

بررسی برخی از عوامل مؤثر بر خفتگی 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 بذره‌های 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 بذره‌های 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 بذره‌های خفته نشان داد. چهارنوار دارای وزن مولکولی بیش از ۶۶۰۰۰ دالتون بودند. وزن مولکولی چهار نوار دیگر ۵۳۳۸۰، ۶۵۰۰۵، ۳۸۶۹۵ و ۲۰۳۳۴ دالتون بود. در بذرها غیر خفته نیز دو نوار پلی

پتیدی با وزن مولکولی ۳۲۱۹۷ و ۲۵۵۸۷ دالتون مشاهده گردید. وجود نوارهای پلی پتیدی متفاوت در بذره‌های 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. بذره‌های 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 پیراپر (pericarp) و اندوخته (endosperm) است. لایه آلورون آخرین لایه اندوخته است که در زیر پیراپر قرار دارد. بذرها علف‌های 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 و شناخت راه های طبیعی شکستن آن از نظر اقتصادی حایز اهمیت است، Hsiao و همکاران (1983)، Johnson (1935) و Atwood (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 & Christie (1971) (Simmonds & Simpson, 1971) 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* ستر α آمیلاز توسط ژیریلین یا مخلوطی از آمینواسیدها و قند شروع می گردد. Bailin &

Foley (1994) تفاوت نوارهای پلی پتیدی 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 و بذرها را به جوانه زنی 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 جوانه زنی درون تشتک پتری

بذرها یولاف وحشی پس از جمع آوری از مزارع گندم دشت مغان مورد آزمایش قرار گرفت. بذرهای زیرین و زیرین موجود در یک سنبلیچه 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، مجدداً آب مقطر اضافه گردید. مدت زمان لازم جهت جوانه زنی بذر در ژرمیناتور با دمای 15°C 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 پوشش ها با کاردک تیز جدا شد. آزمایش ها در چهار تکرار انجام و طرح آماری آنها کاملاً 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 در تجزیه واریانس مورد استفاده قرار گرفت، Conn (1990). تفسیر نتایج به کمک تجزیه واریانس و آزمون LSD صورت گرفت و برای آزمایش های دو تیمار 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) و بذر 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 در مکانی 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، گندمه ای که در جلو ریشه چه سوراخ شده بود و گندمه ای 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 از گندمه ای که دارای منفذ باز و نیز گندمه ای که دارای منفذ پوشیده با خمیر لانولین بود به عنوان دو تیمار استفاده گردید.

۲- تعیین زیستایی (viability) بذر یولاف وحشی (tetrazolium chloride test)

پس از حذف سبوسه، یک سوم بذرها که دارای رویان بود با برش مورب جدا گردید و به تعداد ۱۰۰ عدد در چهار تکرار در محلول یک در صد تترازولیوم کلراید درون انکوباتور با دمای ۳۰°C و تاریکی مطلق به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفت Esno (1966). با آزمایش فوق درصد بذره های زنده (viability) به ترتیب ۹۸ و ۹۹ در صد برای بذره های زیرین و زیرین 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 ۶۵°C به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند. پس از توزین مجدد درصد آب بر اساس وزن خشک از فرمول زیر محاسبه گردید، Hsiao (1979).

$$\text{وزن تر} / 100 \times (\text{وزن خشک} - \text{وزن تر}) = \text{میزان درصد آب}$$

۴- تهیه مواد برای الکتروفورز

الف - آماده سازی نمونه ها

بذرهای یک ساله و غیرخفته با بذرهای تازه برداشت شده و خفته که قبلا در شرایط بهینه جوانه زنی 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 در نظر گرفته شد: ۱- بذرهای زیرین خفته (A) ۲- بذرهای زیرین غیرخفته (B) ۳- بذرهای زیرین خفته (C) ۴- بذرهای زیرین غیرخفته (D).

ب - استخراج پروتئین ها و الکتروفورز

در هر بار استخراج ۰/۵ گرم بذر که قبلا در هاون و در دمای 4°C -۰ ساییده شده بود با ۵ میلی لیتر بافر استخراج Tris - Gly در دمای 4°C -۰ مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه ساییده شد. سپس محلول حاصل به مدت ۶۰ دقیقه در 18000 دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. محلول رویی پس از سانتریفوژ جدا و در ویالهای کوچک در فریزر (20°C -) 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 جوانه زنی رویان های جدا شده با جوانه زنی گندمه و بذرها کامل (شاهد) تفاوت معنی دار داشت ولی جوانه زنی گندمه با شاهد تفاوت معنی دار نشان نداد. در بذرهای زیرین تفاوت معنی دار بین هر سه تیمار وجود داشت. در بذرهای تازه برداشت شده،

رویان‌ها کاملاً از نظر فیزیولوژیک و تشریحی بالغ و رسیده بود و حتی خفتگی اولیه در آنها وجود نداشت، (جدول ۱).

جدول ۱- تعیین مکان عامل خفتگی در بذرهای یولاف وحشی

Table 1. Determination of the site of seed dormancy factor on *Avena ludoviciana*

تیمار Treatment	بذرهای زیرین Lower seed	بذرهای زبرین Upper seed
شاهد (Con.)	4b	0c
گندمه (Caryopsis)	8b	3.5b
رویان (Embryo)	99.5a*	97a
LSD 5%	10.6395	8.957

* میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند از نظر آماری تفاوت معنی دار ندارند.

* The means with common sings are not signify cantly different.

۲- بررسی چگونگی تاثیر سبوسه در ایجاد خفتگی

آزمایش دوم: اضافه نمودن سبوسه در محیط اطراف بذرهای بدون سبوسه

بین جوانه‌زنی بذرهای کامل (دارای سبوسه) و گندمه‌های بدون سبوسه‌ای که در محیط اطرافشان سبوسه اضافه شده بود از لحاظ آماری اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد

جدول ۲- بررسی تاثیر شیمیایی سبوسه در خفتگی بذرهای یولاف وحشی. اضافه نمودن سبوسه در محیط اطراف میوه گندمه

Table 2. Chemical effect of glumels in seed dormancy. Adding glumel on around of caryopsis in petri dishes

تیمار Treatment	بذرهای زیرین Lower seed	بذرهای زبرین Upper seed
(Con.)	78.55b*	11b
Tre.	99a	30.75a
	P<0.05sig	P<0.05sig

* میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند از نظر آماری تفاوت معنی دار ندارند

* The means with common sings are not signify cantly different.

Con = Intact seed بذر کامل

Tre.=Adding glumels on around of caryopsis. بذر گندمه + سبوسه اضافه شده در محیط تشتک پتری.

مشاهده شد. (جدول ۲). به طوری که گندمه هایی که سبوسه در اطراف آنها قرار داشت در صد جوانه زنی بیشتری داشت.

آزمایش سوم : ایجاد منفذ بر روی سبوسه و در جلو ریشه چه

ایجاد سوراخ بر روی سبوسه و در جلو ریشه چه جوانه زنی را نسبت به بذرها سالم و نیز بذوری که سبوسه آنها در مکانی به غیر از جلو ریشه چه سوراخ شده بود به طور معنی داری افزایش داد. (جدول ۳).

جدول ۳- بررسی چگونگی تاثیر سبوسه در خفتگی بذره‌های یولاف وحشی. ایجاد منفذ بر روی سبوسه

Table 3. Effect of glumel on seed dormancy. Puncturing on glumel

تیمار Treatment	بذره‌های زیرین Lower seed	بذره‌های زبرین Upper seed
A	44b*	1.5b
B	91.25a	53.5a
C	45.5b	1.75b
LSD 5%	4.846	8.275

* میانگین هایی که دارای حروف مشترک هستند از نظر آماری تفاوت معنی دار ندارند

* Means with common sings are not signify cantly different.

A =Intact seeds (شاهد) بذرها سالم

B=Seeds with puncturing on glumel near radicle. بذره‌های دارای منفذ بر روی سبوسه و در جلوریشه چه.

C=Seeds with puncturing on glumel not near radicle.

بذره‌های دارای منفذ بر روی سبوسه در قسمتهایی به غیر از جلو ریشه چه

آزمایش چهارم : بررسی امکان ایجاد خفتگی توسط سبوسه با جلوگیری از انتقال آب به رویان

دو گروه بذره‌های سالم و بذره‌های کامل دارای منفذ بر روی سبوسه که هر دو عمل جذب آب انجام داده بودند مقدار آب یکسانی داشتند و در یک گروه قرار گرفتند (گروه a). بذره‌های بدون سبوسه (گندمه) که عمل جذب آب انجام داده بودند نیز در گروه دوم قرار گرفتند

گروه b). بذره‌های سالم و بذره‌های بدون سبوسه‌ای (گندمه) که جذب آب انجام نداده بودند آب کمتری نسبت به دو گروه فوق دارا بودند و در گروه سوم قرار گرفتند (گروه c) (جدول ۴).

جدول ۴- تعیین درصد آب موجود در بذر Table 4. Determination of water percent in seeds.

تیمار Treatment	بذره‌های زیرین Lower seed	بذره‌های زبرین Upper seed
جذب آب - بذر سالم Intact seeds - Imbibition	6.09c*	5.93c
جذب آب + بذر سالم Intact seeds + Imbibition	37.73a	35.33a
جذب آب + بذر دارای منفذ بر روی سبوسه Punctured glumel + Imbibition	40.10a	37.72a
جذب آب + میوه گندمه Caryopsis + Imbibition	27.71b	29.78b
جذب آب - میوه گندمه Caryopsis - Imbibition	6.71c	6.61c
LSD 5%	1.195	1.565

* میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند از نظر آماری تفاوت معنی دار ندارند

* Means with common sings are not signify cantly different.

۳- بررسی چگونگی تاثیر گندمه و پوشش‌های موجود در آن در ایجاد خفتگی

آزمایش پنجم: قرار دادن رویان‌های جدا شده در کنار نیمه دوم گندمه

نظر به اینکه تاثیر پوشش‌های گندمه (پیرابر و سلول‌های اندوخته‌ای) در ایجاد خفتگی ممکن است به طریقه فیزیکی، شیمیایی و یا هر دو آنها باشد، رویان از گندمه جدا گردید و سپس مجددا در کنار هم قرار گرفتند. درصد جوانه‌زنی رویان‌های جدا شده با رویان‌های جدا شده‌ای که در کنار نیمه دیگر گندمه قرار گرفته بود مقایسه گردید. نتایج نشان داد درصد جوانه‌زنی آنها تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد نداشت و جوانه‌زنی در هر دو تیمار در صد بالایی را نشان داد (جدول ۵).

جدول ۵- بررسی چگونگی تاثیر گندمه در ایجاد خفتگی بذرها یولاف وحشی. قرار دادن رویان های جدا شده در کنار نیمه دوم گندمه

Table 5. Effect of pericarp and endosperm on seed dormancy. The embryo put near the second half of caryopsis

تیمار	بذره‌های زیرین	بذره‌های زبرین
Treatment	Lower seed	Upper seed
(Con.)	98.25	97
Tre.	98	97
	P>0.05n.s	P>0.05n.s

Con. = embryo جدا شده (شاهد)

Tre.= The embryo put near the second half of caryopsis.

قرار دادن رویان های جدا شده در کنار نیمه دوم گندمه.

آزمایش ششم: ایجاد منفذ بر روی گندمه

درصد جوانه‌زنی گندمه های سالم (شاهد) به طور معنی دار کمتر از گندمه های سوراخ شده بود و هر دو نوع سوراخ ایجاد شده در گندمه موجب افزایش یکسانی در جوانه‌زنی گردید. به طوری که تفاوت معنی دار بین گندمه هایی که در کنار ریشه چه سوراخ شده بودند با گندمه‌هایی که در جلو لبه سوراخ شده بودند مشاهده نگردید. (جدول ۶).

جدول ۶- بررسی چگونگی تاثیر پوشش های موجود در گندمه در ایجاد خفتگی بذره‌های یولاف وحشی. ایجاد منفذ بر روی گندمه

Table 6. Effect of pericarp and endosperm on seed dormancy. Puncturing on caryopsis

تیمار	بذره‌های زیرین	بذره‌های زبرین
Treatment	Lower seed	Upper seed
Con.	55b*	14b
B	100a	60a
C	100a	61.25a
LSD 5%	10.620	3.99

* میانگین هایی که دارای حروف مشترک هستند از نظر آماری تفاوت معنی دار ندارند

* Means with common sings are not signify cantly different.

Con.= Intact seeds (شاهد) بذر سالم

A= Seeds punctured near the scutellum بذر دارای سوراخ در جلو لبه

B = Seeds punctured near the radicle بذر دارای سوراخ در کنار ریشه چه

آزمایش هفتم : پوشانیدن منفذ ایجاد شده در گندمه توسط خمیر لانولین

درصد جوانه زنی بذرهایی که منفذ موجود در سطح گندمه آن‌ها با خمیر پوشیده شده بود تفاوتی با بذرهایی که دارای منافذ باز بودند نداشت. (جدول ۷).

جدول ۷ - بررسی چگونگی تاثیر گندمه در ایجاد خفتگی بذرها یولاف وحشی. پوشانیدن منافذ ایجاد شده در گندم توسط خمیر لانولین

Table 7. Effect of caryopsis in seed dormancy. Covering of hole by lanolin

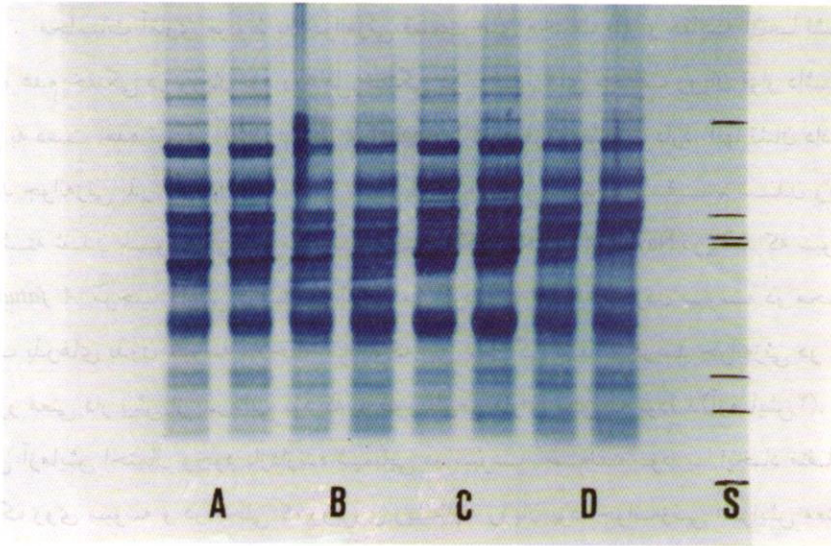
تیمار	بذره‌های زیرین	بذره‌های زبرین
Treatment	Lower seed	Upper seed
(Con.)	99.25	57.75
Tre.	99	56.75
	P>0.05n.s	P>0.05n.s

Con. = Not covered بذر دارای منفذ باز

Tre. = Covered by lanolin. بذری که منفذ آن با لانولین پوشیده شده بود

۴ - بررسی تغییرات پروتئین های بذر یولاف وحشی در اثر شکستن خفتگی

با توجه به شکل ۱ و جدول ۸، در بذره‌های خفته ۸ نوار اختصاصی وجود داشت که بذره‌های غیر خفته فاقد آن بود. با توجه به این جدول در بذره‌های خفته چهار نوار پلی پپتیدی سنگین (بیش از ۶۶۰۰۰ دالتون) وجود داشت که در ابتدا و قبل از بقیه نوارها جدا شده و چهار نوار بعدی به ترتیب دارای وزن مولکولی ۵۳۳۸۰، ۶۵۰۵، ۳۸۶۹۵ و ۲۰۳۳۴ دالتون بودند. بذره‌های غیرخفته دارای نوارهایی با وزن مولکولی کمتر بودند که وزن آنها ۳۲۱۹۷ و ۲۵۵۸۷ دالتون بود.



شکل ۱- مقایسه نوارهای پلی پپتیدی تفکیک شده بر روی ژل پلی آکریل آمید در بذریزین و زبرین خفته (C, A) و بذریزین و زبرین غیر خفته (D, B). پروتئین استاندارد (S)

Fig. 1. Comparison of separated polypeptide bands on acrylamid gel in dormant (A,C), nondormant (B,D) and standard protein(S) in lower and upper seeds

جدول ۸ - RM و وزن ملکولی نوارهای پروتئین استاندارد و پلی پپتیدی بذره‌های خفته و غیر خفته

Table 8. RM and molecular weight of standard protein bands and polypeptides of dormant and nondormant seeds

پروتئین استاندارد Standard Protein		بذره‌های خفته Dormant seeds A&C		بذره‌های غیرخفته Nondormant seeds B&D	
RM	MW(Da)	RM	MW(Da)	RM	MW(Da)
0.26	66000	0.08*	>66000	0.56**	32197
0.45	45000	0.13*	>66000	0.66**	25587
0.51	36000	0.15**	>66000		
0.53	29000	0.21*	>66000		
0.70	24000	0.34*	53380		
0.79	20100	0.40**	46505		
0.91	14200	0.48*	38695		
		0.76**	20334		

** Strong color bands , نوارهای پر رنگ

* Light color bands , نوارهای کم رنگ

محاسبات آماری مربوط به جوانه‌زنی قسمت‌های مختلف بذر و مقایسه آن‌ها نشان دهنده عدم خفتگی در رویان بود و عامل خفتگی در پوشش‌های مختلف رویان قرار داشت. نتایج به دست آمده توسط Anghel & Raina (1960) با نتایج فوق مطابقت دارد. آنها نشان دادند درصد جوانه‌زنی بذر *A. ludoviciana* و *A. fatua* در اثر باز شدن، منقسم شدن و یا برداشته شدن سبوسه افزایش می‌یابد. همچنین Naylor & Christie (1957) دریافتند که سبوسه در *A. fatua* موجب کاهش درصد جوانه‌زنی می‌گردد. با اضافه نمودن سبوسه در محیط اطراف بذرهای بدون سبوسه ملاحظه گردید که این عمل‌گی نشده و درصد جوانه‌زنی در آنها به طور معنی‌دار بیش از بذرهایی بود که به طور طبیعی دارای سبوسه بودند (آزمایش ۲). بر اساس آزمایش احتمال وجود بازدارنده شیمیایی در سبوسه ضعیف بود. با ایجاد منفذی کوچک روی سبوسه و در محلی که روبروی ریشه چه رویان بود، جوانه‌زنی افزایش معنی‌داری یافت که حاکی از عدم وجود بازدارنده شیمیایی درون سبوسه بود. با ایجاد منفذ در قسمت‌های دیگری از سبوسه به غیر از جلو ریشه چه مشاهده‌ی عدم جوانه‌زنی، وجود بازدارنده‌ها در سبوسه منتفی شد (آزمایش ۳). به طوری که اگر وجود منفذ در جلو ریشه چه موجب کاهش میزان بازدارنده‌ها و یا عمل آنها می‌گردید، ایجاد منفذ در نقطه‌ای دیگر نیز موجب این پدیده می‌شد و جوانه‌زنی افزایش می‌یافت که عملاً چنین نبود. به این ترتیب وجود یک عامل فیزیکی در سبوسه به اثبات رسید که احتمالاً با جلوگیری از تبادل گاز، انتقال آب به رویان و یا با ایجاد یک سد مکانیکی در جلو ریشه چه از جوانه‌زنی رویان جلوگیری می‌نمود (Simmond & Simpson 1971) نشان دادند که بذرهای خفته و غیر خفته *A. fatua* قبل از جوانه‌زنی دارای تنفس و تبادل گازی یکسانی بوده و اکسیژن در خفتگی بذر نقشی نداشته است. با ایجاد منفذ در قسمت‌های دیگری از سبوسه (به غیر از جلو ریشه چه) و عدم افزایش جوانه‌زنی احتمال جلوگیری از تبادل گاز توسط سبوسه رد شد. (آزمایش ۳). با توجه به مشاهدات فوق احتمال خفتگی به دلیل جلوگیری از انتقال آب به رویان مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۴). پس از آماس (imbibition)، یکسان بودن مقدار آب در بذرهای سالم و بذرهایی که سبوسه آنها سوراخ شده بود نشان داد که سبوسه در انتقال آب به درون بذر نقش منفی نداشته و با ایجاد سوراخ در آن نیز آب بیشتری به درون بذر منتقل نشده است. در نتیجه

سبوسه در انتقال آب به رویان نقشی بازدارنده نداشت. افزایش جوانه‌زنی در بذره‌های سوراخ شده نسبت به بذره‌های سالم نیز به علت انتقال بیشتر آب به درون رویان نبود. مقدار آب در بذره‌های بدون سبوسه و مرطوب در گروه دوم قرار داشت و کمتر از بذره‌های سالم مرطوب بود. با توجه به مشاهده فوق نتیجه گرفتیم که نه تنها سبوسه از انتقال آب به درون رویان جلوگیری نکرد، بلکه آب در بذره‌های دارای سبوسه به علت دارا بودن قابلیت جذب زیاد آب در آن بیشتر بوده است. بذره‌های فاقد سبوسه با وجود آب کمتر جوانه‌زنی بیشتری نسبت به بذره‌های دارای سبوسه داشتند. درصد آب در بذره‌های خشک فاقد سبوسه با درصد آب بذره‌های خشک دارای سبوسه برابری نموده و در یک گروه قرار گرفتند. بنابراین سبوسه فاقد آب بوده و پس از جذب آب آن را در اختیار رویان قرار می‌دهد. با مشاهدات فوق احتمال اینکه سبوسه با جلوگیری از انتقال آب موجب خفتگی بذر شود متنفی گردید و تنها احتمال اینکه سبوسه از طریق ایجاد یک سد مکانیکی موجب خفتگی بذر یولاف وحشی گردد برجای ماند. با قرار دادن رویان‌های جدا شده در کنار نیمه دوم گندمه و مشاهده جوانه‌زنی یکسان آنها با رویان‌های کشت شده وجود بازدارنده شیمیایی در گندمه رد شد. با ایجاد منفذ روی گندمه و افزایش جوانه‌زنی، عدم وجود بازدارنده شیمیایی در گندمه ثابت شد. (آزمایش ۵ و ۶).

Hsiao (1983) و Raju و همکاران (1986) نشان دادند که با ایجاد زخم بر روی گندمه A. *fatua* آب بیشتری در محل زخم تجمع می‌یابد. آنها وجود منافذ را در افزایش پتانسیل آب در آن نقطه و افزایش جوانه‌زنی مؤثر دانستند. با پوشانیدن زخم توسط لائولین و مشاهده جوانه‌زنی بذور، نتیجه گرفتیم که با حضور لائولین و پوشش‌های بذر اکسیژن‌قادر به عبور بوده و پوشش‌های گندمه از ورود اکسیژن به بذر جلوگیری نکرده است (آزمایش ۷). با توجه به آزمایش‌های فوق نقش قسمت‌های موجود در گندمه (پیرابر، اندوخته و لایه آلورون) در خفتگی تنها به علت کاهش آب قابل استفاده رویان جهت رشد معرفی گردید. پیرابر به عنوان خارجی‌ترین پوشش گندمه از سلول‌های له شده و فشرده‌ای تشکیل شده است که دارای شکاف‌ها و موهای (antrose) است که جاذب آب می‌باشند و به عنوان یک اسباب نم‌نمایی (hygroscopic) به شمار می‌آیند و بنابر این هیچ‌گونه سدی جهت دخول آب به درون بذر محسوب نمی‌گردد، Raju و همکاران (1986). ایجاد زخم

روی گندمه موجب شکاف ساختمان لایه آلورونی گردید که خارجی‌ترین بخش سلول‌های اندوخته‌ای است و در نتیجه لایه آلورون که سد مهمی برای ورود آب است درهم شکسته شد و جذب آب افزایش یافت (Raju & Winnie 1986, Raju & Walter 1988). الکتروفورز پروتئین وجود تغییرات پروتئینی پس از حذف خفتگی بذر یولاف وحشی را نشان داد. ۸ نوار اختصاصی در بذرهای خفته مشاهده شد که چهار نوار دارای وزن مولکولی بیشتری نسبت به چهار نوار دیگر بودند. بذرهای غیر خفته نیز دارای دو نوار اختصاصی با وزن مولکولی کمتری بودند. ممکن است پروتئین‌های فوق و بیان ژنی آنها در شکستن خفتگی مؤثر باشند. مشاهدات فوق با نظرات (Bailin & Foley 1994) مطابق بود که ثابت نمودند در رویان‌های خفته و غیرخفته، پروتئین‌ها و mRNA های خاصی وجود دارد که شناخت آنها در فهم خفتگی بذر و عوامل مؤثر در شکستن آن مفید و مؤثر است.

سپاسگزاری

از جناب آقای دکتر حسن ابراهیم زاده، سرکار خانم دکتر اعظم سلیمی و آقای دکتر حسن رهنما بخاطر راهنمایی و در اختیار گذاشتن آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه تهران در انجام آزمایش الکتروفورز نهایت تشکر و قدردانی را دارد.

نشانی نگارندگان: حمیرا سلیمی، موسسه تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی. تهران. بخش تحقیقات علف‌های هرز. صندوق پستی ۱۴۵۴، تهران ۱۹۳۹۵. مه لقا قربانلی، دانشگاه تربیت معلم، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی