فصلنامه (علمی – پژوهشی)

زیست شناسی تکوینی

سال یازدهم، شماره ۱، زمستان ۱۳۹۷

بررسی تاثیر نانو ذره نقره سنتز شده از گیاه و اسید جیبرلیک بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی و جوانه‌زنی گیاه دارویی گون کتیرایی (*Astragalus gossypinus* Fisher)

رضا دهقانی بیدگلی

گروه مرتع و آبخیزداری دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین دانشگاه کاشان

* dehghanir@kashanu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۷/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۲/۲۶

چکیده

گون سفید (*Astraglus gossypinus* Fisher.) از جمله گیاهان با ارزش و مولد با کیفیت‌ترین صمغ کتیرا می‌باشد که اهمیت زیادی در حفاظت خاک و اقتصاد کشور دارد. شناخت عوامل مؤثر بر خواب و ایجاد شرایط بهینه برای جوانه‌زنی بذرهای این گیاه برای کشت، اصلاح و احیاء مراتع لازم می‌باشد، بدین منظور این مطالعه با هدف بهترین تیمار جهت شکستن خواب و بهبود صفات جوانه‌زنی بذر گون سفید تحت تأثیر تیمارهای مختلف شیمیایی و فیزیکی اجرا گردید. به منظور بررسی اثر نانو ذره نقره و اسید جیبرلیک بر جوانه زنی گونه گون سفید، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در ۴ تکرار در سال ۱۳۹۷ اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل پیش تمار با اسید جیبرلیک در ۴ سطح (صفر به‌عنوان شاهد، ۱۰۰، ۱۵۰و ۳۰۰ ppm) و نانو ذره نقره سنتز شده با استفاده از عصاره آبی درخت بلوط در ۴ سطح (صفر به‌عنوان شاهد، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲ درصد وزنی-حجمی) به مدت ۴ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بودند. نتایج آزمایشها نشان داد اسید جیبرلیک، نانو ذره نقره و اثر متقابل تیمارها در سطح احتمال ٪۱ بر تمامی صفات مورد مطالعه شامل درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، ضریب جوانه‌زنی، محتوای نسبی آب، کلروفیل a،b و کلروفیل کل، معنی دار بود. همچنین استفاده از اسید جیبرلیک ۱۰۰ppm باعث افزایش ۲۵ درصدی طول ریشه‌چه شد، اما با افزایش غلظت اسید جیبرلیک طول ریشه‌چه ساقه‌چه نسبت به شاهد کاهش پیدا کردند. همچنین استفاده از پیش تیمار اسید جیبرلیک ۱۵۰ ppm و نانو ذره نقره ۰/۱درصد باعث افزایش ۵۰ درصدی طول ریشه‌چه شد. بالاترین میزان درصد جوانه‌زنی، محتوای کلروفیل a،b و طول ساقه‌چه با اعمال تیمار ۱۰۰ppm اسید جیبرلیک به همراه تیمار ۰/۲ درصد وزنی-حجمی نانو ذره نقره به دست آمد. همچنین اعمال تیمارهای ذکر شده به تنهایی نیز بر صفات مورد مطالعه اثرات مثبت و معنی‌دار داشتند.

کلیدواژه‌ها: بذر، جوانه‌زنی،گون، مرتع، نانو ذره.

مقدمه

گون از گونه‌های گیاهی با ارزش مرتعی و علوفه‌ای است که در جهان تنوع قابل‌توجهی دارد. جنس گون *Astragalus* متعلق به قبیله Galegeae از تیره بقولات (Fabaceae) است. کشور ایران خاستگاه اصلی و یکی از مراکز تنوع گونه‌های گون بوده که بر اساس آخرین اطلاعات ۸۰٤ گونه در ایران وجود دارد که از آن میان ۵۲۷ گونه بومی و ۲۷۷ گونه مشترک با کشورهای همسایه است [۲۳]. ارتفاعات البرز و زاگرس مهم‌ترین رویشگاه‌های گونه گون مولد کتیرا هستند [۲۳]. بنابراین، می‌توان اذعان داشت که فلات ایران، یک گونستان وسیع و گسترده است. از بین گونه‌های خاردار مولد کتیرا گونه سفید یا گون پنبه‌ای (*Astraglus gossypinus* Fisher.) از نظر اقتصادی جزء مهم‌ترین گون‌ها در کشور محسوب می‌شود که بهترین نوع کتیرای موجود در دنیا از آن استحصال می‌شود [۱۳].

تکثیر این گیاه از طریق بذر صورت می‌گیرد [۳۲]. بنابراین یکی از مشکلات کشت این گیاه جهت احیاء و اصلاح مراتع وجود خواب در بذر و تأخیر در جوانه‌زنی آن می‌باشد. خواب بذر در واقع یک پدیده فیزیولوژیکی است که بذرهای بسیاری از گیاهان زراعی، مرتعی و دارویی با آن مواجه هستند. خواب بذر یکی از مهم‌ترین سازوکارهای کنترل‌کننده زمان جوانه‌زنی بذر است [۵] و جوانه‌زنی بذر را تا فراهم شدن شرایط لازم جهت رشد و بقا، گیاهچه به تأخیر می‌اندازد (باسکین و باسکین، ۲۰۰٤). خواب فیزیکی بذر در خانواده بقولات، ناشی از پوسته‌های نفوذناپذیر بذر در برابر آب است [۵]. پوسته بذر گونه‌های گون معمولاً سخت و نسبت به آب و گازها نفوذناپذیر است. بنابراین، بذرهای گون عموماً دارای خواب از نوع پوسته سخت یا فیزیکی بوده است [۲۸].

روش‌های مختلفی برای شکستن خواب بذر وجود دارد. در مواردی که خواب دانه ناشی از سختی یا نفوذناپذیری پوسته دانه می‌باشد (خواب فیزیکی بذر) اسکاریفیکاسیون شیمیایی (خیساندن بذر در اسید سولفوریک) می‌تواند در شکست خواب مؤثر [۲۲] و [۲٤]. زمان کاربرد این تیمار از چند دقیقه تا چند ساعت متغیر بوده و در اکثر موارد محدود یک تا ۲۰ دقیقه برای اعمال این تیمار استفاده شده است [۳٤]. بذر مهم‌ترین و اساسی‌ترین بخش گیاه است که در بازسازی، حفظ و انتقال مواد ژنتیکی گیاه و همچنین مکانیزم‌های پراکنش، تکثیر و بقای گیاه در شرایط بسیار سخت نقش اساسی دارد. قسمت اعظم غذای انسان (بیش از ۵۰ درصد انرژی تنها بوسیله غلات به عنوان منبع عمده هیدرات کربن و لگوم‌ها به عنوان منبع عمده پروتئین گیاهی)، حیوانات و پرندگان را، بذرها تشکیل می‌دهند. علاوه بر اینها بذور دارای مصارف متعدد داروئی، صنعتی و تجاری می‌باشند. یکی از خواص کیفی زراعی بذر، قدرت رویش بذر است. قدرت بذر، توانایی سریع تولید گیاهچه و میزان تحمل بذر در دامنه‌ای از عوامل محیطی را مشخص می‌نماید. تاثیر قدرت بذر بر روی نمو گیاه و عملکرد آن نیز ممکن است بروز کند [۲۱]. ساختار ژنتیکی، محیط و تغذیه مادری، ذخایر بذر، مرحله رسیدگی در زمان برداشت، عوامل بیماری‌زا و فرسودگی بذر از جمله عوامل موثر بر قدرت بذر هستند. فرسودگی بذر پس از ساختار ژنتیکی بیشترین تاثیر را بر قدرت بذر دارد [۲٤] و [۹]. استفاده از بذرهای قوی ممکن است به دو صورت عمده موجب افزایش عملکرد گیاه زراعی گردد، اول اینکه درصد گیاهچه‌های سبز شده

از بذرهای قوی بیشتر از گیاهچه‌های حاصل از بذرهای ضعیف و فرسوده می‌باشد، از این رو با کاشت بذرهای قوی احتمال دستیابی به تراکم مطلوب، حتی در شرایط نامساعد مزرعه بیشتر خواهدبود. دوم آنکه سرعت رشد چنین گیاهانی بیشتر از سرعت رشد گیاهان حاصل از بذرهای ضعیف می‌باشد [٦] و [۳۷].

از میان تمام روش‌های شکستن خواب بذر، تیمار با مواد شیمیایی از جمله تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی از همه بیشتر مورد توجه می‌باشد [۸]. هورمون اسید جیبرلیک یکی از هورمون‌هایی است که با تحریک تجزیه ذخایر غذایی بذر نقش مهمی در کنترل خواب اولیه بذر و القاء جوانه‌زنی دارد (نجفی و همکاران، ۲۰۰٦). زراچینی[1] و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر جیرلین باعث بیشترین سرعت جوانه‌زنی (۱۵/۷۵ روز)، درصد جوانه‌زنی (۵۰/٤۲ درصد) و ارزش جوانه‌زنی (۱۲/٤۵ بذر) بذر تیس (*Sorbus aucuparia*) می‌شود [۳۸]و [۲٤]. معمولاً برای تسریع در جوانه‌زنی بذرها، روش‌های شیمیایی و مکانیکی با هم ترکیب می‌شوند [۱٤] و همکاران، ۲۰۰٤). تحقیقات نشان داده که اضافه کردن اسید جیبرلیک، نیترات پتاسیم و یا سرمادهی بذر نقش به‌سزایی در شکست خواب ناشی از عوامل درونی دارد [۵].

فناوری نانو در زمینه‌های مختلف کشاورزی و صنایع غذایی نظیر تشخیص سریع بیماری‌های گیاهی ،وجود باقی مانده سموم و محصوالت کشاورزی و زدودن آن‌ها، انتقال هوشمند دارو، سموم و عناصر غذایی در دام، تشخیص سریع بیماری‌های گیاهی، وجود باقی مانده سموم در گیاهان و دام و افزایش میزان تولید محصول از طریق تولید گیاهان و جانوران، افزایش دوام انبارداری محصولات کشاورزی و پرایمینگ بذر می‌تواند نقش موثری ایفا کند. دانشمندان آمریکایی از نانوتکنولوژی برای ایجاد منفذ در دیواره سلول‌های گیاهی استفاده کرده اند تا به این طریق یک ژن و یک ماده شیمیایی را برای تحریک دقیق بیان ژن منتقل سازند. نقره در ابعاد نانو بر متابولیسم، تنفس و تولید مثل میکروارگانیسم‌ها اثر دارد [۲۵].

لی[2] و همکاران (۱۹۹۸) گزارش دادند که سرعت جوانه‌زنی و سرعت ظهور بذور پرایم شده با نقره در زمان کمتری از بذور غیر پرایمی صورت می‌گیرد [۱۹].

در آزمایشی روی شکست خواب گون *Astragalus hamosus* انجام شد، مشخص گردید که خواب توسط پوسته سخت بذر کنترل می‌شود و بهترین تیمار برای از بین بردن خواب آن‌ها خراش‌دهی توسط کاغذ سمباده است. تیمار خراش‌دهی شیمیایی توسط اسید سولفوریک با غلظت ۷۰ درصد و مدت زمانی طولانی در از بین بردن کامل پوسته سخت گون موفق بود و باعث ۱۰۰ درصد جوانه‌زنی گردید [۲۷] و [۱۷]. بررسی تیمارهای مختلف بر شکست خواب و افزایش جوانه‌زنی بذر *Astragalus* cicer به این نتیجه رسیدند که بیشترین درصد جوانه‌زنی بذرها در اثر اعمال تیمار تلفیقی خراش‌دهی با پیش سرمادهی مرطوب به مدت ۱٤ روز به همراه اسید جیبرلیک ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد. [۱۱]. به‌منظور بررسی شکست خواب بذر در گونه *Astragalus tribuloides*، از تیمار

[1] Zarchini

[2] Lee

سرمادهی و نفوذپذیر کردن پوسته بذر استفاده کردند. نتایج نشان داد که تیمارهای سرمادهی ۷ و ١٤ روز، از لحاظ میزان جوانه‌زنی (۹۷-۹٦ درصد)، سرعت جوانه‌زنی و بنیه بذر اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نشان دادند [۱۰]. برای بررسی جوانه‌زنی و شکستن خواب بذر *Astragalus siliquasus* از چند روش نفوذپذیر کردن پوسته بذر و اعمال سرمادهی استفاده نمودند. نتایج آنها نشان داد که حدود ۹۵ درصد خواب بذر در گونه *A. siliquasus* ناشی از عدم نفوذپذیری پوسته نسبت به آب و بقیه آن مربوط به عوامل فیزیولوژیکی است. نامبردگان مناسب‌ترین تیمار برای بالا بردن جوانه‌زنی بذر را خراش‌دهی با کاغذ سمباده پیشنهاد نمودند [۱۷]. با بررسی اثر تیمارهای پرایمینگ نیترات پتاسیم بر جوانه‌زنی و ویژگی‌های بیوشمیایی بذور *Pinus bungeana* نشان دادند که این تیمارها سبب افزایش درصد جوانه‌زنی، شاخص جوانه‌زنی و میانگین زمان جوانه‌زنی شده‌اند [۳٦]. از جیبرلیک اسید به‌منظور شکست خواب بذور گیاه گون *Astragalus cyclophyllon* استفاده کردند.

با توجه به اهمیت بذرکاری به‌عنوان روش معمول در اصلاح و احیاء مراتع کم بازده و تخریب شده، و وجود خواب در بذر گون سفید، این تحقیق با هدف شناسایی مؤثرترین روش‌های شکست خواب بذر و بهبود صفات جوانه‌زنی بذر گون سفید اجراء گردید.

پژوهش حاضر به منظور بررسی اثر اسید جیبرلیک و نانو ذره نقره بر خصوصیات جوانه‌زنی و ویژگی‌های مورفولوژیکی، محتوای کلروفیل و رطوبت نسبی گیاه گون سفید انجام گردیده است.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر پیش تیمار بذور گون سفید با اسید جیبرلیک و محلول نانو ذره نقره در مراحل اولیه جوانه زنی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در٤ تکرار در دانشگاه کاشان در سال ۱۳۹۷ اجرا شد. بذرها پس از آبشویی با آب مقطر و ریختن کمی آب مقطر بر روی آنها به مدت ٢٤ ساعت درون یخچال قرار داده شدند. پس از ٢٤ ساعت بذرها از یخچال به زیر لامینار 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 ۲۰درصد (محلول ۱۰۰ میلی‌لیتر آب ژاول، ٤۰۰ میلی‌لیتر آب مقطرو یک قطره مایع ظرفشویی) غوطه‌ور نموده و سپس با آب مقطر استریل چندین بار شستشو داده شدند. تمام این کارها در زیر دستگاه لامینار و در شرایط استریل انجام گرفت [۱۵].

آماده سازی نانو ذره نقره

سنتز نانو ذره نقره با استفاده از عصاره آبی درخت بلوط انجام شد. جهت تهیه عصاره آبی مان درخت بلوط ۵ گرم از مان این گیاه، با آب دیونیزه شسته شده و به یک ارلن مایر ۵۰۰ میلی‌لیتری منتقل شد و در نهایت مقدار ۱۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه به آن افزوده گردید. سپس مخلوط به دست آمده به مدت ۲۵ دقیقه در حمام آب گرم تحت دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. مخلوط حاصل سه بار با کاغذ صافی فیلتر شد و سپس توسط سانتریفوژ با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه (rpm) به مدت ۲۰ دقیقه خالص‌سازی گردید.

محلول حاصل در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد به مدت یک هفته قابل استفاده میباشد. سپس ۲۰ میلی‌لیتر

عصاره آبی تازه تهیه شده به ۱۰۰ میلی لیتر از نمک ۱ میلی مولار نقره نیترات افزوده شده بدین ترتیب با تغییر رنگ محلول از زرد کمرنگ به زرد مایل به قهوه‌ای نانوذرات نقره حاصل شد [۱۲] و [۳۷].

غلظت اولیه نانو ذره ppm ۳۰۰۰ و اندازه آن ۱۵– ۱۰ نانومتر بود که توسط دستگاه پراش اشعه xانجام شد.. تیمار اول شامل پرایمینگ با نانو ذره نقره در ٤ سطح (صفر به عنوان شاهد، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲درصد وزنی – حجمی) بود.

آماده‌سازی اسید جیبرلیک

بستر دیگر که برای مقایسه جوانه‌زنی و رشد گونه‌ها محلول اسید جیبرلیک بود. سپس بذور تیمار شاهد به مدت ۲٤ ساعت در آب و بذور تیمار هورمونی به مدت ۲٤ ساعت در محلول‌های ۱۰۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر(ppm) اسیدجیبرلیک خیسانده شدند. بعد از خیساندن جهت جلوگیری از پوسیدگی، بذور با قارچ کش مانکوزب ۲ در هزار ضدعفونی گردیدند. پس از ضدعفونی، ۲۰ بذر روی سطح هر کاغذ صافی استریل مرطوب و درون پتری دیش‌های استریل قرار داده شدند.

شمارش بذور جوانه‌زده به صورت روزانه و به مدت ٤ روز در زمان معین انجام شد و بذوری جوانه زده تلقی می شد که، ریشه‌چه آنها به طول ۲ میلی‌متر از پوسته خارج شده بودند [۱]. بعد از ٤ روز اندازه‌گیری طول گیاهچه، ساقه‌چه و ریشه با خط کش و بر حسب سانتی‌متر و اندازه‌گیری وزن تر توسط ترازو با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم و بر حسب میلی‌گرم انجام شد. سپس برای اندازه‌گیری وزن خشک گیاهچه‌ها، پس از خشک کردن گیاهچه‌ها به مدت ۲٤ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد در درون آون، از ترازوی دقیق استفاده شد. برای محاسبه درصد جوانه‌زنی از رابطه ۱ استفاده شد [۳].

رابطه ۱:

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

جهت محاسبه محتوای نسبی آب پس از توزین وزن تر گیاهچه، نمونه‌ها به مدت ۲٤ 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 ۲٤ ساعت منتقل شده و سپس وزن خشک آنها توزین شد. درصد محتوای نسبی آب توسط رابطه۲ محاسبه شد [۱۱]. 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 میلی لیتر استون ۸۰٪ خوب سابیده شده و سپس در سانتریفیوز در دور ۱۳۰۰۰ و دمای ٤ درجه به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفتند. سپس جذب عصاره حاصل در طول موج‌های ٦٦۳ و ٦٤۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید و در رابطه ط زیر جهت اندازه‌گیری پارامترها وارد شد. در این روابط، V حجم محلول (میلی‌متر) و W وزن (میلی‌گرم) نمونه می‌باشد [۲] و [۳۰].

رابطه ۳ کلروفیل a

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

رابطه ٤: کلروفیل b

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

رابطه ٥: کلروفیل کل

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

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

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱، شکل ۱)، محلول اسید جیبرلیک، نانو ذره نقره و اثر متقابل این دو بر میزان درصد جوانه زنی در سطح احتمال ۱٪ اثر معنی‌داری داشتند. تیمار بذور با محلول نانو ذره نقره ۰/۱درصد باعث افزایش ۲۰ درصدی جوانه‌زنی نسبت به تیمار شاهد شد. همچنین تیمار با اسید جیبرلیک ۱۰۰ppm باعث افزایش ۲۵ درصدی جوانه زنی نسبت به تیمار شاهد شد. تیمار پرایمینگ با محلول ۰/۲ درصد نانو ذره نقره و ۱۰۰ ppm اسید جیبرلیک باعث شد درصد جوانه‌زنی بذور به ۹۸ درصد برسد که نسبت به تیمار شاهد ۵۰ درصد افزایش را نشان می دهد. در تحقیقی که Keeling و همکاران ۱۹۹٤ بر روی اثر اسید جیبرلیک بر جوانه زنی بذر یونجه (*Medicago sativa*) انجام دادند نتایج مشابهی گزارش شد [١٦]. همچنین در تحقیقی دیگر اثرات مثبت سطوح رقیق اسیید جیبرلیک بر جوانه‌زنی چاودار گزارش شد [۳۱]. مواد مغذی مانند ویتامین ها می‌تواند فرآیند های گیاهی را در هر سطح از سازمان بیولوژیکی گیاه تحریک کند که حاصل تغییرات در سطح مولکولی و حتی تغییر بیان ژن هاست [۳۳].

Gusano و همکاران (۲۰۰٤) در بررسی خود بر روی کوکب، گزارش کردند که پیش تیمار بذور نانو ذره نقره باعث افزایش معنی‌دار درصد و سرعت جوانه‌زنی شد. یکی از دلایل اثر مثبت محرک های شیمیایی مانند نانو ذره نقره بر جوانه‌زنی بذور احتمالا به دلیل به تعادل رسیدن نسبت هورمونی در بذرو کاهش مواد بازدارنده رشد مانند آبسیزیک‌اسید است [۱۵].

طول ریشه‌چه و ساقه‌چه

نانو ذره نقره و اسید جیبرلیک و اثر متقابل آنها بر طول ریشه‌چه و ساقه چه در سطح احتمال ۱٪، اثر معنی دار داشتند (جدول ۱). نانو ذره نقره باعث افزایش ٤٦ درصدی طول ریشه‌چه و ۳۲ درصدی طول ساقه چه شد. نتایج بدست آمده در این بخش با گزارشات Ramazan و همکاران ۲۰۱۰ همخوانی دارد [۲۲]. دلیل این موضوع شاید این باشد که پرایمینگ با نانو ذره نقره 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 [۱] و [۱۹] .

استفاده از اسید جیبرلیک برای پرایمینگ بذور گون گزی اثر مثبتی بر طول افزایش ریشه چه داشت به طوری که استفاده از اسید جیبرلیک ۱۰۰ppmباعث افزایش ۲٦ درصدی طول ریشه‌چه شد. با افزایش غلظت اسید جیبرلیک طول ریشه‌چه ساقه‌چه نسبت به شاهد کاهش پیدا کردند که نیاز به بررسی بیشتر

دارد. همچنین پرایم بذور با اسید جیبرلیک ۱۵۰ppm و نانو ذره نقره ۰/۱ درصد باعث افزایش ۵۰ درصدی طول ریشه‌چه شد. اثر متقابل نانو ذره نقره و اسید جیبرلیک بر رشد ساقه چه با وجود معنی دار بودن اما افزیش محسوسی نشان نداد. شاید اسید جیبرلیک، رشد و نمو گیاه را توسط بعضی مسیرهای بیوسنتز آنزیمی در این گیاه افزایش می دهد [۲۷]و [۲۵].

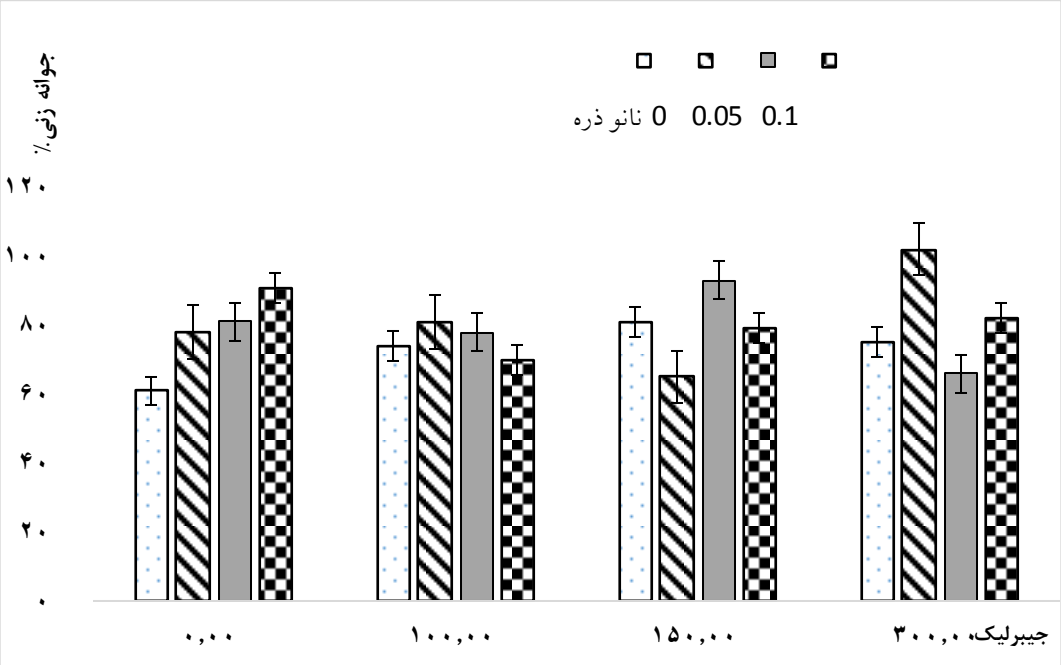
بحث

درصد و ضریب جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس تیمارهای مختلف نشان داد تغییرات ضریب جوانه‌زنی تحت اثر نانو ذره نقره و اسید جیبرلیک در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود(جدول ۱). بهترین غلظت اسید جیبرلیک سطح ۱۵۰ppm و بهترین سطح نانو ذره نقره سطح ۰/۱ درصد وزنی- حجمی بود. اثر متقابل نانو ذره نقره و اسید جیبرلیک نیز در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود. بهترین ضریب جوانه زنی در تیمار توام اسید جیبرلیک ۱۵۰ ppm و نانو ذره نقره ۰/۲ درصد وزنی حجمی

جدول ۱- اثر سطوح مختلف نانو ذره نقره و اسید جیبرلیک بر صفات جوانه زنی گون سفید

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		درصد جوانه‌زنی	طول ساقه‌چه	طول ریشه‌چه	ضریب جوانه‌زنی	محتوای نسبی آب	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل
اسید جیبرلیک	۳	۳۳۵/۰۸۶**	۳/۲۱۱٤**	٤/۱٦٥۰**	۰/۰۳۲٦**	۸/۱۹۳۲**	٤۲/۱۲٦**	۳۳/۸۹۰۱**	٤/۸٥۲۳**
نانو ذره نقره	۳	٥٦۲/۱۱۲**	۰/٥٤٦۰**	۳/۹۸٦۰**	۰/۰۳۲٥**	٦/۳۱۱۷**	۹۲/۹٦۱۰**	۱۳/٥۰۲۳**	٤/۲۲۳۱**
عصاره × نانو ذره	۹	۳۱۲/۱۱۸**	۰/۸۱٥۰**	۰/۸۹۹۰**	۰/۰۲۷٥**	٤/۲٥٦۳**	۳٦/٥٥٦**	۱۷/٥٦۳۲**	۰/۷٥۲۳**
خطا	٥۱	۲۱/۰۰۳۸	۰/۰۸۹۹	۰/۲۲٤٥	۰/۰۰٤٤	۰/۸۷۳٦	۲/٤٥۱۱	۰/۳۹۸٦	۰/۰۸۷٥
درصد ضریب تغییرات		۷/۰۳۳٥	۸/۸٦٥۲	۹/۱۲۲٥	٥/۰۷٥۲	۷/۷۸۳٥	۳/۳۲٥۰	۷/۲۰٤٥	۱٦/٥٥۲۰



شکل ۱- اثر متقابل اسید جیبرلیک و نانو ذره نقره بر درصد جوانه‌زنی گون سفید

بدست آمد. این تیمار باعث افزایش ۲۵ درصدی ضریب جوانه‌زنی نسبت به تیمار شاهد شد. بیان شده پرایمینگ باعث افزایش میزان سنتز اسیدهای نوکلئیک، پروتئین و تحرک هرچه بیشتر مواد ذخیره‌ایی در بذر می شود که به همین دلیل درصد و سرعت جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه افزایش می‌یابد [۷] و [۱٤].

محتوای نسبی آب

براساس نتایج تجزیه واریانس تیمارها، اسید جیبرلیک در سطح احتمال ۱٪ بر محتوای نسبی آب اثر معنی‌داری داشت (جدول۱ و ۲) (شکل ۲)، به این صورت که استفاده از محلول ppm ۱۰۰ اسید جیبرلیک برای تیمار بذور گون سفید باعث افزایش ۲۵درصدی محتوای نسبی آب شد. همچنین مشخص شد تیمار با نانو ذره نقره نیز در سطح احتمال ۱درصد بر محتوای نسبی آب تاثیر مثبت دارد. استفاده از نانو ذره نقره ۰/۲ درصد باعث افزایش ۲۳ درصدی محتوای نسبی آب شد. تاثیر اثر متقابل اسید جیبرلیک و نانو ذره نقره نیز بر صفت مذکور معنی‌دار بود. بهترین سطح محتوای نسبی آب در تیمار اسید جیبرلیکppm ۱۰۰ و نانو ذره نقره ۰/۲ درصد بدست آمد که با تیمار شاهد اختلاف مثبت ٤۷ درصدی داشت (جدول ۳). در پژوهشی با موضوع اثر پرایمینگ بر صفات فیزیولوژیک گل ساعتی در شرایط تنش خشکی این نتیجه به دست آمد که پرایمینگ با نانو ذره نقره بر محتوای نسبی آب برگ اثر معنی داری داشت که با نتایج بدست آمده در پژوهش حاضر مطابقت دارد [۸]. محتوای نسبی آب یکی از ویژگی‌های مؤثر در تداوم رشد تحت شرایط تنش بـوده و مقدار بالاتر آن می‌تواند عامل استمرار رشد در شرایط تنش باشد).چنانچـه 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 وضـعیت آب در گیاهان بوده و وضعیت فراگیرتری از تعادل بین میزان عرضه آب نسبی برگ و میـزان تعرق را نشان می‌دهد [۲۹] و [٤].

رنگدانه‌های فتوسنتزی

بر اساس نتایج تجزیه واریانس تیمارها اثرات اسید جیبرلیک و نانو ذره نقره و اثر متقابل آنها بر میزان کلروفیل a و b در سطح احتمال ۱درصد معنی‌دار بودند (جدول ۱). بیشترین سطح کلروفیل a در تیمار ppm ۱۵۰ اسید جیبرلیک و ۰/۱ درصد نانو ذره نقره به دست آمد. این ترکیب تیماری باعث افزایش ٥٦ درصدی سطح کلروفیل a شد. بیشترین مقدار کلروفیل b در نتیجه اعمال تیمار ppm ۱۰۰ اسید جیبرلیک و ۰/۲ درصد نانو ذره نقره به دست آمد. افزایش میزان

جدول ۲- ضرایب همبستگی ساده بین صفات مربوط به جوانه‌زنی بذر گون سفید تحت سطوح مختلف تیمار

	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷
۱-درصد جوانه‌زنی	۱						
۲- طول ساقه‌چه	-۰/۳۴۵^{ns}	۱					
۳- طول ریشه‌چه	۰/۳۹۸**	-۰/۲۲۱^{ns}	۱				
۴- ضریب جوانه‌زنی	-۰/۵۶۱**	۰/۳۲۴۲*	-۰/۲۲۲^{ns}	۱			
۵- محتوای نسبی آب	۰/۱۴۹^{ns}	۰/۶۶۹**	۰/۰۵۱^{ns}	۰/۲۷۸^{ns}	۱		
۶- کلروفیل a	۰/۴۷۵**	۰/۳۶*	۰/۸۳۷**	۰/۲۴۹^{ns}	۰/۴۴۷**	۱	
۷- کلروفیل b	۰/۳۶۲*	۰/۳۸۸**	۰/۵۵۵**	۰/۰۲۵^{ns}	۰/۵۹۸**	۰/۶۷۳**	۱

کلروفیل در این تیمار نسبت به تیمار شاهد ٥٤درصد بود. استفاده از هر دو محلول نانو ذره نقره و اسید جیبرلیک نسبت به استفاده مستقل آنها اثرات بهتری بر میزان کلروفیل a و b داشت (شکل ۳ و ٤).

فاتح و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی تاثیر هورمون‌های گیاهی از جمله اسید جیبرلیک بر جوانه‌زنی بذر چند گونه مرتعی به این نتیجه رسیدند که استفاده از این هورمون‌ها نقش چشمگیری در افزایش جوانه‌زنی بذر این گیاهان دارد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد [۲۱].

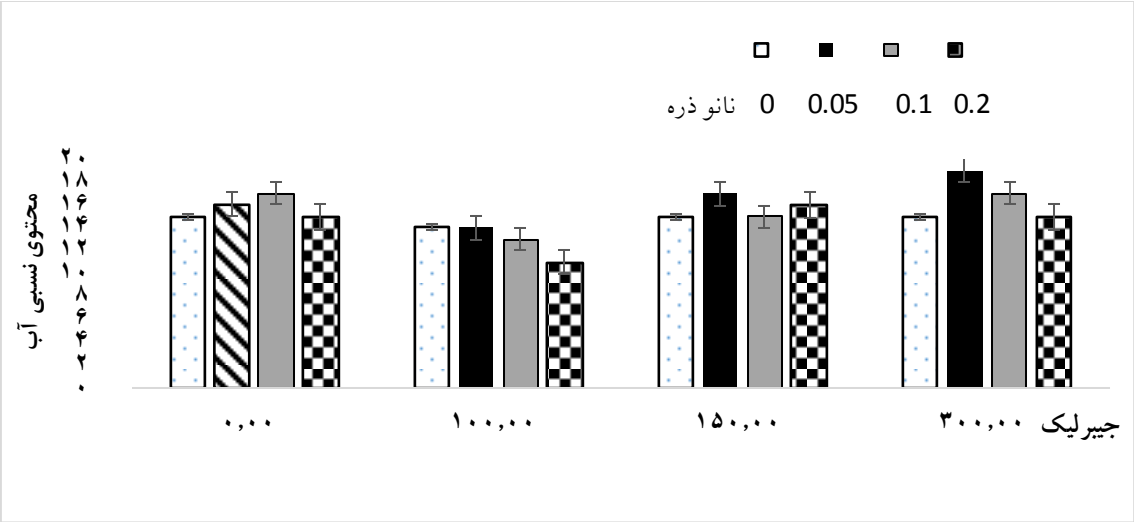
البته استفاده نانو ذره نقره به تنهایی اثرات بهتری در محتوی کلروفیل کل نسبت به استفاده اسید جیبرلیک نشان داد [۱۸]. Liu و همکاران (۲۰۱٤) در پژوهشی مشاهده کردند که پیش‌تیمار بذور توتون با سطوح مختلف نانو ذره سلنیوم می‌تواند سطح کلروفیل‌های a و b را افزایش دهد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد [۲۱].

نتیجه‌گیری

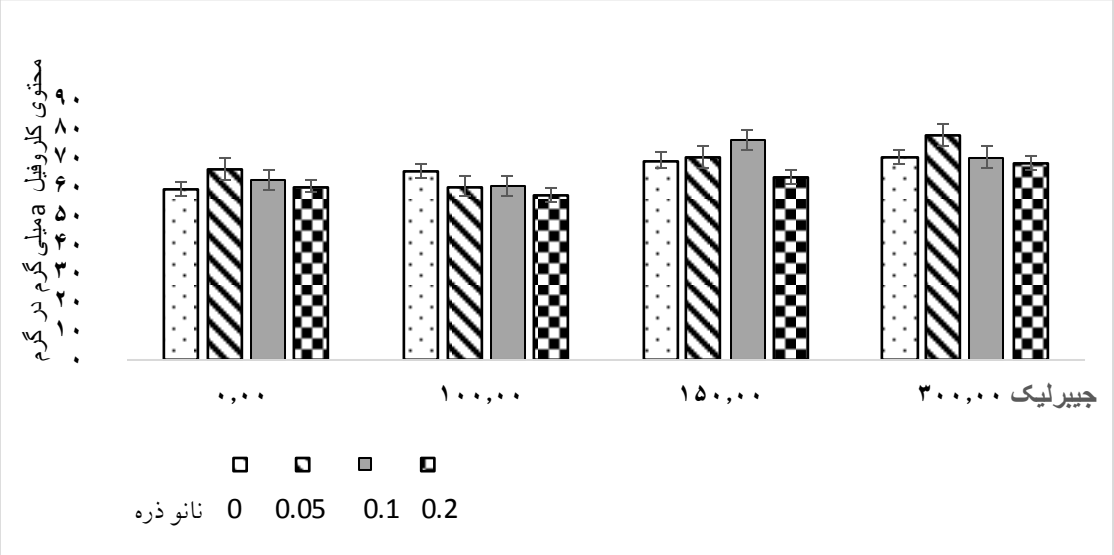
نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که تیمار ppm ۱۰۰ اسیدجیبرلیک به‌همراه ۰/۲ درصد وزنی – حجمی نانو ذره نقره باعث به‌دست آمدن بهترین درصد جوانه‌زنی در گیاه گون سفید شد. از این رو می‌توان این تیمار را برای پژوهش‌های آینده توصیه کرد. پرایمینگ با نانو ذره نقره به این دلیل که در مراحل اولیه رشد نیتروژن را که جز اصلی بسیاری از ترکیبات ضروری از جمله اسیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک است را در اختیار گیاه قرار می‌دهد و نقش

جدول ۳- مقایسه اثر متقابل سطوح مختلف اسید جیبرلیک و نانو ذره نقره برای میانگین خصوصیات جوانه‌زنی گون سفید

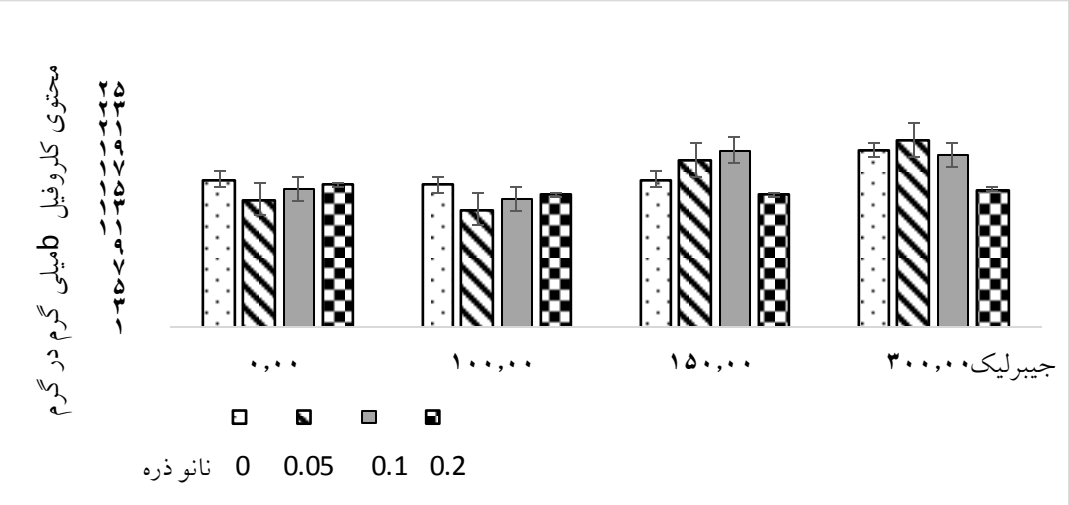
محلول نانوذره (درصد وزنی – حجمی)	اسید جیبرلیک (ppm)	طول ساقه‌چه (سانتی متر)	طول ریشه‌چه (سانتی متر)	ضریب جوانه‌زنی
شاهد	شاهد	۸/٥٦ ab	۸/۷٦d-f	٥/٢٤Cb
	۱۰۰	۷/٤۱ cd	۷/۳٥H	٥/۰۷۹c-f
	۱٥۰	۷/٥۳b-d	٦/٥٥Ab	٥/۰٥٥d-f
	۳۰۰	۷/۸۰Ed	۸/۷۹b-d	٥/٢٢Cd
۰/۰٥	شاهد	۷/۳٢F	۸/٤٥De	٥/٢٥Cb
	۱۰۰	۷/۳۷Ef	۸/٤۷Ed	٥/۰۸۹c-f
	۱٥۰	۷/٤٦d-f	۸/۸۱b-d	٥/۰٢٦ef
	۳۰۰	۸/٦٦A	۸/۹۷a-c	٥F
۰/۱	شاهد	۷/٥٢d-f	۷/۸٢Gh	٥/۰۷cd
	۱۰۰	۷/۳۸d-f	۷/٥۸f-h	٥/٢c-e
	۱٥۰	۷/۳۱d-f	۹/٤٢A	٥/٢۳Cd
	۳۰۰	۸/٢٦Bc	۷/۹٢e-g	٥/٢۹A
۰/٢	شاهد	۷/٤۸d-f	۷/٥٢H	٤/۰۳F
	۱۰۰	٦/۱۱F	۷/٤٤Gh	٤/۰٤F
	۱٥۰	۷/٦۹De	۷/٦٢Gh	٥/۰۸c-e
	۳۰۰	۷/۳۸De	۸/٤۸b-e	٥/٢٢B



شکل ۲- اثر متقابل اسید جیبرلیک و نانو ذره نقره بر محتوای نسبی آب اندام هوایی گیاهچه گون سفید



شکل ۳- اثر متقابل اسید جیبرلیک و نانو ذره نقره بر محتوای کلروفیل a گیاهچه گون سفید



شکل ٤- اثر متقابل اسید جیبرلیک و نانو ذره نقره بر محتوای کلروفیل b گیاهچه گون سفید

مهمی در تشکیل پروتوپلاسم و سلول‌های جدید ایفا می‌کند بنابراین افزایش طول گیاه را تشویق می‌کند. 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 بالاتر تشعشعات خورشیدی موثر باشد. همچنین بالاترین محتوای نسبی آب و بالاترین میزان طول ساقه‌چه نیز با این تیمار به دست آمد. تیمار تیمار ppm ۱۰۰ اسید جیبرلیک به همراه ۰/۱ درصد نانو ذره نقره باعث به دست آمدن بالاترین میزان و طول ریشه‌چه شد. این نتایج نشان می‌دهد که این تیمار می‌تواند تاثیر بسزایی در افزایش جوانه‌زنی داشته باشد.

منابع:

[1] Aisha A H., Rizk FA., Shaheen A. M., Abdel-Mouty, M.M. 2007, Onion plant growth, bulb yield and its physical and chemical properties as affected by organic and natural fertilization. Agriculture and Biological Science, 3(5): 380-388.

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

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

[4] Baskin C.C., Baskin J.M., Hoffman, G.R. 1992. Seed dormancy in the prairie forb *Echinacea angustifolia* (Asteraceae): after ripening pattern during cold stratification. International Journal of Plant Science, 153: 239-243.

[5] Baskin C. C., Baskin J. M., 2014. Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination. (2th Ed.). Elsevier Academic Press Inc, San Diego. 1600p.

[6] Begnami CN., Cortelazzo AL. 1996, Cellular alterations during accelerated aging of French bean seeds. Seed Science and Technology 24: 295-303.

[7] Bradford K.J. 2015, Water relations in seed germination. In "Seed Development and Germination " (J. Kigel and G. Galili, Eds.). Marcel dekkerinc. New York, 351-369.

[8] Dastborhan S., Ghassemi-Golezani K. 2015, Influence of seed priming and water stress on selected physiological traits of borage. Polish Horticultural Science , 2(27): 151-159.

[9] Demir Kaya M., Games O., Atak M., Cikili Y., Kolsarici O. 2006, Seed treatment to overcome salt and drough stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). European Journal Agronomy. 24: 281-295.

[10] Eisvand H. R., Aref, H. A., Tavakol-Afshari R. 2006. Effects of various treatments on breaking seed dormancy of Astragalus siliquosus. Seed Science and Technology, 34 (3): 747-752. [In Persian with English Summary].

[11] Fateh E., Majnoun Hosseini N., Modhara Arefi H., Sharifzadeh F. 2005. Effect of some treatment of seed five rangeland spicies Genetic Research and Reproduction of Rangelands and Forests of Iran, 13 (4): 38-45.

[12] Forough M., Farhadi, K. 2011. Biological and green synthesis of silver nanoparticles. Turkish Journal of Engineering and Environmental Sciences, 34 (4), 281-287.

[13] Ghomeshi Bozorg P., Vahabi M. R., Fazilati M. 2012. Quality survey on gumtragacanth from Astragalus gossypinus Fischer in west region of Isfahan province. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 27(4): 668-690.

[14] Ghasemi Pirbalooti A., Golparvar M., Riaz Dehkordi B., 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 Research. Sazandegi, 74: 176-191. [In Persian].

[15] Gusano G.M., Martinez-Gomez P., Dicenta F. 2004. Breaking seed dormancy in almond (*Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb). Scientia Horticulturae, 99: 363-370.

[16] Keeling A A., Paton I. K., Mullett JA., 1994, Germination and growth of plants in

media containing unstable refuse-derived compost. f Soil Biology and Biochemistry. 26(6): 667-772.

[17] Keshtkar A. R., Keshtkar H. R., Razavi S.M., Dalfardi S. 2008. Methods to break seed dormancy of *Astragalus cyclophyllon*. African Journal of Biotechnology, 7: 3847-3877.

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

[19] Lee, S. Y., Lee, J. H., Kwon, T. O. 2016 Varietal differences in seed germination and seedlingvigor of Korean rice varieties following dry heat treatments. Seed Science and Technology 30: 311-321.

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

[21] Liu J., Li J., Su X., Xia Z. 2014, Grafting improves drought tolerance by regulating antioxidant enzyme activities and stress-responsive gene expression in tobacco. Environmental and Experimental Botany, 107: 173-179.

[22] Mandujano M. C., Montana C., Rojas-Arechiga M. 2015. Breaking seed dormancy in *Opuntia astrera* from the Chihuahuan desert. Journal of Arid Environments, 62: 15-21.

[23] Maassoumi A.A. 1998. Astragalus in the Old World: A Check-list. Research Institute of Forests and Rangelands Publication, Tehran,100 p. [In Persian].

[24] Najafi M., Bannyan M., Tabrizi L., Rastgoo, R. 2006. Seed germination and dormancy breaking techniques for (*Ferula gammusa*) and (*Teucrium polium*). Journal Arid Environmental, 64: 542-547.

[25] Nanotechnology and Information Technology. 2007. http://www.aftab.ir/articles/science_education/technology/c3c1153902514_nano_p3.php

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

[27] Patane C., Gresta F. 2006. Germination of *Astragalus hamosus* and *Medicago orbicularis* as affected by seed-coat dormancy breaking techniques. Journal of Arid Environments, 67: 165-173.

[28] Perry DA. 1972, Seed vigour field establishment. Horticulture Abstract 42: 334-342.

[29] Ramaza A., Hafiz I. A., Ahmad T., Abbasi N.A. 2010, Effect of priming whit potassium nitrate and Dehusking on seed germination of Gladiolus (*Gladiolus alatus*). Pakistan Jornale, 42(1): 248-251.

[30] Robert EH., Osei-Bonsu K. 1998, Seed and seedling vigour. In: Summerfield RJ (Ed) World Crops: Cool Season Food Legumes London, pp: 897-910.

[31] Saif Allah A. 2015, Ph.D., Dispersal and Biological of *Astragalus adscendens* MS.c thesis, Faculty of Agriculture. Isfahan University of Technology. 136 p.

[32] Tavili A., Abbasi Khalaki M., Moameri, M. 2012. Effect of different methods of breaking dormancy on seed germination and some trait of *Astragalus tribuloides*. Journal of Seed Science and Technology, 1(1): 64-72. [In Persian with English Summary].

[33] Uthairatanakij A., Teixeira da Silva J., Obsuwan K. 2017, Chitosan for Improving Orchid Production and Quality. Orchid Science and Biotechnology, 1(1): 1-9.

[34] Wang Y.R., Hanson J., Mariam Y.W. 2007. Effect of sulfuric acid pretreatment on breaking hard seed dormancy in diverse accessions of five wild *Vigna* species. Seed Science and Technology, 35: 550-559.

[35] Wang X. H., Li D. P., Wang W. J., Feng Q.L., Cui F.Z., Xu Y. X., Song X.H., vanderwerf, M. 2003, Crosslinked collagen/chitosan matrix for artificial livers. Biomaterials, 24: 3213-3220.

[36] Yassen B. T., Mamari A. L., 1995, Further evaluation of the resistance of black barley to water stress. Agronomy Journal, 174: 19-25.

[37] Zhou Y. G., Yang Y. D., Qi Y. G., Zhang Z. M., Wang X. J., Hu X. J. 2003, Effects of chitosan on some physiological activity in germinating seed of peanut. Plant Science, 31: 20-28.

[38] Zarchini M., Hashemabadi D., Negahdar, N., Zarchini S. 2013. Improvement seed germination of wild service tree (*Sorbus aucoparia* L.) by gibberellic acid. Annals of Biological Research, 4(1): 72-74.

Journal of Developmental Biology
Vol. 11, No. 1, Winter 2019

Investigating the Effect of Green Nanoparticles of Silver (AgNPs) and Gibberellic Acid (GA) on Some Morphophysiological and Germination Characteristics of (*Astragalus Gossypinus* Fisher)

Dehghani Bidgoli R.

Department of Rangeland and Watershed Management, College of Natural Resources and Earth Sciences, University of Kashan

* Email: dehghanir@kashanu.ac.ir

Received: 14 October 2018 Accepted: 17 March 2019

Abstract

Recognizing the factors affecting dormancy and creating optimal conditions for seed germination of this plant is necessary for the cultivation and improvement of rangelands White Astragalus (*Astragalus gossypinus* Fisher.) an invaluable natural plant with several advantages such as secretion of considerable quality of tragacanth gum, which is very critical for soil conservation and economy of the country. Propagation is through seed culture; its seeds are in the natural state of dormancy. For this purpose, this study was carried out with the aim of the best treatment for breaking the dormancy and improving the germination characteristics of white currant seed under the influence of various chemical and physical treatments. (*Astraglus gossypinus)* Fisher. Is one of the most valuable and productive plants of the highest quality gum, which is very important in protecting the soil and economy of the country. In order to investigate the effect of silver nanoparticle (AgNPs) and Gibberellic acid (GA) on (*Astraglus gossypinus)* germination, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design (CRD) with 4 replications in 1397. Experimental treatments consisted of priming with gibberellic acid in 4 levels (0 as control, 100, 150 and 300 ppm) and silver nanoparticles in 4 levels (0 as control, 0.05, 0.1 and 0.2 W/V) for 4 hours at 25 ° C. The results of the experiments showed that gibberellic acid, silver nanoparticles, and interactions of treatments at 1% probability level on all studied traits including germination percentage, root length, stem length, germination coefficient, and relative water content, chlorophyll a, b and total chlorophyll were significant. Also, the use of 100 ppm gibberellic acid increased the root length by 25%, but with increasing gibberellic acid concentration, root and shoot length decreased compared to control. Also, pre-treatment of 150 ppm gibberellic acid and 0.1% silver nanoparticles increased the root length by 50%. The highest germination percentage, chlorophyll content a, b and stem length were obtained by applying 100 ppm of gibberellic acid and 0.2% w/v of silver nanoparticles. Also, applying these treatments alone had positive and significant effects on the studied traits.

Keywords: Seed, Germination, Astragalus, Rangeland species, Nanoparticles.