مجله پژوهش علف‌های هرز
جلد ۵، شماره ۱، ۱۳۹۲
صفحات ۵۶- ۴۹

# برانگیختن بذر گل جالیز مصری (*Orobanche aegyptiaca* Pers.) به جوانه زنی در نبود گیاه میزبان

# Inducing seed germination of Egyptian broomrape (*Orbanchea aegyptiaca* Pers.) in absent of host plant

امیرضا خرازی[1*]، منصور منتظری[2]، جواد انگجی[3]، بابک دلخوش[3]

**چکیده:**

**یکی از تنگناها پژوهش های پایه روی گل جالیز، عدم جوانه زنی رضایت بخش بذر این گیاه انگلی، بویژه در غیاب میزبان می باشد. در این تحقیق، تاثیر چند فاکتور روی جوانه زنی بذرهای گل جالیز مصری (*Orobanche aegyptiaca*) در شرایط آزمایشگاهی (*in vitro*) و بدون حضور میزبان آن بررسی شد. غوطه ور نمودن بذرها در اسید سولفوریک با غلظت های ۵۰ و ۱۰۰ درصد، هر یک به مدت ۳۰ و ۶۰ ثانیه، قرار دادن آنها در معرض اسید جیبرلیک با غلظت های صفر (شاهد) ۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ پی پی ام (ppm) و انکوباسیون در دماهای ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درجه سلسیوس از تیمارهای آزمایش بودند که بصورت فاکتوریل اجرا شد. نتایج نشان داد که اسید جیبرلیک موجب کاهش معنی داری جوانه زنی بذرها شد. غوطه ور نمودن بذرها در اسید سولفوریک با غلظت۵۰٪ به مدت ۶۰ ثانیه و انکوباسیون در دمای ۱۵ درجه سلسیوس، با ٤٤٪ جوانه زنی، بطور معنی داری بیش از سایر تیمارها موجب افزایش جوانه زنی بذر این گیاه انگلی شد. روی جوانه زنی بذرها، تاثیر فاکتور دما چشمگیرتر از دو فاکتور دیگر بود.**

**واژه‌های کلیدی: گل جالیز مصری، خواب، سرما دهی، جوانه زنی، اسید سولفوریک، اسید جیبرلیک**

## مقدمه

در دنیا بیش از ۱۴۰ گونه گل جالیز شناسایی شده است (Sauerborn, 1994). از ایران نیز ۳۶ گونه از آن گزارش گردیده که گل جالیز مصری (*Orobanche aegyptiaca* Pers.) بیش از سایر گونه ها در سطح کشور پراکنش دارد (Montazeri, 2008). در طبیعت، بذرهای این گیاه انگلی برای جوانه زنی به مواد ویژه ای بنام زنوگنوسین (Xenognosins) نیاز دارد که از ریشه میزبان تراوش می شود (Cook, 2003). چون این مواد پایدار نیستند، از این رو اگر بذر تنها در فاصله ۳-۲ میلی متری ریشه میزبان قرار داشته باشد جوانه خواهد زد (Cook, 2003). سونگ و همکاران (Song *et al*., 2005) نشان دادند که در دما و رطوبت مناسب، اسید جیبرلیک با تاثیر روی اندوسپرم بذر، شرایط را برای جوانه زنی آن مهیا می کند، ولی با این حال، در طبیعت بذرهای

تاریخ دریافت:۱۳۹۲/۰۱/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۶/۲۷

۱ - دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران
۲ - بخش تحقیقات علف های هرز، موسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور
۳-عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران
*- نویسنده مسئول Email: amirreza.kharazi@gmail.com

گل جالیز تا زمانی که در تماس با ترشحات ریشه میزبان قرار نگیرند جوانه نمی زنند. در صورت عدم جوانه زنی، بذرهای این گیاه می توانند بیش از ۱۰ سال در خاک بصورت دورمانت باقی بمانند (Linke & Saxena, 1991).

دما، رطوبت و مواد محرک مترشحه از ریشه گیاه میزبان از مهمترین عواملی هستند که میزان جوانه زنی بذر گل جالیز را تحت تأثیر قرار می دهند (Van Hezewijk *et al.*, 1993). ولی دمای مناسب برای جوانه زنی بذر گل جالیز برای گونه های مختلف و حتی جمعیت های یک گونه متفاوت می باشد. بطوری که دمای مناسب برای جوانه زنی بذر بیوتیپ های گونه *O. ramosa* که از آمریکا، جنوب آلمان و لبنان جمع آوری شده بودند، به ترتیب ۱۸،۲۰ و ۲۵ درجه سلسیوس بود (Dhanapal *et al.*, 1998). شکسته شدن دورمانسی بذور گونه های مختلف گل جالیز و تحریک به جوانه زنی آنها در غیاب میزبان، در شرایط خاصی موسوم به پیش شرط سازی (Pre-conditioning)، یعنی قرار دادن در معرض محرک های جوانه زنی در دما و رطوبت مناسب برای یک دوره چندین روزه، ممکن می باشد (Parker & Riches, 1993). معمولا سرما دهی و اسید شویی باعث غلبه برخواب بذر بسیاری از علف های هرز و افزایش نرخ و میزان جوانه زنی می شود، ولی مدت و غلظت اسید شویی برای گونه های مختلف متفاوت است (Bewley & Black, 1982). در بررسی های لوپز گرانادوس و گارسیا تورس (Lopez-Granadoas & Garcia- Toress, 1996) روی بذور *O. crenata*، غوطه ور کردن بذور در محلول نیم نرمال اسید سولفوریک به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه باعث افزایش ۲۰ درصدی جوانه زنی گردید. در همین بررسی، سرما دهی در دما ۴- تا ۶ درجه سلسیوس پیش از اسید شویی، صرف نظر از طول مدت سرما دهی، باعث افزایش جوانه زنی بذور گردید.

محققین در بررسی‌های خود غالبا با مشکل جوانه زنی بذر گل جالیز مواجه شده ونتایج آزمایش‌های آنها به صورت مطلوبی به سرانجام نمی رسد. به ویژه آن که ۷۰٪ دوره زندگی گل جالیز در زیر خاک سپری می شود وظهور بوته آن از سطح خاک ۶۰-۵۰ روز پس از نشاکاری گیاه میزبان صورت می گیرد. از این رو، محققین پس از این مدت طولانی متوجه عدم جوانه زنی و استقرار گل جالیز می شوند که ناچار به تکرار آزمایش خواهند شد. بنا بر این، دستیابی به روشی برای تحریک به جوانه زنی بذر گل جالیز می‌تواند موجب تسریع در بر نامه‌های پژوهشی آن شود. با همین انگیزه، در این تحقیق تاثیر اسید سولفوریک و مدت شستشو با آن، اسید جیبرلیک و دما در اثنای انکوباسیون روی جوانه زنی جوانه‌زنی بذر گل جالیز در غیاب میزبان مطالعه گردید که مقاله حاضر نتایج آن را ارائه می نماید.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی در بخش تحقیقات علف های هرز، موسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور، درسال ۱۳۹۰ انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل با سه فاکتور شامل چهار سطح برای فاکتور اسید شویی، چهار سطح برای فاکتور اسید جیبرلیک و سه سطح برای

فاکتور دمایی، جمعا ۴۸ تیمار در ۵ تکرار در قالب طرح کاملا تصادفی متعادل انجام شد.

پیش از شروع آزمایش بوته های گل جالیز (*O. aegyptiaca*) از یک مزرعه گوجه فرنگی آلوده به آن در منطقه ورامین جمع آوری شده و در داخل پاکت به آزمایشگاه منتقل گردید. سپس کپسول ها از نقاط مختلف بوته ها به طور تصادفی جدا گردید و با فشردن آنها، به آرامی بذرهای کپسول ها تخلیه و در داخل لوله های آزمایشگاهی جمع آوری گردید. آنگاه، بر اساس روش سونگ وهمکاران (Song *et al.*, 2005)، بذرهای برای ۲ دقیقه در ۵۰ میلی لیتر الکل ۷۰٪ که در داخل یک ارلن ریخته شده بود قرار داده شدند. سپس بذرها از این محلول بیرون آورده شده و بلافاصله چندین بار با آب مقطر شستشو شدند. بذرها در یک ارلن حاوی محلولی متشکل از ۱۰ میلی لیترهیپوکلرایت سدیم ۱٪ به اضافه یک میلی لیتر توئین ۲۰ (Tween 20) آمیخته در ۴۰ میلی لیتر آب مقطر استریل ریخته شدند. آنگاه، این ارلن روی پلیت مغناطیسی گردان در دمای آزمایشگاهی به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. سپس بذرها از ارلن خارج شده و با آب مقطر شستشو شدند. بذرها برای یک هفته روی کاغذ صافی دو لایه پخش شدند تا در هوای آزاد خشک شوند.

بذرهای گل جالیز به چهار قسمت تقسیم شدند که دو قسمت برای غوطه ور کردن در اسید سولفوریک (Merk, Germany) با غلظت ۵۰٪ و دو قسمت دیگر در اسید سولفوریک با غلظت ۱۰۰٪ در نظر گرفته شد. برای هر غلظت اسید، یک قسمت برای ۳۰ ثانیه و قسمت دیگر برای ۶۰ ثانیه غوطه ور شدن بذرها منظور گردید. پس از اتمام زمان های یاد شده، بذرها بلا فاصله از محلول بیرون آورده شده و شش تا هشت بار با آب مقطر استریل شستشو شدند. بذرهای تیمار شده برای یک هفته در سردخانه با دمای ۴ درجه سلسیوس سرما دهی شدند. پس از آن برای هر قسمت از بذرهای تیمار شده با اسید سولفوریک، ۱۲ پتری دیش تهیه گردید که در کف هر یک از آنها دو لایه کاغذ صافی قرار داده شد. کاغذ صافی هر سه عدد پتری دیش با اسید جیبرلیک با غلظت های صفر (شاهد آب مقطر)، ۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ پی پی ام (ppm) با سه میلی لیتر از هر غلظت برای هر پتری دیش مرطوب شدند. آنگاه روی کاغذ صافی هر پتری دیش پنج دیسک نیمه تراوا (Visking disc) به قطر شش میلی متر حامل ۵۰ عدد بذرهای تیمار شده با اسید سولفوریک قرار داده شد. برای جلوگیری از هدر رفتن رطوبت، درب پتری دیش ها با پارافیلم احاطه شده و برای ایجاد تاریکی مطلق، هر پتری دیش با فویل آلومینیومی پوشانده شد. از هر تیمار اسید جیبرلیک، یک پتری دیش برای هر یک از دماهای ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درجه سلسیوس در انکوباتور قرار داده شد.

پتری دیش ها پس از دو هفته از انکوباتور خارج شده و در زیر بینی کولر جوانه زنی بذرهای روی دیسک ها بررسی شدند. در هر میدان دید، تعداد کل بذر ها و بذرهای جوانه زده شمارش شده و درصد جوانه زنی آنها تعیین گردید. بذرهایی که بیش از قطر بذر تولید لوله تندشی نموده بودند به عنوان بذر جوانه زده محسوب شدند. داده ها با نرم افزار SAS تجزیه واریانس شده و میانگین آنها با آزمون دانکن مقایسه شدند.

## نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد که هر سه فاکتور اعمال شده در این پژوهش تاثیر معنی داری روی جوانه زنی بذرهای گل جالیز داشتند. شستشوی بذرها با اسید سولفوریک ۵۰٪، در مقایسه با غلظت ۱۰۰٪، افزایش معنی دار داشت (شکل ۱ A).

مدت زمان غوطه ور نمودن در اسید سولفوریک نیز تاثیر معنی داری در جوانه زنی بذرها نشان داد. بطوری که، میزان جوانه زنی بذرهای غوطه ور شده در اسید سولفوریک با غلظت ۵۰٪ به مدت ۶۰ ثانیه بطور معنی داری بیش از بذرهای غوطه ور شده با همین غلظت برای ۳۰ ثانیه ارزیابی شد.

کمترین میزان جوانه زنی بذرها مربوط به اسید سولفوریک با غلظت ۱۰۰٪ برای ۶۰ ثانیه بود (شکل ۱ A). کوما و همکاران (Guma *et al.*, 2010) گزارش کردند که دورمانسی بذر گیاهانی که دارای پوسته سخت هستند با خراش دهی مکانیکی و یا کاربرد اسید سولفوریک شکسته شده و جوانه می زنند. ولی چون بذرهای گل جالیز خیلی ریز هستند، امکان خراش دهی مکانیکی آنها عملی نیست و به همین دلیل در این تحقیق از اسید سولفوریک استفاده شد.

قرار دادن بذرها روی کاغذ صافی مرطوب شده با اسید جیبرلیک، در مقایسه با آب مقطر، موجب کاهش معنی دار جوانه زنی بذرها شد (شکل ۱ B). بطوری که، به موازات افزایش غلظت اسید جیبرلیک از ۱۰۰ پی پی ام به ۲۵۰ و ۵۰۰ پی پی ام، میزان جوانه زنی کاهش معنی دار داشت. در محیط های اسیدی جوانه زنی بذر گل جالیز کاهش می یابد (Haidar *et al.*, 2003).

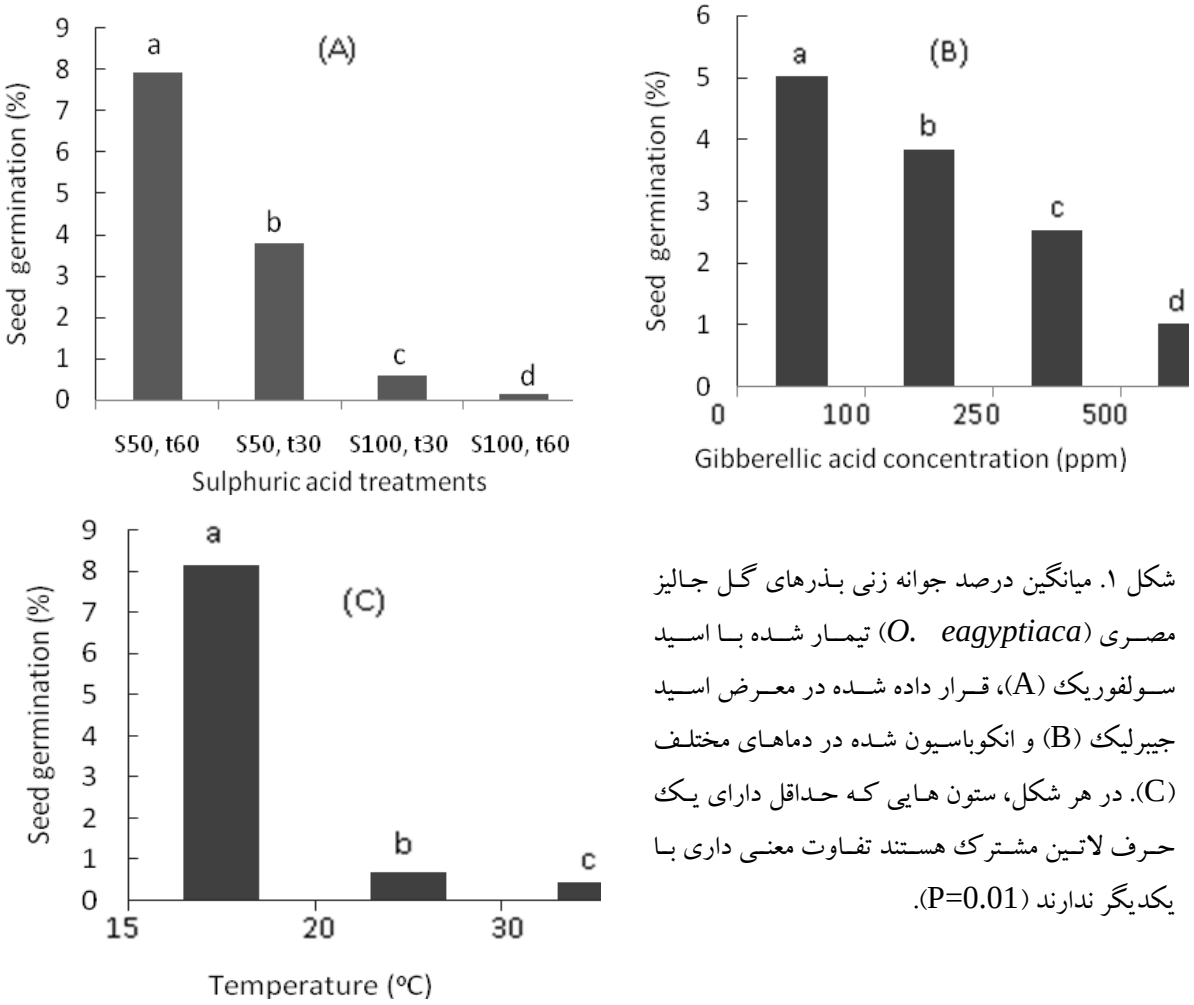
بنا براین، در این پژوهش کاهش جوانه زنی بذرهای این گیاه انگلی را می توان به پایین آمدن پی هاش (pH) کاغذ صافی مرطوب شده با اسید جیبرلیک نسبت داد. ولی بر خلاف پژوهش حاضر، در بررسی های سونگ و همکاران (Song *et al.*, 2006) کاربرد ترکیبی از جیبرلیک اسید همراه با فلوراید (fluridone) در حضور محرک بذور گل جالیز $GR_{24}$ موجب افزایش جوانه زنی آن گردید. در هر حال، مکانیزم تاثیر اسید جیبرلیک در افزایش تاثیر محرک $GR_{24}$ روی جوانه زنی بذر این گیاه در گزارش اخیر نا شناخته می باشد.

افزایش دمای انکوباتوردر اثنای نگهداری بذرها از ۱۵ به ۲۰ و ۲۵ درجه سلسیوس موجب کاهش معنی دار جوانه زنی آنها شد (شکل ۱ C). به طوری که بیشترین جوانه زنی بذرها در دما ۱۵ درجه سلسیوس بدست آمد.

بررسی های سوکنو و فرناندز- مارتینز (Sukno & Fernandez- Martinez, 2001) روی جوانه زنی بذر گل جالیز گونه *O. cumana* نیز نشان داد که دما بهینه برای آن ۱۵ درجه سلسیوس می باشد.

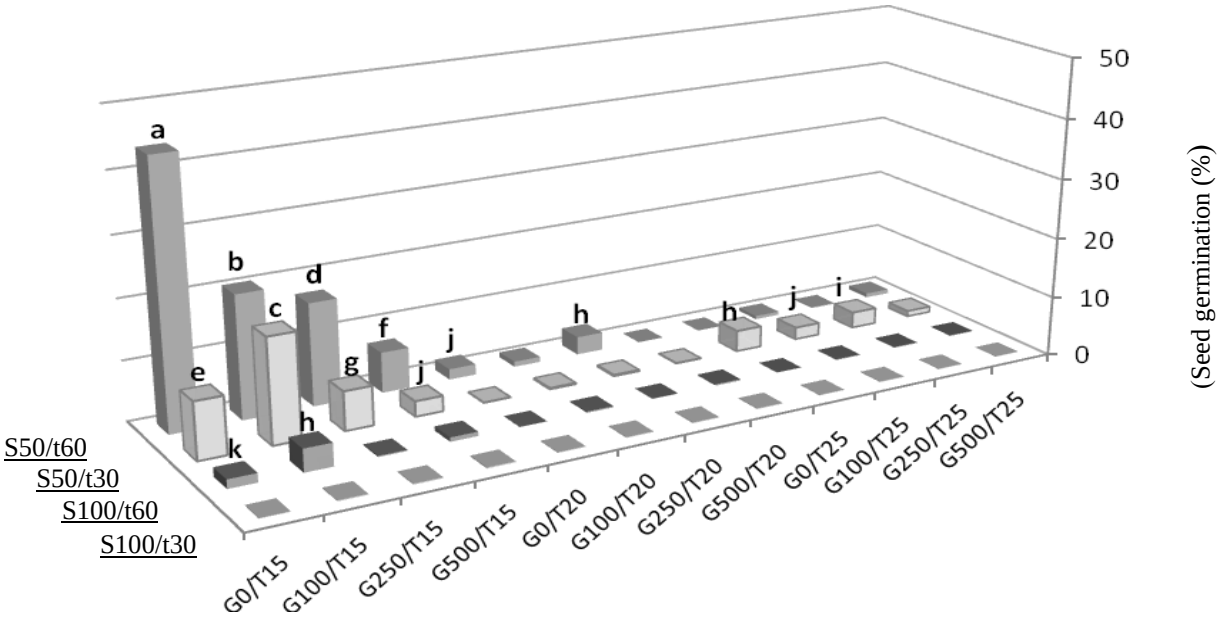
اثرات متقابل تیمارها نیز نشان داد که غوطه ور کردن بذرها در اسید سولفوریک ۵۰٪ برای ۶۰ ثانیه (S50/t60) بدون قرار دادن در معرض اسید جیبرلیک و انکوباسیون آنها در دمای ۱۵ درجه سلسیوس (G0/T15) منجر به بیشتر جوانه زنی بذرها با ۴۴٪ تندش شد که از این نظر برتری معنی داری نسبت به ۴۷ تیمار دیگر داشت (شکل ۲). نکته جالب این که، در تیمار اسید سولفوریک ۵۰٪

بـرای ۶۰ ثانیـه (S50/t60) و بـدون قـرار دادن در معـرض جیبرلیـک اسـید کـه در دمـای ۲۵ درجـه سلسیوس نگهداری شده بودنـد (G0/T25)، میـزان جوانه زنی کمتر از ۱٪ بود. از سوی دیگـر، در پـنج تیماری که جوانه زنـی بـذرها بـیش از ۱۰٪ ارزیـابی گردید، همگی در دمـای ۱۵ درجـه سلسـیوس روی داد (شکل ۲). این نشان می دهـد کـه بـذرهای گـل جـالیز، حتـی در صـورت شکسـته شـدن دورمانسـی آنها، برای جوانه زنی نسـبت بـه دمـا خیلـی حسـاس هستند. همچنین، در پـنج تیمـار برتـر، فـاکتور اسـید سولفوریک ۵۰٪ نیز اعمال شده بود، در حالی که از ۲۶ تیماری که در آنها میزان جوانه زنی کمتـر از ۱٪ مشـاهده شـد، در ۱۹ مـورد (۷۳٪) فـاکتور اسـید سولفوریک ۱۰۰٪ انجام شده بود. این ممکـن اسـت به تاثیر اسـید سـولفوریک غلـیظ روی جنـین بـذرها نسبت داده شود.




شکل ۱. میانگین درصد جوانه زنی بـذرهای گـل جـالیز مصـری (*O. eagyptiaca*) تیمـار شـده بـا اسـید سـولفوریک (A)، قـرار داده شـده در معـرض اسـید جیبرلیک (B) و انکوباسـیون شـده در دماهـای مختلـف (C). در هر شکل، ستون هـایی کـه حـداقل دارای یـک حـرف لاتـین مشـترک هسـتند تفـاوت معنـی داری بـا یکدیگر ندارند (P=0.01).

Fig. 1. Mean of seed germination (%) of Egyptian broomrape (*O. eagyptiac*) immersed in sulfuric acid (A), exposed to gibberillic acid (B) and incubated at different temperature (C). In each figure, columns holding at least one same letter are not significantly different from each other (P=0.01).
S50 and S100 = Sulfuric acid 50% and 100%, respectively.
t30 and t60 = imbedded for 30 and 60 second, respectively.




شکل ۲. تاثیرات متقابل فاکتورهای اسید سولفوریک، اسید جیبرلیک و دما روی درصد جوانه زنی بذر گل جالیز مصری (*O. eagyptiaca*) در غیاب میزبان در شرایط آزمایشگاهی.

ستون هایی که حداقل دارای یک حرف لاتین مشترک هستند تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند(P=0.01).

ستون های فاقد حرف لاتین مربوط به تیمارهای دارای میانگین کمتر از ۱٪ بوده و همگی در پایین ترین گروه (n) قرار داشتند.

Fig. 2. The interaction effects of factors sulfuric acid, gibberillic acid and temperature on seed germination percentage in absent of host plant in vitro.

Columns holding at least one same letter are not significantly different from each other (P=0.01).

The columns with no letter were that of those treatments with less than 1% germination and all were located in lowest group (n).

S50 and S100 = Sulfuric acid 50% and 100%, respectively.

t30 and t60 = imbedded for 30 and 60 second, respectively.

G0, G100, G250 and G500 = Gibberellic acid at 0,100, 250 and 500 ppm, respectively.

T15, T20 and T25= Incubation at 15, 20 and 25 oC, respectively.

## Reference

## فهرست منابع

**Bewley, J. D and M. Black.** 1982. Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination, vol. 2 Springer-Verlag, Berlin, Germany. pp. 375.

**Cook, D. 2003.** control of branched broomrape; a literature review. Animal and plant control Commission of South Australia [on line:http://www.pir.sa.gov.au/ pages/sus_res? animal_plant/ public/bbrviw.pdf]

**Dhanapal GNP, Ter-borg S and Struick PC.** 1998. Postemergence chemical control of nodding broomrape *O.cernua* in bidi tobacco *Nicotiana tobacum* in India. Weed Technol.12 :652-659.

**Guma, I.R.; Mederos, M.A. Padrón; Guerra, A. Santos; Reyes-Betancort, J.A.** 2010. Evaluation of methods to remove hardseededness in *Cicer canariense*, a perennial wild relative of chickpea. Seed Sci. Technol., 38, 209-213.

**Haidar, M. A., Bibi, W. and Sidahmed, M. M.** 2003. Response of branched broomrape (*Orobanche ramosa*) growth and development to various soil amendments in potato. Crop Prot. 22, 291–294.

**López-Granados, F. and Garcia-Torres, L.** 1993. Seed bank and other demographic parameters of broomrape *Orobanche crenata* Forsk. populations in faba bean *Vicia faba* L.. Weed Res. 4: 312-319

**López-Granados, F. and Garcia-Torres, L.** 1996. Effects of environmental factors on dormancy and germination of Crenate Broomrape *Orobanche crenata*. Weed Sci. 44: 284-289.

**Linke, K. H. and M. C. Sexena.** 1991. Study on viability and longevity of Orobanche seed under labratory conditions. Progress in orobanche Research- K. Wegmann, and L.J. Musselman (eds.). Eberhard- Karls-universititat, Tubingen, FRG. PP. 110-114.

**Montazeri, M.** 2008. Progress in biological control of broomrape in the world and Iran. Proceedings of the 2nd National Weed Science Congress, Vol. 3, key note papers, 29-30 Jan. 2008, 25-46.

**Parker, C. and Riches, C. R.** 1993 Parasitic weeds of the world: Biology and control. Wallingford, CAB Inetrnational. pp. 332.

**Sauerborn, J.** 1994. Biology and biological control of branched broomrape (*Orobanche ramosa*). A project sponsored by Agroecology in the Tropic and Subtropics, Faculty of Agricultural Sciences, University of Hohenheim.

**Sukno S and Fernández-Martínez JM .**2001. Temperature effects on the disease reactions of sunflower to infection by *Orobanche cumana*. Plant Dis. 85: 553-556

**Song W. J.,Cao D.D.,Jin Zlandzhou W. J.** 2005.Germination response of Orobnchea seeds subjected to conditioning temperature, water potential and growth regulator treatments. Weed Sci. 45: 467-476

**Song, W. J., Zhou, W. J., Jin, Z. L., Zhang, D., Yoneyama,K., Takeuchi, Y., Joel., D. M.** 2006. Growth regulators restore germination of *Orobanche* seeds that are conditioned under water stress and suboptimal temperature. *Aust. Jl of Agric. Res.* **57**, 1195–1201

**Van Hezewijk, M. J., A. p. Van Beem. J. A. C., Verkleij and A. H. Pieterse.** 1993. Germination of *Orobanche crenata* seeds. As influenced by condition temperature and conditioning period. Can. J. Bot. 71: 786-792.

" برانگیختن بذر گل جالیز مصری به جوانه زنی در نبود گیاه میزبان"