

## بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف هرمون TDZ بر گونه‌های آکاسیا *Acacia sp* به روش کشت درون شیشه‌ای بذر

روح الله اسماعیلی<sup>1</sup>، سجاد مدانلو<sup>2</sup>، سید محمد حسینی نصر<sup>3</sup>

### چکیده

آکاسیا از زیرتیره شب خسب *Mimosidea*، گونه سریع‌الرشد مقاوم به خشکی و مناسب برای زراعت تلفیقی است. در این تحقیق، تکثیر گونه آکاسیا آلبیدا و سالیسینا از طریق کشت درون شیشه‌ای بذر با کمک هورمون رشد TDZ مورد بررسی قرار گرفت. این امر بدلیل سرعت تولید نهال و رشد سریع آن در شرایط درون شیشه‌ای نسبت به شرایط کاشت بذر در طبیعت انجام شد. پس از این‌که بذور جمع‌آوری شده تحت تیمارهای مختلف با اسید سولفوریک غلیظ قرار گرفتند با استفاده از محلول  $HgCl_2$  "0/5 درصد" سترون شده، سپس در محیط کشت N6 همراه با غلظت‌های مختلف هورمون TDZ،  $0/1\mu m, 1\mu m, 10\mu m$  کشت شدند. نتایج تجزیه واریانس به‌لحاظ آماری در بین تیمارهای مورد استفاده اختلاف معنی‌داری را در گونه آکاسیا *albida* در سطح 5% نشان داد. مقایسه میانگین تیمارها بر اساس آزمون دانکن در سطح 5%، استفاده از محیط کشت N6 با استفاده از یک میکرومول TDZ را بیان نمود. نتیجه نهایی این تحقیق نشان داد که از نظر کشت درون شیشه‌ای بذر گونه‌های آکاسیا، تکثیر گونه آکاسیا *albida* با کمک هورمون TDZ از عملکرد بهتری برخوردار می‌باشد. این بررسی سترون بذور با اسید سولفوریک غلیظ و کشت در محیط N6 با استفاده از یک میکرومول TDZ را برای آزمایشات بعدی توصیه می‌نماید. بیش از 90 درصد بذور کشت شده پس از دو هفته جوانه زده و تشکیل دانه رست دادند که پس از شش هفته طی مراحل مختلف سازگاری به خاک گلدان آماده گشتند.

**واژه‌های کلیدی:** آکاسیا آلبیدا، آکاسیا سالیسینا، کشت درون شیشه‌ای بذر، هورمون تیدیاورون

1- دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشگاه مازندران و کارشناس اداره کل حفاظت محیط زیست مازندران

[Smailirohollah@yahoo.com](mailto:Smailirohollah@yahoo.com)

2- دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشگاه مازندران

3- عضو هیات علمی دانشگاه مازندران

## مقدمه

آکاسیا از زیرتیره شب خسب *Mimosidea*، درختی مناسب اقلیم گرمسیری و نیمه گرمسیری، در برگریزنده تعداد بسیار زیادی گونه‌های درختی و درختچه‌ای خزان‌کننده و همیشه‌سبز است. گل‌های نر و ماده آن به صورت مجزا از هم روی یک درخت قرار دارند. در گونه‌های مختلف، رنگ گل‌ها متفاوت می‌باشد و اکثر گل‌ها مورد علاقه زنبور عسل است (اسدی و باقری ۱۳۸۱). گونه "Acacia albida" دارای برگ و میوهایی است که غذای خوبی برای دام اهلی است. با این گونه می‌توان از انحطاط خاک جلوگیری کرد و با علوفه به دست آمده از آن از فشار دام بر سایر اراضی کاست و با مشکل خشکی و بیابان‌زایی مبارزه نمود. پایایی برگ این درخت در فصل خشکی سبب می‌گردد که این گونه برای زراعت تلفیقی *Agroforestry* بسیار مفید باشد (جزیره‌ای، ۱۳۸۰). گونه *A. salicina* از دیگر گونه‌های آکاسیا می‌باشد که بومی استرالیا مرکزی است و در خاک‌های بسیار ناتوان و ضعیف و کم عمق و گچی توانایی رشد دارد. ارزش علوفه‌ای ندارد اما برای بیابان‌زدایی و تهیه چوب سوخت بسیار مناسب است. ارزشمندی گونه‌های آکاسیا در موارد مختلف سبب گردیده که محققان بسیاری در سراسر دنیا بر روی تکثیر و توسعه آن، تحقیقات مختلفی به عمل آورند. در سال ۱۹۴۲، بونر<sup>۱</sup>، اولین تحقیقات را در زمینه کشت بافت گونه آکاسیا انجام داد ایشان با استفاده از ریشه گونه *Acacia minixylon* و محیط کشت‌های انتخاب شده در محیط کشت مایع، آزمایشاتی انجام دادند (ونگادسان<sup>۲</sup> و همکاران، ۲۰۰۲). آهی<sup>۳</sup> و همکارانش در سال ۱۹۹۴ به بررسی ریززدیای گونه *A. albida* پرداخته که در پایان، ریزنمونه‌های ریشه نتایج مناسب‌تری را از خود نشان دادند. دوهوکس<sup>۴</sup>، در سال ۲۰۰۰ به بررسی تأثیرات میزان ساکارز در شرایط *in vitro* با استفاده از محیط کشت MS بر روی گونه آکاسیا *albida* پرداختند (ونگادسان و همکاران، ۲۰۰۲). در سال ۲۰۰۱، سازمان جهانی کشاورزی و توسعه جنگل (IUAFD) اقدام به کشت بافت هیبریدهای مختلف آکاسیا کرده و با انجام یکسری آزمایش‌های خاص تأثیرات زمانی تهیه ریزنمونه و نحوه استریل کردن آن‌ها را بررسی نمود و دریافت که ماه‌های August و May بهترین زمان و استریل با ماده  $HgCl_2$  یک درصد، بهترین روش استریل تیمارهای آکاسیا است (ونگادسان و همکاران، ۲۰۰۲). در سال ۲۰۰۳، راشنی<sup>۵</sup>، اقدام به کشت بافت گونه آکاسیا *mangium* در محیط MS نمود و بابه‌کارگیری هورمون‌های  $GA_3$  و BA و باغلظت‌های معین، ریزنمونه‌ها را ریشه‌دار نمود. تکثیر معمول گونه آکاسیا از طریق بذر بوده و در میان تحقیقات کشت این ویتروی آکاسیا، استفاده از بذر آکاسیا اهمیت ویژه‌ای داشته که از آن میان می‌توان به تحقیقات ونگادسان و همکاران (۲۰۰۲)، زای و همکاران (۲۰۰۱) و جونز و همکاران (۱۹۹۰) اشاره نمود (ونگادسان و همکاران، ۲۰۰۲). بذور تیمار نشده آکاسیا اگر چه زنده‌مانی خود را تا مدتی حفظ می‌نمایند اما رویش بذری خیلی کمی، در حدود دو درصد دارند (جیمز و دوک، ۱۹۸۲). موفقیت در رویانیدن بذور آکاسیا در محیط این ویترو و پایه بسیاری از آزمایشات بعدی این گونه در محیط درون شیشه‌ای است. علاوه بر آن، امکان تکثیر سریع این گونه، در صورت تولید و تهیه ریزنمونه‌های مناسب از گیاهچه درون شیشه‌ای فراهم می‌شود. تیمارهای مختلفی برای بذر این گونه توصیه می‌شود که به نوع گونه و شرایط محیط کاشت بستگی دارد (رحمان و همکاران، ۲۰۰۰). خیساندن در آب سرد، خراش دادن، استفاده از آب جوش از تیمارهایی مورد

1- Bonner.E  
 2- Vengadesan  
 3- Ahee.E  
 4- Duhox.E  
 5- Rashni.M

استفاده برای این گونه بوده است (زای و همکاران، 2001). استفاده از اسید سولفوریک غلیظ به عنوان یکی از بهترین تیمارها معرفی شده است. هدف از این تحقیق، کشت درون شیشه‌ای بذراکاسیا *A. salicina* Lindl. و *A. albida* و بررسی تاثیر استفاده از غلظت‌های مختلف هورمون TDZ بر بذور بوده که بتوان ضمن مقایسه گونه‌های مختلف، تیمار مناسبی برای کشت سریع بذر این گونه یافته و در واقع با پیدا نمودن یک راه حل مناسب در جهت استفاده هر چه بهتر این گونه خشکی پسند در مزارع آگروفارستری، اقدام نماییم.

### مواد و روش‌ها

بذور مورد استفاده از دو گونه *Acacia* یکی بومی ایران و دیگری بومی استرالیا بوده که در ایران نیز یافت می‌شود. محل تهیه آنها از باغ بذر کلوده آمل بوده که هر دو نوع بذری به صورت تازه جمع‌آوری گردیدند. بذرها پس از جمع‌آوری ابتدا با محلول تیپول و آب به دفعات متوالی شستشو شدند. سپس بذور *A. salicina* و *A. albida* هر کدام به مدت ده و پانزده دقیقه در تیمار اسید سولفوریک غلیظ قرار گرفتند و متعاقباً با آب مقطر استریل به دفعات شستشو گردیدند. پس از این مرحله بذرها به مدت 10 دقیقه در محلول  $HgCl_2$  نیم درصد قرار گرفتند و سپس آبشویی با آب مقطر استریل در سه بار متوالی انجام پذیرفت، سپس به مدت 30 ثانیه ضد عفونی با محلول اتانل 70% و آبشویی نهایی با آب مقطر در سه مرتبه انجام گرفت. در انجام مراحل فوق از نتایج تحقیقات دیگران استفاده شده است. در پایان این مرحله در زیر هود مخصوص کشت بافت و در زیر لوپ با به کارگیری پنس ظریف، بذور را با احتیاط خارج و در روی محیط کشت N6 حاوی هورمون گیاهی تیدیا زورون TDZ در غلظت‌های  $0/1\mu m$ ،  $1\mu m$ ،  $10\mu m$  و محیط کشت بدون هورمون گیاهی مورد کشت قرار گرفتند. کشت‌ها در اتاق رشد با شرایط نوری کامل و با شدت نور 4500-50000 لوکس و در دمای 25 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. بازده جوانه‌زنی جنین (GC) بر اساس فرمول  $GC = (n/N) * 100$  مورد ارزیابی قرار گرفت که در آن n تعداد جنین جوانه زده و N تعداد کل بذور کشت شده می‌باشد. نتایج پس از هر چند روز مورد ثبت قرار می‌گرفت. آزمایش تجزیه واریانس با چهار تیمار غلظت‌های مختلف هورمون گیاهی تیدیا زورون (TDZ) بر پایه طرح کاملاً تصادفی در سطح دو تکرار با تعداد 80 بذر در هر تیمار به اجرا درآمد. مقایسه اثرات تیمارهای مختلف به روش دانکن جهت معرفی بهترین تیمار در جوانه‌زنی انجام شد.

### بحث و نتیجه‌گیری

پس از گذشت 10 الی 12 روز اکثر بذور کشت شده شروع به باز شدن نموده و ریشه‌چه و محور زیرلپه از میان آنها ظاهر شدند. تعدادی از بذور به رغم متورم شدن و باز شدن آن در محیط کشت در تیمارهای مورد استفاده، قادر به جوانه‌زنی نبوده و پس از مدتی به رنگ قهوه‌ای درآمد و پوسیده شدند. تجزیه واریانس داده‌های حاصل از جوانه‌زنی بذور آکاسیا سالیسینا تحت تیمارهای مختلف هورمون تیدیا زورون نشان داد که علی‌رغم رویش بیش از نود درصد جوانه‌های مورد کشت، اختلاف معنی‌داری بین استفاده از غلظت‌های مختلف هورمون و تیمار شاهد در جوانه‌زنی درون شیشه‌ای وجود ندارد (جدول 1). این ممکن است بدان معنی باشد که تیمارهای هورمونی برای جوانه‌زنی درون شیشه‌ای بذور آکاسیا سالیسینا الزامی نمی‌باشد. در حالیکه اثرات استفاده از تیمارهای غلظتی هورمون

درجوانه‌زنی بذور آکاسیا آلبیدا اختلاف معنی‌داری را در سطح 5% نشان داد (جدول 2). این تفاوت ممکن است به جهت گوناگونی غلظت یون پتاسیم و کلسیم موجود در بذر این دو گونه باشد (رحمان و همکاران 2000). مقایسه میانگین تیمارهای آکاسیا بر اساس آزمون دانکن در سطح 5%، تیمار یک میکرومول را به‌عنوان بهترین تیمار جوانه‌زنی معرفی نمود (جدول 3 و شکل 1). در توافق با این بررسی، لین و همکارانش (1994) نشان دادند که استفاده از 200 میکرومول هورمون تیدیاورون بر روی رویش بذری گونه *serotina Rhed cv. Niaux Pyrus* معادل 14 تا 21 روز پیش تیمار سرمایی است و می‌تواند به‌عنوان جانشینی برای پیش‌تیمار بذری و تسریع رویش بذری باشد (لین و همکاران، 1994). نیکولیک و همکارانش نیز در سال 2006، تاثیر مثبت استفاده از سیتوکنین‌ها را در رویش بذری خاطر نشان کردند که در این میان نقش هورمون زتین و تیدیاورون را پرتحرک‌تر از بقیه معرفی نمودند (نیکولیک و همکاران، 2006). در تطابق با این گزارش، استفاده از هورمون تیدیاورون در کشت این‌ویترو آکاسیا پیوسته مورد استفاده قرار گرفته‌است (زای و همکاران 2001، ونگادسان و همکاران 2002). علت اصلی ایجاد خواب بذر دسترسی نادرست بذر به آب، دما، نور و میزان اکسیژن می‌باشد که در این میان خواب پوسته بذر یا برون‌زا *Exogenous dormancy* که در اثر پوسته سخت بذر که برابر اکسیژن و رطوبت غیرقابل نفوذ است ایجاد می‌گردد و بیشتر در خانواده *Leguminose* دیده می‌شود. لذا در این خواب معمولا عوامل خواب در داخل بافت داخلی بذر قرار ندارند و رویش جنین تابع عوامل بیرونی ساختار بذری می‌باشد. بدین جهت پیش‌تیمار اسید سولفوریک غلیظ به مدت 10 تا 15 دقیقه می‌تواند به‌عنوان یکی از بهترین راه‌های رفع خواب بذری جهت نفوذ-پذیری پوسته بذر نسبت به آب و گازها برای رویش باشد. انتقال کشت به محیط کشت تازه پس از دو هفته نیز کمک موثری در جلوگیری از قهوه‌ای شدن جوانه‌های رویشی دارد.

جدول 1- نتایج تجزیه واریانس کشت بذری گونه آکاسیا Salicina

F	میانگین مربعات	مجموع مربعات	درجه آزادی	منبع تغییرات
ns 4/78	1/79	5/375	3	تیمار
	0/375	1/5	4	خطا
		6/875	7	کل

Ns: عدم اختلاف معنی دار

جدول 2- نتایج تجزیه واریانس کشت بذری گونه آکاسیا Albida

F	میانگین مربعات	مجموع مربعات	درجه آزادی	منبع تغییرات
12*	3	9	3	تیمار
	0/25	1	4	خطا
		10	7	کل

• معنی داری در سطح 5%

جدول 3- مقایسه میانگین تیمارهای آکاسیا albida بر اساس آزمون دانکن در سطح 5%

میانگین	تیمار
8/5a	N6+10 $\mu$ m TDZ
7/5a	N6+1 $\mu$ m TDZ
6bc	N6+0/1 $\mu$ m TDZ
6c	N6



شکل 1- نهال حاصل از کشت بذر آکاسیا آلبیدا در محیط کشت N6 همراه با یک میکرومول هورمون تیدیازورون

### تشکر و قدر دانی:

در پایان، از همکاری آقای دکتر حسینی نصر و آقای مهندس سجاد مدانلو، صمیمانه تشکر می‌شود.

## منابع

- 1- اسدی.ف و باقری.ر. 1381، بذرهای درختان پهن برگ. انتشارات شقایق روستا. 73 صفحه.
- 2- جزیره ای. م. 1380. جنگلکاری در خشکبوم. انتشارات دانشگاه تهران. 450 صفحه.
- 3- G.Vengadesan, A.Ganapathi, S.Amutha, N.Selvaraj. 2002, In vitro propagation of Acacia species- a review. Plant science 163.663-671pp.
- 4- James A. Duke. 1983. Handbook of Energy Crops. unpublished.
- 5- Lin C. Lee.L.Tseng.M, 1994. The Effect of Stratification and Thidiazuron Treatment on Germination and Protein Synthesis of *Pyrus serotina* Rehd cv. Niauli , Annals of Botany, Volume 73, 515-523(9) pp.
- 6- Xie.D.Hong.Y.2001.In vitro regeneration of *Acacia mangium* via organogenesis, Plant Cell Tiss.Org.Cult.66.167-173 pp.
- 7- Xie. D.Hong .Y. 2001. Regeneration of *Acacia mangium* through embryogenesis. Plant cell report.20.34-40 pp.
- 8- Rehman.S.Harries.P.Bourne.W and Wilkin.J.2000.The relationship between iones,vigour and salinity tolerance of *Acacia* seeds.Plant and soil.220.229-233pp.
- 9- Nicolic.R.Mitic.N.Miletic.R and Neskovic.M.2006.Effects of Cytokinin on vitro seed Germination and Early Seedling Morphogenesis in *lotus corniculatus* L.Plant growth Regulator25.187-194pp.

