را تا ۹۷/۵٪ افزایش داد در حالی که درصد تنژگی در شاهد ۲۶٪ بود.

واژه های کلیدی: خرنوب، ارزش تنژگی، اسیدسولفوریک، خراش دهی، محیط کشت.

مقدمه

در میان درختان گرمسیری و نیمه گرمسیری به دلیل ایجاد ریشه های عمیق و سازگاری آن با تنش های کم آبی از اهمیت فراوانی در مناطق خشک و نیمه خشک برخوردار است و کاربردهای فراوانی از نظر دارویی، صنعتی و زینتی دارا است (۱). خرنوب جز گیاهان سخت ریشه زا بوده و توانایی تولید ریشه های نابجا از قلمه های آن بسیار کم است. بنابراین تکثیر خرنوب از طریق جنسی و با استفاده از بذر در اولویت قرار دارد (۳). پژوهش های معدودی در مورد تکثیر خرنوب از طریق بذر انجام شده است. چنین نتیجه گیری شده است که بذر خرنوب از بذرهای سخت^۳ بوده و به علت غیر قابل نفوذ بودن پوسته نمی تواند آب جذب نماید و در حالت خموشی به سر می برند (۵). در پژوهش حاضر با توجه به اهمیت و ارزش فراوان دارویی، صنعتی و زینتی گیاه خرنوب و نبود اطلاعات کارآمد و کافی در ارتباط با ازدیاد این گیاه ارزشمند، افزایش این گیاه با استفاده از بذر و با به کارگیری تیمارهای مختلف خراش دهی با اسید به منظور بهبود تنژگی بذر مورد بررسی قرار گرفت. همچنین تمامی فاکتورهای مرتبط با زیوایی و ماندگاری دانهال های تولیدی در محیط های کشت مختلف مورد ارزیابی قرار گرفتند.

مواد و روش ها

غلاف های حاوی بذر خرنوب از درختان خودرو در اوایل تیرماه جمع آوری شد. به منظور بر طرف کردن رکود فیزیکی مربوط به پوسته سخت بذر، تیمارهای اسید سولفوریک با غلظت های ۵۰، ۶۵، ۸۰ و ۹۷٪ در زمان های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه انتخاب و اعمال شدند. تیمار اسید در دمای اتاق و با نسبت یک قسمت بذر و دو قسمت اسید اعمال شد. سپس توده های بذری خراش دهی شده به مدت ۲۴ ساعت در زیر آب جاری قرار داده شدند. در مرحله بعد بذرهای شمارش گردیدند و در پتری ها قرار داده شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی طرح ریزی شد به گونه ای که هر تیمار شامل چهار تکرار و هر تکرار دارای ۴۰ عدد بذر بود. درصد تنژگی تعیین و سرعت تنژگی هم بر مبنای میانگین تعداد روز لازم برای تنژگی، بیشینه ی تنژگی و ارزش تنژگی در انتهای آزمایش تعیین شدند.

بذرهای تنژیده مربوط به غلظت های اسید سولفوریک ۵۰ و ۹۷٪ در تیمار زمانی ۳۰ دقیقه که مربوط به دو غلظت متفاوت و حائز ارزش تنژگی به نسبت بالایی بودند انتخاب و به طور جداگانه و به صورت ۴ تکرار و در هر تکرار ۱۵ بذر تنژیده را به گلدان های جیفی پات حاوی محیط های کشت پرلایت و ورمیکولایت منتقل شدند. درصد ماندگاری بر اساس خروج برگ های اولیه از سطح محیط کشت و جدا شدن پوسته بذر از برگهای اولیه

دانهال، ثبت شد. نتایج به دست آمده در هر دو بخش پژوهش تجزیه آماری گردید و میانگین ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح آماری ۱٪ با هم مقایسه شدند.

نتایج و بحث

در تیمارهای اسید ۶۵ و ۸۰٪ بذرها از تنزیدن و رشد بعدی بازماندند. بنابراین، آزمایش با بقیه تیمارها ادامه یافت. خراش دهی با سایر غلظت‌های اسید بر بهبود تنزگی بذرها موثر بوده و درصد تنزیدن بذرها ی مورد تیمار را نسبت به شاهد در سطح احتمال ۱٪ افزایش داده است (جدول ۱). بیشترین درصد تنزگی (۹۷٫۵٪) از تیمار اسیدسولفوریک ۹۷٪ در ۳۰ دقیقه به دست آمد که با اسید ۹۷٪ در ۱۰ و ۲۰ دقیقه و همچنین اسید ۵۰٪ در ۳۰ دقیقه تفاوت معنی دار آماری نداشت ولی با اسید ۵۰٪ در ۱۰ و ۲۰ دقیقه تفاوت معنی دار نشان داد. از طرفی بین زمان های ۱۰ و ۲۰ دقیقه خراش دهی با اسیدسولفوریک ۵۰٪، تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۱٪ مشاهده نشد. لازم به ذکر است که تیمارهای اسید به کار رفته در مقایسه با شاهد که تنها ۲۶٪ تنزگی داشت، تفاوت معنی دار آماری نشان دادند (جدول ۱). نتایج مربوط به بیشینه تنزگی (PV) در شاهد برابر با ۳/۱ و در تیمار اسیدسولفوریک ۹۷٪ در مدت های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه به ترتیب برابر با ۱۲/۷، ۱۲ و ۱۲۰/۸ بود (جدول ۱). از آن جایی که پس از خراش دهی پوسته، بذر قابلیت جذب آب و تبادلات گازی به ویژه اکسیژن را پیدا می کند، بنابراین براساس نظریه ی نیمادزانوف و همکاران (۲) جذب آب و تبادلات گازی به ویژه اکسیژن در آن ها بالا رفته و باعث تسریع فعالیت آنزیم ها گشته و با سرعت بیشتری بتنژند که این موضوع با محاسبه ارزش تنزگی بر اساس مدل چاباتور تائید شد. نتایج نشان داد که اثر تیمارهای خراش دهی با اسیدسولفوریک ۵۰ و ۹۷٪ در مدت زمان های اعمال تیمار همگی نسبت به شاهد اختلاف قابل توجه ای داشتند (جدول ۲). ارزش تنزگی اسید ۹۷٪ در زمان های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه به ترتیب برابر با ۱۲۷/۳، ۲۲۸/۶ و ۲۴۳/۷ بود و ارزش تنزگی اسید ۵۰٪ در مدت زمان ۱۰، ۲۰، ۳۰ دقیقه به ترتیب برابر با ۷۴/۷، ۱۲۰ و ۱۲۷/۵ و در شاهد ارزش تنزگی بسیار اندک و برابر با ۱۰/۵ به دست آمد. میانگین تنزگی روزانه در تیمار اسید ۹۷٪ در زمان های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه به ترتیب برابر با ۱۰/۱، ۱۱/۹ و ۱۲/۱ بود و در تیمار اسید ۵۰٪ در مدت زمان ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه به ترتیب برابر با ۹/۵ و ۹/۹ و ۱۰/۵ و در شاهد میانگین تنزگی روزانه بسیار اندک و برابر با ۳/۳ محاسبه شد (جدول ۱).

در محیط کشت ورمیکولایت درصد بیرون آمدن دانهال ها از سطح محیط کشت در غلظت های اسید ۹۷ و ۵۰٪ در زمان ۳۰ دقیقه به ترتیب برابر با ۱۰۰ و ۹۸/۳۳٪ و فاقد اختلاف آماری معنی دار و درصد جداشدن پوسته سخت بذر از برگ های اولیه ی دانهال در این دو تیمار به ترتیب برابر با ۹۵ و ۶۴/۲۹٪ که دارای اختلاف معنی دار در سطح آماری ۱٪ بودند. در محیط کشت پرلایت درصد بیرون آمدن دانهال از سطح محیط کشت در تیمارهای اسید ۹۷ و ۵۰٪ در مدت ۳۰ دقیقه به ترتیب برابر ۸۵ و ۶۱/۶۷٪ و همچنین درصد جدا شدن پوسته سخت بذر از برگ های اولیه ی دانهال به ترتیب برابر با ۶۶/۴۲ و ۴۵٪ و دارای اختلاف معنی دار آماری در سطح آماری ۱٪ بودند (جدول ۲). همچنین بین دو محیط کشت مورد بررسی از نظر تاثیر بر بیرون آمدن دانهال ها و جدا شدن پوسته سخت بذرها ی مورد تیمار تفاوت معنی داری مشاهده شد. در مورد بیرون آمدن دانهال ها از سطح محیط کشت پرلایت، بین تیمارهای اسید ۵۰ و ۹۷٪ در مدت ۳۰ دقیقه اختلاف معنی داری در سطح آماری ۱٪ مشاهده گردید و نتیجه گیری شد که بر خلاف این که محیط کشت مورد استفاده در هر دو تیمار پرلایت بود ولی در تیمار مربوط به غلظت اسید ۹۷٪ با مدت زمان ۳۰ دقیقه چون پوسته بذر در اثر خراش دهی نازک تر شده بود، بنابراین بر خلاف میزان آب کمتر در پرلایت، بذرها قادر به جذب آب بیش تری گردیده و رشد آنها تسریع شده و دانهال ها نیز بهتر از سطح بستر بیرون آمدند. هم چنین در مورد جدا شدن پوسته ی سخت بذر از برگ های اولیه ی دانهال نیز این رابطه وجود داشت. به این صورت که هر چه خراش دهی با غلظت بالاتر اسید انجام شود، پوسته سخت بذر نازک تر شده و به هنگام رشد برگ های اولیه، جدا شدن پوسته بذر از آنها آسان تر خواهد بود (۴).

به طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بذر خرنوب دارای خفتگی از نوع فیزیکی و مقداری مکانیکی بوده و بی درنگ پس از خراش دهی با اسید سولفوریک (به ویژه اسید ۹۷٪ در زمان ۳۰ دقیقه) شروع به تنزیدن کرده و تیمار خراش دهی نسبت به شاهد بیش از ۳۷۰٪ منجر به افزایش تنزیدن می شود. افزون بر این با بررسی ماندگاری دانهال های بذرها ی تنزیده در دو محیط کشت ورمی کولایت و پرلایت مشخص شد که بذرها ی بیش تر خراش

هفتمین کنگره علوم باغبانی ایران، ۱۴ تا ۱۷ شهریور ماه ۱۳۹۰، دانشگاه صنعتی اصفهان

دهی شده (اسید ۹۷٪ در زمان ۳۰ دقیقه) در محیط کشت ورمی کولایت شرایط بهتری را داشتند. بنابراین تیمار اسید ۹۷٪ در زمان ۳۰ دقیقه به عنوان بهترین تیمار در بهبود تنژگی بذر خرنوب معرفی میگردد.

جدول ۱- تاثیر غلظتها و مدت زمانهای مختلف تیمار با اسیدسولفوریک بر تنژیدن بذر خرنوب

تیمار	در صد تنژیدن	ارزش بیشینه (PV)	میانگین تنژگی روزانه (MDG) (%)	ارزش تنژیدن (GV)
شاهد	c 26.88	۳/۱۲۵	۳/۳	۱۰/۵
اسید ۹۷ در صد در ۱۰ دقیقه	a 81.25	۱۲/۵	۱۰/۱	۱۲۷/۳
اسید ۹۷ در صد در ۲۰ دقیقه	a 95.63	۱۹/۲۱	۱۱/۹	۲۲۸/۶
اسید ۹۷ در صد در ۳۰ دقیقه	a 97.50	۲۰	۱۲/۱	۲۴۳/۷
اسید ۵۰ در صد در ۱۰ دقیقه	b 76.25	۷/۷۶	۹/۵	۷۴
اسید ۵۰ در صد در ۲۰ دقیقه	b 79.38	۱۲	۹/۹	۱۲۰
اسید ۵۰ در صد در ۳۰ دقیقه	a 83.75	۱۲/۰۸	۱۰/۵	۱۲۶/۵

میانگین هایی که دارای یک حرف مشترک می باشند در سطح آماری ۱٪ آزمون دانکن معنی دار نیستند.

جدول ۳- تاثیر غلظتهای مختلف اسید سولفوریک و نوع محیط کشت بر تنژش بذر خرنوب

تیمار	بیرون آمدن دانهال از سطح محیط کشت (%)	جدا شدن پوسته سخت بذر از برگهای اولیه دانهال (%)
اسید ۹۷ درصد در ۳۰ دقیقه در محیط کشت ورمی کولایت	۱۰۰ a	۹۵ a
اسید ۹۷ درصد در ۳۰ دقیقه در محیط کشت پرلایت	۸۵ b	۶۶.۴۲ b
اسید ۵۰ درصد در ۳۰ دقیقه در محیط کشت ورمی کولایت	۹۸.۳۳ a	۶۴.۲۹ b
اسید ۵۰ درصد در ۳۰ دقیقه در محیط کشت پرلایت	۶۱.۶۷ c	۴۵ c

میانگین هایی که در هر ستون دارای یک حرف مشترک می باشند در سطح آماری ۱٪ آزمون دانکن معنی دار نیستند.

منابع

- Baskin, C.C. and J. Baskin. 2004. A classification system for seed dormancy. Seed Sci. Res. 14: 1-16.
- Battle, I. 1997. Current situation and possibilities of development of the carob tree (*Ceratonia Siliqua* L.) in the Mediterranean region un published FAO Report. Rome. Italy.
- Battle, I. and J. Tous. 1997. Carob tree, *Ceratonia siliqua* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 17. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research. Gatersleben/ IPGRI, Rome, Italy.
- Brant, R., E.G.W. McKee and R.W. Cleveland. 1971. Effect of chemical and physical treatment on hard seed of Penn gift crown veten. Crop Sci. 11: 1-6.
- Brown, R. 1972. Germination In plant physiology. Vol. 7c, F. C. steward (Ed.). New York: Academic press. 234 p.

The Carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) is a dioecious evergreen plant. Carob widely used for medicinal, industrial, and ornamental purposes. The vegetative propagation of carob by cutting is not simple due to difficult to root cuttings and high required costs. On the other hand, because of seed coat thickness and physical dormancy, the

seed germination rate of this plant is very low in natural conditions (approximately, 25%). In order to scarify carob seeds a completely randomized design (CRD) using four sulfuric acid concentrations (50, 65, 80, and 97%) at the periods of 10, 20, and 30 minutes were designed. The germination features (percentage, value, and speed) of the seeds were recorded in all treatments. The results showed that all acid treatments significantly ($P \leq 0.01$) enhanced germination indices in comparison with the control. However, 97% acid at 20 and 30 minutes were the best scarification treatments for carob seeds. Moreover, for survival evaluation and subsequent growth of the seedlings, they were sown in two different growth media including vermiculite and perlite. The findings demonstrated that the survival of the seedlings which were obtained from 97% acid at 30 minutes and were planted in the vermiculite medium was significantly ($P \leq 0.01$) more in comparison with other treatments. In general, scarification of carob seeds with acid specially 97% at 30 min increased seed germination from 26 (control) to 97.5% and resulted in the highest seedlings survival in vermiculite medium.

Key words: Physical dormancy, Germination, Growth media, Scarification, Sulfuric acid