اثر نیترات پتاسیم (KNo3) بر جوانه‌زنی و برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک ناخنک (*Astragalus hamosus*) در محیط کشت MS

آزاده بخشنده فرج‌پور[۱]، رضا دهقانی بیدگلی[۲*] و سیدعلی حسینی تفرشی[۳]

[۱]کارشناسی ارشد، گروه مرتع و آبخیز، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران

[۲]استادیار، گروه مرتع و آبخیز، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کاشان کاشان، ایران

[۳]استادیار، گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده شیمی، دانشگاه کاشان کاشان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۸/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۱۰

چکیده

به‌منظور بررسی اثر پیش تیمار بذور ناخنک با محلول MS و محلول نیترات پتاسیم در مراحل اولیه جوانه‌زنی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ٤ تکرار در آزمایشگاه گیاهشناسی گروه بیوتکنولوژی دانشگاه کاشان در سال ۱۳۹۵ اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل پرایمینگ با محلول MS در ٤ سطح (صفر به‌عنوان شاهد، ۰/۰۱، ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد وزنی- حجمی) و نیترات پتاسیم در ٤ سطح (صفر به عنوان شاهد، ۰/۱ ، ۰/۲ و ۰/۵ درصد وزنی- حجمی) به مدت ۲ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد بودند. نتایج آزمایش‌ها نشان داد محلول MS، نیترات پتاسیم و اثر متقابل تیمارها در سطح احتمال ۱ درصد بر تمامی صفات مورد مطالعه شامل درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، ضریب جوانه‌زنی، محتوای نسبی آب، محتوای کلروفیل a، b و کلروفیل کل معنی‌دار بود. بالاترین میزان درصد جوانه‌زنی، محتوای کلروفیل a،b و طول ساقه‌چه با اعمال تیمار ۰/۰۱ درصد وزنی- حجمی محلول MS به همراه تیمار ۰/۵ درصد وزنی- حجمی نیترات پتاسیم بدست آمد. همچنین اعمال تیمارهای ذکر شده به تنهایی نیز بر ویژگی‌های مورد پژوهش اثرات مثبت و معنی‌دار داشتند. استفاده از روش‌های پرایمینگ از جمله روش‌های مورد استفاده در این پژوهش می‌تواند تأثیرات مفیدی بر گیاه ارزشمند ناخنک داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: گون، کلروفیل، خواب‌شکنی، محتوی آب نسبی، طول ریشه

مقدمه

در میان گیاهان گل‌دار جهان، گون‌ها یکی از بزرگترین خانواده‌های گیاهی بوده و شامل بیش از ۳۳۰۰ گونه با پراکنش وسیع در سراسر مناطق معتدله جهان و از جمله ایران می‌باشند بطوری‌که پوشش گون بخش قابل توجهی از فلور ایران را نیز تشکیل می‌دهد، به‌طوری که ٦۰ درصد پوشش کشور ما متعلق به پوشش گون - درمنه می‌باشد و گونه‌های متنوعی از این جنس در ایران وجود دارد (Massoumii, 2004). گون‌ها گیاهان دارویی و صنعتی با تولید ترکیبات شیمیایی آلکالوییدها، اسانس‌های فرار، صمغ‌ها و مان‌های گیاهی بوده و از آن‌جایی که بسیاری از گونه‌های متعلق به جنس گون مورد چرای دام نیز قرار می‌گیرند، بنابراین بسیاری از آنها بر اثر چرای بی‌رویه و مفرط دام و بهره‌برداری‌های بیش از حد و غیراصولی و سود جویانه در معرض انقراض و نابودی قرار گرفته اند (Jaberolansar, 2005). این بهره‌برداری‌ها و توجه ناکافی به وضعیت و سلامت مراتع در طی چند دهه اخیر منجر به برهم خوردن

*نویسنده مسئول: dehghanir@kashanu.ac.ir

تعادل روابط متقابل مزبور شده و صدمات جبران ناپذیری به این منابع طبیعی کمیاب و در مواردی منحصر به فرد وارد آورده و در برخی موارد مقدمات انقراض فرآیند تولید متابولیت‌های گیاهی از جمله کتیرا را فراهم نموده است.

یکی از گونه‌های مهم جنس گون، گونه ناخنک با نام علمی (*Astragalus hamosus*) از تیره نخود و تیره فرعی پروانه واران (*Papilionaceae*) می‌باشد، این گونه دارای خواص دارویی فراوان بوده و علاوه بر قسمت‌های مختلف گیاه مثل سرشاخه، بذر آن نیز مورد استفاده دارویی قرار می‌گیرد. در طب سنتی ایران از میوه این گیاه به‌عنوان داروی ضدصرع یاد شده است. گیاه ناخنک قابلیت نفوذپذیری مویرگ‌ها را کاهش داده و خون را رقیق و از لخته شدن خون جلوگیری می‌کند. ضدواریس، ورم‌های مفصلی، خلط‌آور، ضدعفونی کننده مجاری ادرار، ضدتشنج، درمان اسهال خونی، ورم روده، ضد آسم و برونشیت می‌باشد.

نام‌های دیگر آن عبارتند از: شبدر شیرین، اکلیل الملک، بسنگ، بسیه، شاهبسه، یونجه زرد، گیاه قیصر، گلهای آن دارای خواص ضدتشنج، مرحم سینه، قبض کننده و ضدعفونی کننده است. بوی ادرار را از بین برده، ترشحات آن را زیاد می‌کند، مجاری ادرار را ضدعفونی می‌نماید و در اسهال خونی، ورم روده و روماتیسم نیز مصرف می‌شود. این گیاه چون مسکن و خواباور است آن را در تحریکات عصبی، انواع نورالژی، سرفه‌های عصبی و گاز روده‌ها استعمال می‌کنند و نیز برای معالجه نزله برونشها و ورم عقب حلق مصرف می‌کنند. برای معالجهٔ ورم ملتحمهٔ چشم خوب است.

به علت برداشت‌های بی رویه از این گونه گیاهی و نیز به علت جوانه‌زنی سخت بذر، قدرت زادآوری آن بسیار پایین آمده است و در نتیجه این گونه در معرض خطر انقراض قرار گرفته است. گونه *A.hamosus* دارای چندین نوع عوامل موثر دارویی از جمله کومارین بوده ، و علاوه بر این دارای عطری است که هنوز ترکیب شیمیایی آن مشخص نشده است. سرشاخه‌های گلدار آن آرامبخش و پیشاب‌آور بوده و برای هضم غذا و نرم کردن سینه نافع می‌باشد. این گونه برای رفع تحریکات عصبی و بی‌خوابی مخصوصاً در مورد بی‌خوابی اطفال نافع است. از موارد دیگر استفاده‌های دارویی این گونه می توان به تسکین سر دردهای یک‌طرفه، دردهای عصبی و مفاصل، ورم کلیه و قولنج کبدی نیز اشاره کرد (Mozaffarian, 2001). ناخنک به مناطق متعددی سازگاری نشان داده و به شرایط بیابانی و گرم و اقلیم خشک سازگار است و دمای ٤- تا ٤٥ درجه سانتی‌گراد را تحمل می‌کند. این گیاه کارایی بالایی در استفاده از آب دارد و به تنش خشکی متحمل است و عملکرد قابل قبولی در مناطقی با بارندگی ۱۲۲ تا ۲۲۲ میلی‌متر تولید می‌کند. ناخنک در شرایط بسیار شور می‌تواند رشد کند و در گروه گیاهان متحمل به تنش شوری می‌تواند دسته‌بندی شود (Jancurva, 2009).

بنیه بذر را می‌توان به کمک انواع روش‌های پرایمینگ بذر که باعث افزایش سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی می‌شوند، بهبود بخشید (Heydecker and Coolbear, 1987). در این روش بذرها در آب و یا محلول‌های مختلف اسمزی خیسانده شده و سپس تا رطوبت اولیه خشکانده می‌شوند. به عبارت دیگر بذرها تا مرحله دوم آبنوشی پیش می‌روند ولی وارد مرحله سوم جوانه‌زنی نمی‌شوند. بعد از تیمار پرایمینگ، بذور همانند بذرهای تیمار نشده (شاهد) ذخیره و کشت می‌شوند (McDonald, 2000).

نیترات پتاسیم پرمصرف ترین ماده شیمیایی برای افزایش جوانه‌زنی بذرهاست و استفاده از محلول آن در آزمایش‌های معمولی جوانه‌زنی عمومیت دارد و توسط انجمن متخصصان رسمی بذر و انجمن بین المللی آزمون‌های بذر برای آزمایش‌های جوانه‌زنی بسیاری از گونه‌ها توصیه شده است (Copland and McDonald, 1995). در سال‌های

اخیر استفاده از مواد نو رکیب بسیار مورد توجه پژوهشگران رشته‌های مختلف از جمله کشاورزی بوده است (Haghighi et al., 2012).

یکی از مواردی که در تکثیر گونه‌های گیاهی متعلق به خانواده پروانه آساها و جنس گون وجود دارد پوسته نسبتاً سخت بذر آنها می باشد که معمولاً نسبت به آب و گازها نفوذ ناپذیر است، این ویژگی تحت تأثیر جنس، گونه و شرایط محیطی زمان نمو بذر قرار می گیرد (Nasiri, 1994) عامل دیگر در عدم جوانه‌زنی به موقع بذر، عدم بلوغ جنین بذر بوده که برای بررسی دلیل عدم جوانه‌زنی قابل قبول برای این گونه بررسی ریخت شناسی بذر و رفتار آن راهنمای خوبی برای انتخاب تیمارهای خواب شکنی می‌باشد. مثلاً برای برطرف کردن خواب بذرهای لگوم با پوسته‌های غیرقابل نفوذ نسبت به آب، تیمار خراش‌دهی مناسب و اعمال تیمار پیش سرما برای برطرف شدن خواب در بذرهایی که آب جذب می کنند، اما جوانه نمی‌زنند، مفید خواهد بود (Bewley, 1997) این نوع خواب ممکن است منشا فیزیولوژیکی داشته باشد. تیمارهای مختلفی از جمله خراش دهی مکانیکی، خراش دهی شیمیایی، یخ و آب، آب داغ و سرمادهی، امواج فراصوت و برخی هورمون‌ها جهت برطرف کردن خواب فیزیولوژیکی بذرها مورد استفاده قرار می گیرند (Baskians and Stuat, 1998). بنابراین با توجه به اهمیت ویژه گونه‌های دارای ارزش دارویی، علوفه ای، صنعتی و اقتصادی جنس گون، ضرورت بررسی‌های متعدد در زمینه شکست خواب بذر آنها و مطالعات دیگر احساس می شود. هدف از این مطالعه بررسی روشهای شکست خواب بذر، افزایش جوانه‌زنی و یافتن تیمار مناسب جهت برطرف کردن خواب بذر گونه‌های *Astragalus hamosus* در دو محیط MS و نیترات پتاسیم بود.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر پیش تیمار بذور ناخنک با محلول MS و محلول نیترات پتاسیم در مراحل اولیه جوانه‌زنی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در٤ تکرار در آزمایشگاه گیاهشناسی گروه بیوتکنولوژی دانشگاه کاشان در سال ۱۳۹۵ اجرا شد. بذرها پس از آبشویی با آب مقطر و ریختن کمی آب مقطر بر روی آنها به‌مدت ٢٤ ساعت درون یخچال قرار داده شدند. پس از ٢٤ ساعت بذرها از یخچال به زیر هود جریان آرام برده شده و قبل از استفاده به منظور ضدعفونی نمودن آنها، به مدت یک دقیقه در الکل ۷۰ درصد و سپس به مدت ۵ دقیقه در آب ژاول ۲۰ درصد (محلول ۱۰۰میلی‌لیتر آب ژاول، ٤۰۰ میلی‌لیتر آب مقطرو یک قطره مایع ظرفشویی) غوطه‌ور نموده و سپس با آب مقطر استریل چندین بار شستشو داده شدند (Copland and McDonald, 1995). تمام این کارها در زیر دستگاه هود جریان آرام و در شرایط استریل انجام گرفت. تیمار اول شامل پرایمینگ با نیترات پتاسیم در ٤ سطح (صفر به‌عنوان شاهد، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۵ درصد وزنی- حجمی) بود بستر دیگر که برای مقایسه جوانه‌زنی و رشد گونه‌ها ساخته شد، محیط MS (Murashige and Skoog, 1962) بود. محیط MS از سه بخش عناصر غذایی ماکرو مانند نیترات‌ها، کلسیم، فسفر و عناصر غذایی میکرو مانند اسیدبوریک، منگنز، روی، آهن و ویتامین‌ها و دیگر مکمل‌ها مانند گلیسین و تیامین تشکیل شد که با نسبت‌های مشخصی با یکدیگر ترکیب شدند. محیط کشت MS جزء پرکاربردترین محیط کشت بافت گیاهی در حال حاضر می باشد و از آن برای کشت بافت بسیاری از گونه‌های گیاهی با موفقیت استفاده شده است. محیط MS مرجع تولید چند محیط دیگر مانند محیط کشت LS نیز شده است. که با کاهش مقدار مواد مورد استفاده در محیط کشت MS توسط (Linsmaier and Skoog, 1965) ساخته شد. محیط کشت MS برای اولین بار برای کشت بافت گیاه تنباکو توسط (Murashige and Skoog, 1962) ساخته و مورد استفاده

قرار گرفت. این محیط کشت با وجود اینکه برای تنباکو طراحی شده است ولی در بسیاری از گیاهان دیگر نیز کاربرد فراوانی دارد. محیط MS می‌تواند جامد یا مایع باشد. عناصر تشکیل دهنده MS: به سه دسته تقسیم می شوند. عناصرغذایی ماکرو مانند($MgSO_4.7H_2O$، KH_2PO_4) و عناصرغذایی میکرو مانند ($Na_2MoO_4.2H_2O$، $MnSO_4.4H_2O$ و $ZnSO_4.7H_2O$) و ویتامین‌ها و دیگر مکمل‌ها شامل (Inositol، Thiamine HCL، Nicotinic Acid).

جهت تهیه محیط MS ٦٠٠ml آب درون بشر یک لیتری روی هیتر قرار داده شد و پس از قرار دادن یک مگنت درون آن عناصر ذکر شده اضافه شدند و محلول را به حجم یک لیتر رسانده شد. بعد از اضافه کردن تمام مواد و عناصر مورد نیاز گیاه، اسیدیته محیط تنظیم شد تا بین ۵/۷۵ تا ۵/۸۵ باشد. عمل تنظیم pH بسیار مهم است چون اگر pH محیط کشت بالاتر از ٦ باشد، رشد مطلوبی صورت نمی‌گیرد، بعد از آن برای داشتن محیط MS جامد ، آگار را توسط همزن به میزان ٦/٧ در لیتر اضافه شد. در مرحله بعد محلول کاملاً بهم زده شد محلول شفافی به‌دست آمد، محلول درون ویال‌های شیشه‌ای ریخته شد. شیشه‌های حاوی محلول درون دستگاه اتوکلاو (به منظور استریل کردن) قرار داده شدند پس از ۲۰ دقیقه محلول MS جامد آماده شد که با اضافه کردن آگار به آن MS مایع تهیه شد. تیمارهای محلول MS در ٤ سطح (صفر به عنوان شاهد، ۰/۰۱، ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد وزنی- حجمی) بود و مدت زمان اجرای تیمارها به‌مدت ۲ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد بودند (Guan et al., 2013). شمارش بذور جوانه‌زده به‌صورت روزانه و به‌مدت ٤ روز در زمان معین انجام شد و بذوری جوانه‌زده تلقی می‌شد که، ریشه‌چه آنها به طول ۲ میلیمتر از پوسته خارج شده بودند (Aisha et al., 2007). بعد از ٤ روز اندازه‌گیری طول گیاهچه، ساقه‌چه و ریشه با خط کش و بر حسب سانتی متر و اندازه گیری وزن تر توسط ترازو با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم و بر حسب میلی گرم انجام شد. سپس برای اندازه‌گیری وزن خشک گیاهچه‌ها، پس از خشک کردن گیاهچه‌ها به‌مدت ٢٤ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد در درون آون، از ترازوی دقیق استفاده شد. برای محاسبه درصد جوانه‌زنی از رابطه ۱ استفاده شد (Ayub et al., 2013).

رابطه ۱:

$$\text{درصد جوانه‌زنی} = \frac{\text{تعداد بذرهای جوانه زده}}{\text{تعدا کل بذرها}} \times ۱۰۰$$

جهت محاسبه محتوای نسبی آب پس از توزین وزن تر گیاهچه، نمونه‌ها به‌مدت ٢٤ ساعت در یک ظرف سر بسته در داخل آب مقطر شناور شده و سپس دوباره توزین شدند (وزن اشباع). بعد از آن نمونه‌ها به داخل آون با دمای ۷۵ درجه سانتی گراد به مدت ٢٤ ساعت منتقل شده و سپس وزن خشک آنها توزین شد. درصد محتوای نسبی آب توسط رابطه ۲ محاسبه شد (Qasim et al., 2003). در این رابطه FW وزن تر، DW وزن خشک و TW وزن در تورگر کامل است.

رابطه ۲:

$$RWC=(\frac{FW-DW}{TW-DW})\times 100$$

برای تعیین مقادیر کلروفیل a، b و کلروفیل کل در مرحله ۲ برگی بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر، میزان ۰/۵ گرم بافت تازه گیاهچه به همراه ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ خوب سابیده شده و سپس در سانتریفیوز در دور ۱۳۰۰۰ و دمای ٤ درجه به‌مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفتند. سپس جذب عصاره حاصل در طول موج‌های ٦٦٣ و ٦٤٥ نانومتر توسط

دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید و در روابط زیر جهت اندازه‌گیری پارامترها وارد شد. در این روابط، V حجم محلول و W وزن نمونه می‌باشد (Arnon, 1994).

رابطه ۳: کلروفیل a

$$Chla=12.7\ (A663) - 2.69\ (A645) \times V/1000W$$

رابطه ٤: کلروفیل b

$$Chlb=22.9\ (A645) - 2.69\ (A663) \times V/1000W$$

رابطه ٥: کلروفیل کل

$$ChlT=20.2\ (A645) + 8.02\ (A663) \times V/1000W$$

تجزیه داده‌های حاصل توسط نرم‌افزار SAS 9.1 و مقایسه میانگین آنها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج

درصد جوانه‌زنی: براساس نتایج تجزیهٔ واریانس (جدول ۱، شکل ۱)، محلول MS، نیترات پتاسیم و اثر متقابل این دو بر میزان درصد جوانه‌زنی در سطح احتمال ٪۱ اثر معنی‌داری داشتند. تیمار بذور با محلول نیترات پتاسیم ۰/۲ درصد باعث افزایش ۷ درصدی جوانه‌زنی نسبت به تیمار شاهد شد. همچنین تیمار با محلول MS ۰/۰۱ درصد باعث افزایش ۱۲ درصدی جوانه‌زنی نسبت به تیمار شاهد شد. تیمار پرایمینگ با محلول ۰/۵ درصد نیترات پتاسیم و ۰/۰۱ درصد MS باعث شد درصد جوانه‌زنی بذور به ۹۲ درصد برسد که نسبت به تیمار شاهد ٤۰ درصد افزایش را نشان می‌دهد.

طول ریشه‌چه و ساقه‌چه: نیترات پتاسیم و محلول MS و اثر متقابل آنها بر طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در سطح احتمال ٪۱ ، اثر معنی‌دار داشتند (جدول ۱). نیترات پتاسیم باعث افزایش ۳۰ درصدی طول ریشه چه و ۱۷ درصدی طول ساقه چه شد. استفاده از محلول MS برای پرایمینگ بذور ناخنک اثر مثبتی بر طول افزایش ریشه چه داشت به‌طوری‌که استفاده از محلول MS ۰/۰۱ درصد باعث افزایش ۱۰ درصدی طول ریشه‌چه شد. با افزایش غلظت محلول MS طول ریشه‌چه و ساقه‌چه نسبت به شاهد کاهش پیدا کردند که نیاز به بررسی بیشتر دارد. همچنین پرایم بذور با محلول MS ۰/۰۵ درصد و نیترات پتاسیم ۰/۲ درصد باعث افزایش ۳۲ درصدی طول ریشه‌چه شد. اثر متقابل نیترات پتاسیم و محلول MS بر رشد ساقه‌چه با وجود معنی‌دار بودن اما افزیش محسوسی نشان نداد.

ضریب جوانه‌زنی: نتایج تجزیه واریانس تیمارهای مختلف نشان داد تغییرات ضریب جوانه‌زنی تحت اثر نیترات پتاسیم و محلول MS در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بهترین سطح محلول MS سطح ۰/۰۵ درصد و بهترین سطح نیترات پتاسیم سطح ۰/۲ درصد وزنی- حجمی بود. اثر متقابل نیترات پتاسیم و محلول MS نیز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. بهترین ضریب جوانه‌زنی در تیمار توام محلول MS ۰/۰۵ و نیترات پتاسیم ۰/۵ درصد وزنی حجمی بدست آمد. این تیمار باعث افزایش ۱۲ درصدی ضریب جوانه‌زنی نسبت به تیمار شاهد شد.

محتوای نسبی آب: براساس نتایج تجزیه واریانس تیمارها و ضرایب همبستگی ساده بین صفات مورد مطالعه، محلول MS در سطح احتمال ۱ درصد بر محتوای نسبی آب اثر معنی‌داری داشت (جدول ۱ و ۲) و (شکل ۲)، به این صورت که استفاده از محلول ۰/۰۱ درصد محلول MS برای تیمار بذور ناخنک باعث افزایش ۱۱درصدی محتوای نسبی آب شد. همچنین مشخص شد تیمار با نیترات پتاسیم نیز در سطح احتمال ۱ درصد بر محتوای نسبی آب تأثیر مثبت دارد. استفاده از نیترات پتاسیم ۰/۵ درصد باعث افزایش ۸ درصدی محتوای نسبی آب شد. تأثیر اثر متقابل محلول MS و

نیترات پتاسیم نیز بر صفت مذکور معنی‌دار بود. بهترین سطح محتوای نسبی آب در تیمار محلول MS ۰/۰۱ درصد و نیترات پتاسیم ۰/۵ درصد بدست آمد که با تیمار شاهد اختلاف مثبت ۲۵ درصدی داشت (جدول ۳).

جدول ۱: اثر سطوح مختلف نیترات پتاسیم و محلول MS بر صفات جوانه‌زنی ناخنک

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		درصد جوانه‌زنی	طول ساقه‌چه	طول ریشه‌چه	ضریب جوانه‌زنی	محتوای نسبی آب	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل
محلول MS	۳	۲۳۹/۰۵**	۱/۱**	۳/۲**	۰/۰۱**	۷/۷**	۳۹/٤**	۲۹/۸**	۲/٦**
KNo_3	۳	۵۱۹/٤**	۰/٤**	۳/۲**	۰/۰۱**	۵/۲**	۸۲/۷**	۱۰/٦**	۲/۸**
MS × K	۹	۲۳۵/۷**	۰/٦**	۰/۸**	۰/۰۱**	۲/۸**	۲٤/۵**	۱۰/٦**	۰/٦٦**
خطا	٤۵	۱۵/۸	۰/۰۸	۰/۱	۰/۰۰۳	۰/۷۳	۱/۲	۰/۲	۰/۰۸
درصد ضریب تغییرات		۵/۰٤	۷/٤	۸/۵	٤/۰۵	٦/۲	۲/۱	۸/۱	۱٦/۷

ns، * و ** به‌ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

جدول ۲: ضرایب همبستگی ساده بین ویژگی‌های مربوط به جوانه‌زنی بذر ناخنک تحت سطوح مختلف تیمار

	۱	۲	۳	٤	۵	٦	۷
۱-درصد جوانه‌زنی	۱						
۲- طول ساقه‌چه	-۰/۲۸۲ns	۱					
۳- طول ریشه‌چه	۰/۲۹۷**	-۰/۱۲۲ns	۱				
٤- ضریب جوانه‌زنی	-۰/۵۵۱**	۰/۲٤۸*	-۰/۱۱۵ns	۱			
۵- محتوای نسبی آب	۰/۱٤۱ns	۰/۵۳۸**	۰/۰٤٤ns	۰/۱۷۵ns	۱		
٦- کلروفیل a	۰/۳۹۸**	۰/۲۵*	۰/۷۹۹**	۰/۱۳۸ns	۰/۳۹٤**	۱	
۷- کلروفیل b	۰/۲۵٤*	۰/۳٤۵**	۰/٤٦٦**	۰/۰۱٤ns	۰/٤٦۵**	۰/٦۲۰**	۱

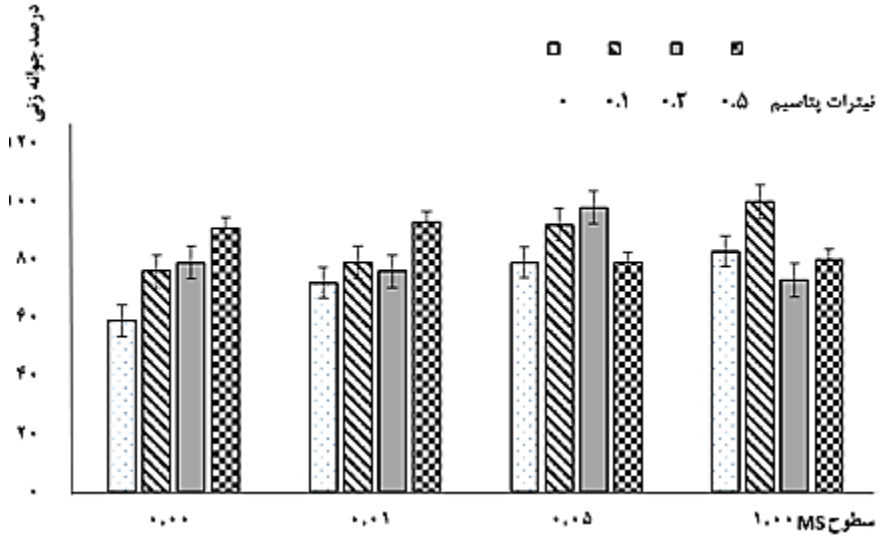
ns، * و ** به‌ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

جدول ۳: مقایسه برهم‌کنش سطوح مختلف محلول MS و نیترات پتاسیم برای میانگین ویژگی‌های جوانه‌زنی ناخنک

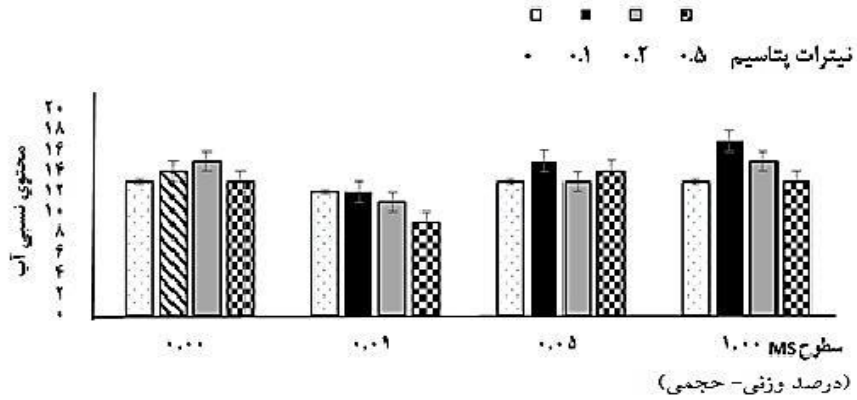
محلول MS (درصد وزنی- حجمی)	نیترات پتاسیم (درصد وزنی- حجمی)	طول ساقه‌چه (سانتی‌متر)	طول ریشه‌چه (سانتی‌متر)	ضریب جوانه‌زنی (درصد)
شاهد	شاهد	٤/٤۱ ab	٤/٦۷d-f	۱/۱۷cb
	۰/۱	۳/٦٦ cd	۳/۲۸H	۱/۰۷۱c-f
	۰/۲	۳/۷۷b-d	۵/۰۳ab	۱/۰٤۹d-f
	۰/۵	۳/٦۵Ed	٤/۷۲b-d	۱/۱۵cd
۰/۰۱	شاهد	۳/۳۰F	٤/۹۸De	۱/۱۸cb
	۰/۱	۳/۵۲Ef	٤/۳۳Ed	۱/۰۷c-f
	۰/۲	۳/۳۹d-f	٤/۷۵b-d	۱/۰۱۹ef
	۰/۵	٤/۵۹A	٤/۹۳a-c	۱f
۰/۰۲	شاهد	۳/٤۵d-f	۳/٦٦gh	۱/۰۷cd
	۰/۱	۳/۳۲d-f	۳/۵۲f-h	۱/۰۵c-e
	۰/۲	۳/۲۸d-f	۵/۳۵a	۱/۱۷cd
	۰/۵	٤/۱۹Bc	۳/۸٦e-g	۱/۲۲a

	شاهد	۳/۳۹d-f	۳/٤٥H	۰/۹۷f
۰/۰٤	۰/۱	۲/۹۷F	۳/۳۸Gh	۰/۹۸f
	۰/۲	۳/٥۸De	۳/٥٥gh	۱/۰٥c-e
	۰/٥	۳/۳۰De	٤/٤۲b-e	۱/۱٦b

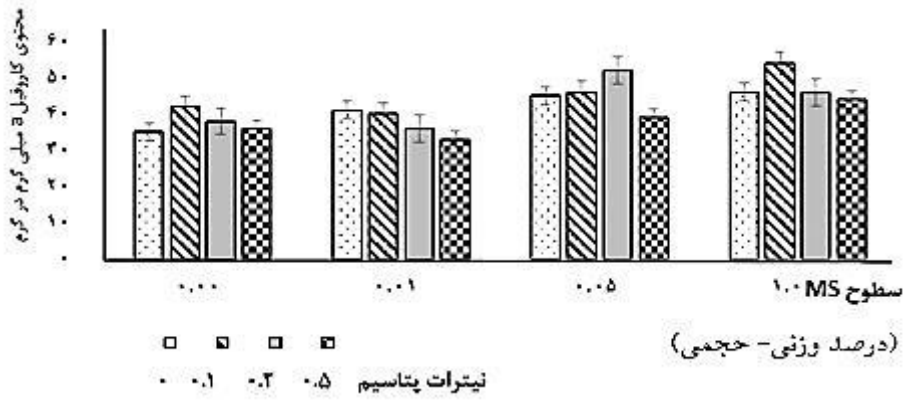
رنگدانه‌های فتوسنتزی: بر اساس نتایج تجزیه واریانس تیمارها اثرات نیترات پتاسیم، محلول MS و اثر متقابل آنها بر میزان کلروفیل a و b در سطح احتمال ۱درصد معنی‌دار بودند(جدول ۱). بیشترین سطح کلروفیل a در تیمار ۰/۰۵ درصد محلول MS و ۰/۲ درصد نیترات پتاسیم بدست آمد. این ترکیب تیماری باعث افزایش ۳۸ درصدی سطح کلروفیل a شد. بیشترین مقدار کلروفیل b در نتیجه اعمال تیمار ۰/۰۱ درصد محلول MS و ۰/۵ درصد نیترات پتاسیم بدست آمد. افزایش میزان کلروفیل در این تیمار نسبت به تیمار شاهد ۳۵ درصد بود. استفاده از هر دو محلول نیترات پتاسیم و محلول MS نسبت به استفاده مستقل آنها اثرات بهتری بر میزان کلروفیل a و b داشت (شکل ۳ و ٤). البته استفاده نیترات پتاسیم به تنهایی اثرات بهتری نسبت به استفاده محلول MS نشان داد.



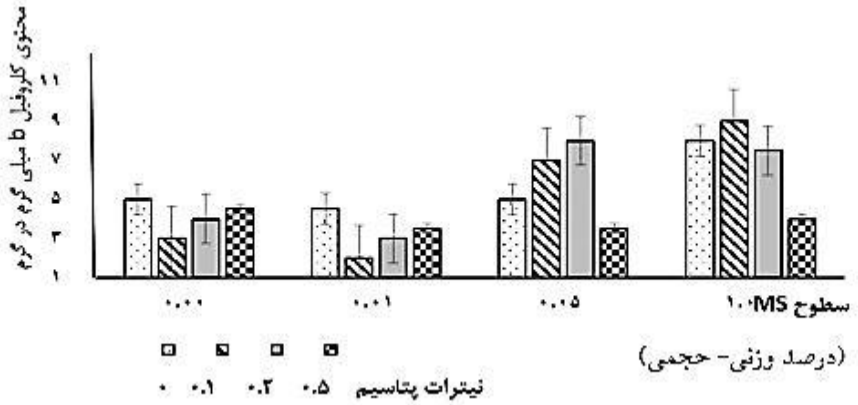
شکل ۱: اثر متقابل محلول MS و نیترات پتاسیم بر درصد جوانه‌زنی ناخنک



شکل ۲: اثر متقابل محلول MS و نیترات پتاسیم بر محتوای نسبی آب اندام هوایی گیاهچه ناخنک



شکل ۳: اثر متقابل محلول MS و نیترات پتاسیم بر محتوای کلروفیل a گیاهچه ناخنک



شکل ٤: اثر متقابل محلول MS و نیترات پتاسیم بر محتوای کلروفیل b گیاهچه ناخنک

بحث و نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر مشخص شد که تیمارهای اعمال شده تاثیر مستقیم از نوع مثبت بر جوانه‌زنی بذور گونه ناخنک داشتند. با توجه به اینکه گونه مورد مطالعه یکی از گونه‌های مرتعی ارزشمند می‌باشد دارای اهمیت است.

در پژوهشی که (Zhou et al., 2002) بر روی اثر محیط MS بر جوانه‌زنی بادام زمینی انجام شده، نتایج مشابهی گزارش شد. همچنین در تحقیقی دیگر اثرات مثبت سطوح رقیق MS بر جوانه‌زنی سویا گزارش شد (Kumar, 2005). مواد مغذی مانند ویتامین‌ها می‌تواند فرآیندهای گیاهی را در هر سطح از سازمان بیولوژیک گیاه تحریک کند که حاصل تغییرات در سطح مولکولی و حتی تغییر بیان ژن‌هاست (Limpanavech et al., 2008).

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که تیمار ۰/۰۱ درصد وزنی–حجمی محلول MS به همراه ۰/۵ درصد وزنی–حجمی نیترات پتاسیم باعث به دست آمدن بهترین درصد جوانه‌زنی در گیاه ناخنک شد. از این رو می‌توان این تیمار را برای پژوهش‌های آینده توصیه کرد. همچنین این تیمار باعث بروز بالاترین میزان محتوای کلروفیل a و b نیز شد. این صفت می‌تواند در بالارفتن سرعت رشد گیاه به دلیل جذب زیادتر تابش خورشیدی موثر باشد. همچنین بالاترین محتوای نسبی آب و بالاترین میزان طول ساقه‌چه نیز با این تیمار به دست آمد. تیمار ۰/۰۲ درصد محلول MS به همراه ۰/۲ درصد نیترات پتاسیم باعث به دست آمدن بالاترین میزان و طول ریشه‌چه شد. این نتایج نشان می‌دهد که این تیمار می‌تواند تأثیر بسزایی در مقابله با اثرات تنش خشکی و شوری داشته باشد.

Demir Kara و همکاران (۲۰۰٦) در بررسی خود روی آفتاب‌گردان، گزارش کردند که پیش تیمار بذور نیترات پتاسیم باعث افزایش معنی‌دار درصد و سرعت جوانه‌زنی شد. یکی از دلایل اثر مثبت محرک‌های شیمیایی مانند نیترات پتاسیم بر جوانه‌زنی بذور، احتمالاً به‌دلیل به تعادل رسیدن نسبت هورمونی در بذر و کاهش مواد بازدارندهٔ رشد مانند آبسیزیک‌اسید است (Ghasemi Pirbalooti et al., 2005).

نتایج بدست آمده بخش طول ریشه چه و ساقه چه با گزارشات (Ramazan et al., 2010) همخوانی دارد. دلیل این موضوع شاید این باشد که پرایمینگ با نیترات پتاسیم به این دلیل که در مراحل اولیه رشد نیتروژن را که جز اصلی بسیاری از ترکیبات ضروری از جمله اسیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک است را در اختیار گیاه قرار می‌دهد و نقش مهمی در تشکیل پروتوپلاسم و سلول‌های جدید ایفا می‌کند بنابراین افزایش طول گیاه را تشویق می‌کند. همچنین پتاسیم عنصر ضروری برای مکانیزم فیزیولوژیک رشد گیاهی است (Aisha, 2007). به هرحال مکانیزم عمل محلول MS روی رشد ریشه و ساقه ناشناخته باقی مانده است و نیاز به بررسی بیشتر دارد. شاید محلول MS و رشد و نمو گیاه را توسط بعضی مسیرهای بیوسنتز آنزیمی، افزایش دهد (Uthairatanakij, 2007).

در پژوهش‌های صورت گرفته توسط (Bradford, 1995) گزارش شده پرایمینگ باعث افزایش میزان سنتز اسیدهای نوکلئیک، پروتئین و تحرک هرچه بیشتر مواد ذخیره‌ای در بذر می شود که به همین دلیل درصد و سرعت جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه افزایش می یابد.

در پژوهشی با موضوع اثر پرایمینگ بر ویژگی‌های فیزیولوژیک گل گاوزبان در شرایط تنش خشکی این نتیجه به دست آمد که پرایمینگ با نیترات پتاسیم بر محتوای نسبی آب برگ اثر معنی‌داری داشت که با نتایج بدست آمده در پژوهش حاضر مطابقت دارد (Dastborhan and Ghassemi-Golezani, 2015) محتوای نسبی آب یکی از ویژگی‌های مؤثر در تداوم رشد تحت شرایط تنش بوده و مقدار بالاتر آن می‌تواند عامل استمرار رشد در شرایط تنش باشد).چنانچه محتوای نسبی آب برگ بالا باشد گیاه تورم سلولی خود را حفظ کرده و رشد آن تداوم می‌یابد محتوای نسبی آب برگ شاخص مناسبی برای بیان وضعیت آب در گیاهان بوده و وضعیت فراگیرتری از تعادل بین میزان عرضه آب نسبی برگ و میزان تعرق را نشان می‌دهد (Yassen and Mamari, 1995).

Liu et al. (۲۰۱٤) در پژوهشی مشاهده کردند که پیش‌تیمار بذور توتون با سطوح مختلف نیترات پتاسیم می‌تواند سطح کلروفیل‌های a و b را افزایش دهد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. تأثیر نیترات پتاسیم می‌تواند به‌دلیل نقش پتاسیم در سنتز پیش ماده رنگیزه‌های کلروفیلی باشد.

References

Aisha, A.H., Rizk, F.A., Shaheen, A.M., and Abdel-Mouty, M.M. 2007. Onion plant growth, bulb yield and its physical and chemical properties as affected by organic and natural fertilization. Journal of Agricuture and Biology Sciences, 3(5): 380-388.

Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphenoxidase in *Beta vulgaris*. Journal of Plant Physiology, 24(1): 1-15.

Ayub, M., Ibrahim, M., Noorka, I.R., Tahir, M., Tanveer, A., and Ullah, A. 2013. Effect of seed priming on seed germination and seedling growth of garden cress (*Lepidium sativum* L.). Int Journal of Agricuture and Applied Sciences, 5(2): 1-10.

Baskin, C.C., and Stout, D. 1998. Rapid and synchronous germination of Cicer milkvetch seed following diurnal temperature priming. Journal of Crop Sciences, 181:263-266.

Bewley, J.D. 1997. Seed germination and dormancy. Journal of plant cell, 9:1055-1066.

Bradford, K.J. 1995. Water relations in seed germination. In "Seed Development and Germination" (J. Kigel and G. Galili, Eds.). Marcel dekkerinc Publication. New York, pp: 355-396.

Copland, L.O., and McDonald, M.B. 1995. Principles of Seed Science and Technoloy. Champan and Hall, New York, 393pp.

Dastborhan, S., and Ghassemi-Golezani, K. 2015. Influence of seed priming and water stress on selected physiological traits of borage. Polish Journal of Hortincture Sciences, 2(27): 151-159.

Demir Kaya, M., Games, O., Atak, M., Cikili, Y., and Kolsarici, O. 2006. Seed treatment to overcome salt and drough stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). Eurpian Journal of Agriculture, 24: 291-295.

Ghasemi Pirbalooti A., Golparvar M., Riaz Dehkordi B., and Navid, A. 2006 The effect of different treatments on sleep defeat and germination stimulation of five species of medicinal plants in Chaharmahal and Bakhtiyari. Journal of Pajoohesh and Sazandegi, 74: 176-191 (In Persian).

Guan, Y.J., Hu, J., Wang, X.J., and Shao, C.X. 2013. Seed priming with chitosan improves maize germination and seedling growth in relation to physiological changes under low temperature stress. Journal of Zhejium Union-Sciences, 10: 427-433.

Haghighi, M., Afifipour, Z., and Mozafarian, M. 2012. The effect of N-Si on tomato seed germination under levels. Journal of Biology Envirinmental Sciences, 6(16): 78-90.

Heydecker, W., and Coolbear, P. 1987. Seed treatment for improved performance: Survey and attempted prognosis. Journal of Seed Sciences and Technology, 5: 353-455.

Jaberolansar, Z. 2005. Genetic variation of *Kelussia odoratissima* using chromosomal characteristics and seed germination traits. M.Sc. Dissertation, Isfahan University of Technology, Iran, 340 pp.

Jancurva, M. 2009. Quinoa- areview., Journal of Czech sciences, 27(2):71-79.

Keeling, A.A., Paton, I.K., and Mullett J.A.J. 1994. Germination and growth of plants in media containing unstable refuse-derived compost. Journal of Soil Biology and Biochemistry, 26(6): 767-772.

Kumar, A., and Singh, D.P. 2005. Use of physiological indices as screening technique for drought tolerance in oil seed Brassica species. Journal of Ann Botany, 81: 413-420.

Lee, Y.S., Kim, Y.H., and Kim, S.B. 2005. Changes in the respiration, growth and vitamin C content of soybean sprouts in response to chitosan of different molecular weights. Journal of Hortculture Sciences, 40: 1333-1335.

Limpanavech P., Chaiyasuta S., Vongpromek R., Pichyangkura R., Khunwasi C., Chadchawan S., Lotrakul P., Bunjongrat R., Chaidee A., and Bangyeekhun T. 2008. Chitosan effects on floral production, gene expression, and anatomical changes in the Dendrobium orchid. Journal of Horticulture Sciences, 116(1): 65-72.

Linsmaier E.M. and Skoog F. 1965. Organic growth factor requirements of tobacco tissue cultures. Journal of Plant Physiology, 18: 100-127.

Liu, J., Li, J., Su, X., and Xia, Z. 2014. Grafting improves drought tolerance by regulating antioxidant enzyme activities and stress-responsive gene expression in tobacco. Journal of Environmental and Excretal Biology, 107: 173-179.

Massoumii, A.K. 2004. *Astragalus* in Iran. Volume 5, Research Institute of Forests and Rangelands, 309p. (In Persian).

Mc Donald, M.B. 2000. Seed priming. (eds. M. Black and J. D. Bewley). Academic, Sheffield, 325pp.

Mozaffarian, V. 2001. Heritage Reserve Treasures of Iranian Plants. Message Monthly. Iranian Society of Genetics Publication, Tehran pp: 235-344 pp.(In Persian).

Murashige T., and Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. Journal of Plant Physiology, 15:473-479.

Nasiri, M. 1994. Investigation of Factors Affecting Sleep, Germination and Development of Seeds, Research Organization, Journal of Agriculture Extended and Organism, 1: 24-38.

Qasim, M., Ashraf, M.M., Jamil, A.M., Rehman, Y.S.U. and Rha, E.S. 2003. Water relations and gas exchange properties in some elite canola (*Brassica napus* L.) lines under salt stress. Journal of Annual Applelide of Biology, 142(3): 307-316.

Ramazan, A., Hafiz, I.A., Ahmad, T., and Abbasi, N.A. 2010. Effect of priming whit potassium nitrate and Dehusking on seed germination of Gladiolus (*Gladiolus alatus*). Pak J., 42(1): 247-256.

Uthairatanakij, A., Teixeira da Silva J.A., and Obsuwan K. 2007. Chitosan for Improving Orchid Production and Quality. Journal of Orch Science and Biotechnilogy, 1(1): 1-5.

Wanichpongpan, P., Suriyachan K., and Chandrkrachang S. 2001. Effect of chitosan on the growth of Gerbera flower plant (*Gerbera jamesonii*). Chitin and chitosan: Journal of Chitin and Chitosan in Life Sciences, p: 198-211.

Wei, S., Zang, X.M., Xue, J.P., and Xiang G. 2007. Effect of chitosan on seeds germination and seedling physiological property of wheat. Periodicals. Core Journal of Biology, 24(2):78-83.

Yassen, B.T., and Mamari, A.L. **1995.** Further evaluation of the resistance of black barley to water stress. Journal of Agriculture science , 174: 19-24.

Zhou, Y.G., Yang, Y.D., Qi, Y.G., Zhang, Z.M., Wang, X.J., and Hu, X.J. **2002**. Effects of chitosan on some physiological activity in germinating seed of peanut. Journal of Plant Sciences, 31:22-25.