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

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 (Simmonds & Simpson, 1971). (1957) 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 &

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 C ۱۵° 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

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

**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 : ۱- بذرهای زیرین خفته (A) ۲- بذرهای زیرین غیرخفته (B) ۳- بذرهای زبرین خفته (C) ٤- بذرهای زبرین غیرخفته (D).

**ب ـ استخراج پروتئین‌ها و الکتروفورز**

درهر بار استخراج ۰/۵ گرم بذر که قبلا درهاون و در دمای C °٤-۰ ساییده شده بود با ۵ میلی لیتر بافر استخراج Tris – Gly در دمای C °٤-۰ مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه ساییده شد. سپس محلول حاصل به مدت ٦۰ دقیقه در ۱۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژگردید. محلول رویی پس از سانتریفوژ جدا ودر ویالهای کوچک در فریزر(C °۲۰ -) 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**

**۱- 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،