

بررسی خصوصیات جوانه زنی بذر گیاه دارویی گزنه (*Urticaceae dioica*) تحت تاثیر غلظت و زمان ضد عفونی

فاطمه دواتگر^۱

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، علوم باغبانی گرایش گیاهان دارویی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

پست الکترونیک: fatedavataqar@gmail.com

حسین مرادی^{۲*}

۲- استادیار، علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

پست الکترونیک: moradiho@yahoo.com

چکیده:

گزنه *Urtica dioica* از خانواده *Urticaceae* گیاهی پایا، دوپایه، دارای تعداد مطلوبی از مواد موثره دارویی می‌باشد. اولین مرحله در اهلی سازی و کشت ارگانیک این گیاه دارویی، تولید نشای یکنواخت و فراوان است. لذا این پژوهش به منظور دستیابی به روشی مناسب برای تعیین بهترین زمان و مطلوبترین غلظت محلول هیپوکلرید سدیم جهت رفع آلودگی سطحی بذور و استقرار گیاه گزنه در شرایط کشت درون شیشه‌ای طراحی گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمار بذور در غلظت های متفاوت محلول هیپوکلرید سدیم و در مدت زمان متفاوت در محیط کشت موراشیگ و اسکوگ اعمال گردید. صفاتی نظیر سرعت جوانه زنی، طول لپه، قطر لپه، تعداد ریشه، طول ریشه، طول هیپوکوتیل از هر تیمار بعد از ۲۵ روز ارزیابی گردیدند. با توجه به جمع اوری بذور از گیاهان غیراهلی در مناطق پراکنش گیاه، نتایج نشان داد که جهت تهیه نشا مطلوب و کشت ارگانیک گزنه، تیمار مطلوب غلظت و مدت ضد عفونی، قابلیت کاهش آلودگی به قارچ و باکتری در محیط کشت را دارند و بیشترین قطر لپه، اندازه هیپوکوتیل، تعداد ریشه و طول ریشه را تیمار غلظت ۳٪ با مدت زمان ۵ دقیقه نشان داد.

واژه‌های کلیدی: بذور، ضد عفونی، گزنه، هیپوکلریت سدیم

دومین کنفرانس بین‌المللی و ششمین کنفرانس ملی کشاورزی ارگانیک و مرسوم



مقدمه:

از اواسط قرن بیستم و به دنبال مشخص شدن اثرات منفی ناشی از مصرف داروهای شیمیایی، گیاهان دارویی در بیشتر موارد جایگزین این داروها شدند [۷]. گیاه گزنه متعلق به خانواده اورتیکاسه است که دارای ۶۰ جنس و بیش از ۷۰۰ گونه می باشد. دو گونه *Urtica pilulifera* L و *Urtica dioica* L از گونه های شناخته شده گزنه به عنوان گیاهان دارویی هستند [۹]. گزنه گیاهی دویایه، علفی، پابلند و چندساله است. منشأ این گیاه اروپا و آسیا گزارش شده است. ارتفاع این گیاه متفاوت و به شدت به شرایط اقلیمی محل رویش بستگی داشته و بین ۲۰ تا ۱۵۰ سانتی متر می باشد. این گیاه دارای گل‌هایی به رنگ سبز روشن می‌باشد که از محل زاویه برگ به ساقه و به صورت خوشه‌هایی آویزان تشکیل می‌شوند. زمان ظهور گل‌ها به شرایط اقلیمی محل رویش بستگی دارد که معمولاً از اردیبهشت تا شهریور ماه روی گیاه پدیدار می‌شوند. این گیاه دارای میوه فندقه است که پس از رسیدن، دانه ای به رنگ زرد یا زرد تیره تولید می‌کند [۱]. گیاه گزنه، گونه با ارزشی است که به عنوان گیاه دارویی از زمان بسیار دور مورد توجه بوده است وازگل، ساقه و ریشه آن به عنوان دارو استفاده شده می‌شود [۱۰].

در گیاه گزنه ترکیبات زیادی از جمله مواد فنولی شامل کافئیک اسید، فرولیک اسید، فیسستین، سیناپیک اسید، اسکولتین، لوکو آنتوسیانیدین، فلاون، فلاونول وجود دارد. وجود ایزوفلاونوئیدها در ریشه این گیاه نیز گزارش شده است [۹]. برگ‌ها و پیکر رویشی گزنه حاوی کلروفیل، کارتنوئید، ویتامین‌های ب، ث، ک، ترکیب‌های تری ترپن، استرول، گلوکوکپنین، آمین‌ها و هم چنین حاوی مواد معدنی مختلف و هم چنین کرک‌های آن حاوی اسید فرمیک می‌باشند. در اکثر منابع علمی معتبر از برگ‌ها، پیکر رویشی و ریشه و به ندرت از میوه گیاه گزنه به عنوان دارو یاد شده که خواص درمانی آن‌ها مورد تأیید قرار گرفته است. گزنه برای معالجه سرماخوردگی، مدر و ملین، مداوای زخم‌های عفونی، غده‌های بدخیم و بیماری‌های مربوط به دستگاه تنفسی، کاهش قند خون، کاهش کلسترول خون و کاهش ورم پروستات موثر است. همچنین از این گیاه در صنایع دارویی و آرایشی و بهداشتی به طور گسترده ای استفاده می‌شود [۱].

با توجه به این که این گیاه به صورت خودرو و در سطح وسیعی از زمین‌های کشاورزی شمال کشور و برخی دیگر از مناطق می‌روید دارای ارزش بالایی می‌باشد. بیماری‌های بذر و گیاهچه توسط انواعی از ارگانیسیم‌ها مانند قارچ‌ها، باکتری‌ها، ویروس‌ها و نماتدها و چندین ارگانیسیم دیگر که چندان آشنا نیستند، ایجاد می‌شوند که مهمترین آنها قارچ‌ها می‌باشند. قارچ‌های آلوده کننده بذر و گیاهچه باعث از بین رفتن سلول‌ها و بافت‌های گیاهی شده و در نهایت از جوانه زنی بذر ممانعت کرده و یا باعث نمو ضعیف یا مرگ گیاهچه‌ها می‌شوند. از ویژگی‌های مثبت هیپوکلیت سدیم از جمله قابل دسترس بودن، سادگی، ارزانی و همچنین استفاده وسیع از آن برای از بین بردن باکتری‌ها در ضدعفونی آب آشامیدنی و هرزآب و استخرهای شنا چنین به نظر می‌رسد که بتوان از هیپوکلیت سدیم برای ضدعفونی بذور آلوده بهره برد [۳].

طی آزمایشی اثر تیمارهای هیپوکلریت سدیم روی کنترل گزانتوموناس کمپستریس در بذور براسیکا را بررسی و گزارش کردند که تیمارهای هیپوکلریت سدیم بر روی بذور براسیکا در مقایسه با تیمار آب گرم در کنترل گزانتوموناس کمپستریس در بذور براسیکا همانند و یا حتی بیشتر از تیمار آب گرم مؤثر می‌باشد که میانگین جوانه زنی بذور تیمار شده با هیپوکلریت سدیم ۵۲۵٪، برای ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه بیشتر از میانگین جوانه زنی بذور تیمار شده با آب گرم با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و ۲۰ دقیقه می‌باشد همچنین در بین تیمارهای هیپوکلریت سدیم بیشترین میانگین جوانه زنی مربوط به تیمار ۵ دقیقه بود [۷].

در آزمایشی دیگر اثر اشعه گاما و هیپوکلریت سدیم روی جمعیت میکروبی و جوانه زنی بذر ذرت را بررسی کرده و گزارش کردند اشعه گاما با دز ۱۲۰۰ گراد همه میکروارگانیسم‌ها را بدون اینکه اثر بدی روی جوانه زنی بذر داشته باشد حذف کرد ولی هیپوکلریت سدیم به طور کامل نتوانست جمعیت میکروبی و همچنین جوانه زنی را کاهش دهد [۸]. در آزمایشی اثر تیمارهای بذری، باکتری کش‌ها و ارقام را روی بیماری باکتریایی لکه کاهو که به وسیله گزانتوموناس کمپستریس ایجاد شده بود را مورد بررسی قرار دادند که در این آزمایش بذور بصورت مصنوعی با گزانتوموناس کمپستریس تلقیح شده بودند. تیمارهای بذر در این آزمایش گرمای خشک به مدت ۱ ساعت، آب گرم با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت و اسید آلی و هیپوکلریت سدیم با غلظت ۱٪ و به مدت ۵ و یا ۲۰ دقیقه بود که در این آزمایش بهترین تیمار هیپوکلریت سدیم ۱٪ با مدت زمان ۵ و یا ۲۰ دقیقه معرفی شد و سایر تیمارها جوانه زنی بذر را به طور معنی داری کاهش دادند [۹].

طی آزمایشی با عنوان ضد عفونی سطحی بذر با هیپوکلریت سدیم مشاهده کردند که قارچ اسپرژیلوس (که از قبل با بذور گندم تلقیح شده)، عمدتاً بوسیله هیپوکلریت سدیم با غلظت ۱ و ۵٪ به صورت آبی به محض تماس با اسپور قارچ آنها را از بین برد. در این آزمایش خیس کردن بذور قبل از بکارگیری تیمار هیپوکلریت سدیم تاثیری در بهبود اثر آن نداشت و ولی از بین بردن اسپورهای قارچ بستگی به وضعیت و نوع بذور، مقدار آلودگی سطحی و غلظت هیپوکلریت سدیم داشت [۱۱].

در آزمایشی که بروی اثر ۴ غلظت هیپوکلرید سدیم در ۴ زمان بر روی بذر گندم تحقیق نمودن به این نتیجه رسیدن که اختلافات غلظت مواد ضد عفونی کننده در جهت بهبود مؤلفه‌های جوانه زنی تحت دماهای زیر مطلوب و نیز امکان بهبود دماهای پایه و مطلوب در گندم وجود دارد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد بین سطوح مختلف غلظت‌های هیپوکلریت سدیم از نظر درصد جوانه زنی نهایی اختلافاً معنی داری وجود نداشت بیشترین و کمترین درصد جوانه زنی نهایی، به ترتیب مربوط به غلظت ۶ و ۲ درصد تیمار بود بین سطوح مختلف زمان‌های اعمال تیمار از نظر درصد جوانه زنی نهایی اختلافاً معنی داری وجود داشت. بیشترین و کمترین جوانه زنی نهایی، به ترتیب مربوط به زمان های ۵ و ۱۰ دقیقه بود [۲].

با توجه به اینکه اولین مرحله در اهلی سازی و کشت ارگانیک گیاهان دارویی، تولید نشای یکنواخت و فراوان است. لذا این پژوهش به منظور دستیابی به روشی مناسب برای تعیین بهترین زمان و مطلوب‌ترین غلظت محلول هیپوکلرید سدیم جهت رفع آلودگی سطحی بذور و استقرار گیاه گزنه در شرایط کشت درون شیشه‌ای طراحی گردید.



مواد روش:

این آزمایش در آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار اجرا شد. بذور از شرکت پاکان بذر تیه شده اند. تیمارها در دو بخش غلظت و مدت زمان در نظر گرفته شد بطوری که در تیمار اول ۲ سطح غلظت شامل (۱,۵٪) و (۳٪) و در تیمار دوم در زمان شامل (۵) و (۱۰) دقیقه بودند.

بعد از اعمال هر تیمار، بذور ضدعفونی شده سه مرتبه و هر مرتبه ۳۰ ثانیه به وسیله آب مقطر استریل شستشو داده شدند. سپس بذر در کاغذهای صافی واتمن قرار داده شد و به وسیله پنس استریل به محیط کشت یک دوم موراشیگ و اسکوگ MS (بدون هورمون) و در هر پتردیش ۱۰ عدد بذر ضد عفونی شده به اتاقل کشت با دمای 25 ± 1 درجه سانتی گراد منتقل گردید. شمارش بذور جوانه زده از روز سوم جوانه زنی شروع و تا روز آخر (بیست و پنجم) انجام گرفت. برای تعیین اثر اعمال تیمارها روی کیفیت بذر شامل: درصد جوانه زنی استاندارد، سرعت جوانه زنی و میانگین زمان جوانه زنی بذور گزیده در یک دوره (بیست و پنجم روزه) اندازه گیری شد.

$$100 \times (\text{تعداد کل بذورهای آزمایش شده در هر تیمار} / \text{تعداد بذورهای جوانه زده}) = \text{درصد جوانه زنی}$$

بعد از متوقف شدن جوانه زنی برای تعیین طول لپه، قطر لپه، تعداد ریشه، طول ریشه، طول هیپوکوتیل از هر تیمار تعدادی جوانه انتخاب و به وسیله کولیس اندازه گیری شد.

نتایج و بحث:

درصد جوانه زنی:

با توجه به شکل [۱] نمودار [a] بیشترین درصد جوانه زنی مربوط به غلظت ۳ درصد به مدت زمان ۱۰ دقیقه ۳۰ درصد) بعد از آن غلظت ۳ با مدت زمان ۵ دقیقه (۲۰ درصد)، غلظت ۱/۵ در هر دو زمان (۵ و ۱۰) دقیقه (۱۰ درصد) و کمترین درصد جوانه زنی مربوط به تیمار شاهد بامدت زمان ۵ و ۱۰ دقیقه (۰ درصد) می باشد.

طول لپه:

با توجه به شکل [۱] نمودار [b] بیشترین طول لپه مربوط به غلظت ۱/۵ درصد به مدت زمان ۵ دقیقه (۴/۶۵) و بعد از آن به ترتیب غلظت ۳ درصد با مدت زمان ۱۰ دقیقه (۴/۲۵)، غلظت ۳ درصد به مدت ۵ دقیقه (۴/۳)، غلظت ۱/۵ درصد به مدت زمان ۱۰ دقیقه (۶۲/۲) و کمترین طول لپه مربوط به تیمار شاهد با مدت زمان ۵ و ۱۰ دقیقه می باشد.

قطر لپه:

با توجه به شکل [۱] نمودار [c] بیشترین اندازه طول لپه مربوط به غلظت ۳ درصد به مدت زمان ۵ دقیقه (۲۸/۳) بعد از آن غلظت ۳ درصد ا مدت زمان ۱۰ (۳/۰۲)، غلظت ۵/۱ با مدت زمان ۵ و ۱۰ دقیقه تفاوت چندانی دیده نشده است (۱/۵) و کمترین اندازه قطر لپه در تیمار شاهد با مدت زمان ۵ و ۱۰ مشاهده شد.

تعداد ریشه:

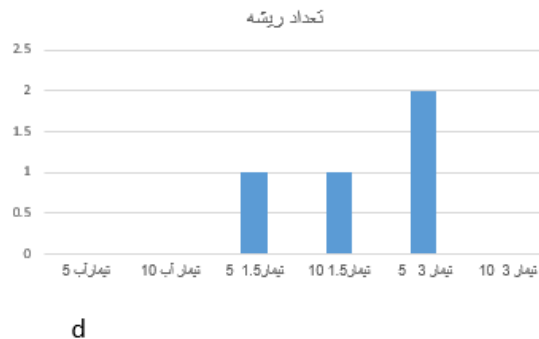
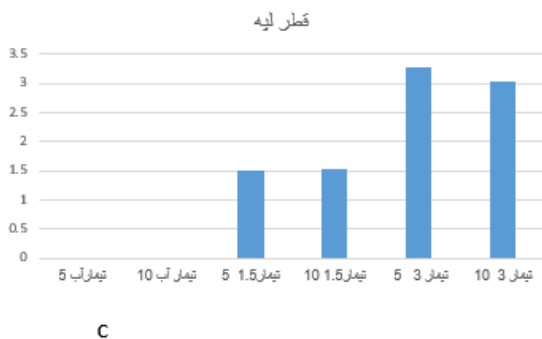
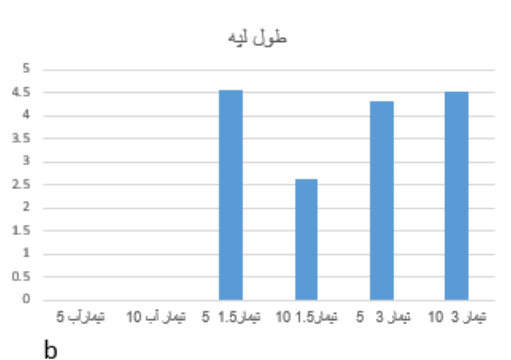
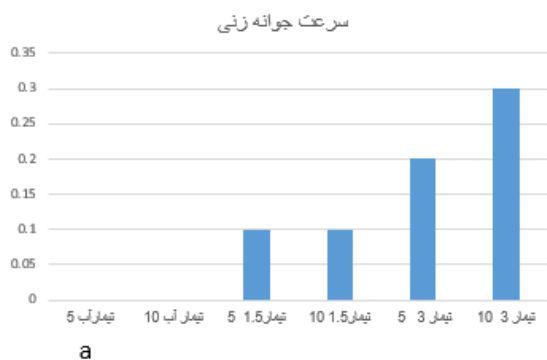


با توجه به شکل [۱] نمودار [d] بیشترین تعداد ریشه مربوط به غلظت ۳ با مدت زمان ۲ دقیقه به تعداد (۲ عدد)، در غلظت ۱/۵ در هر دو مدت زمان ۵ و ۱۰ هر کدام به تعداد (۱ عدد) و کمترین تعداد ریشه (۰ عدد) که مربوط به غلظت ۳ با مدت زمان ۱۰ و تیمار شاهد با دو مدت زمان ۵ و ۱۰ دقیقه بوده است.
 طول ریشه:

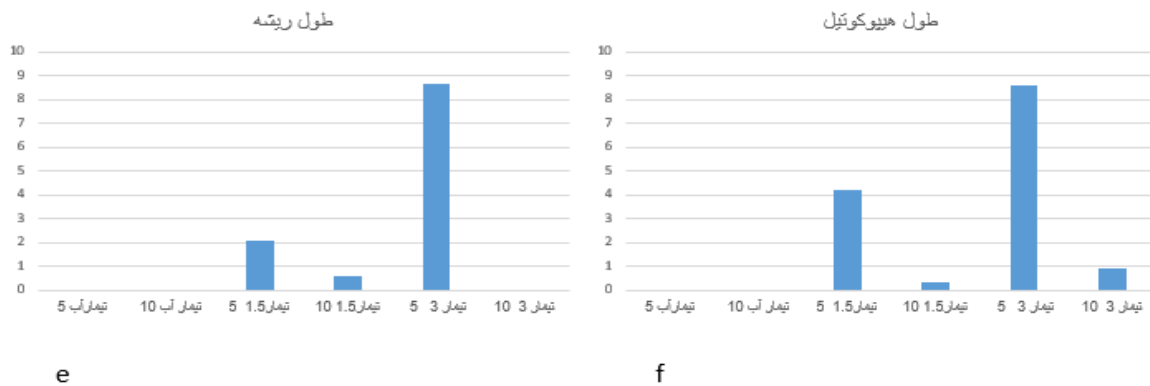
با توجه به شکل [۲] نمودار [e] بیشترین اندازه ریشه متعلق به غلظت ۳ به مدت زمان ۵ (۸/۳۶) و بعد از آن به ترتیب تیمار ۱/۵ به مدت زمان ۵ دقیقه (۲/۱) و کمترین اندازه طول ریشه مربوط به غلظت ۳ با مدت زمان ۱۰ و تیمار شاهد با دو مدت زمان ۵ و ۱۰ دقیقه می‌باشد.

طول هیپوکوتیل و اپی کوتیل:

با توجه به شکل [۲] نمودار [f] بیشترین اندازه طول هیپوکوتیل در غلظت ۳ به مدت ۵ دقیقه (۸/۶) و بعد از آن به ترتیب غلظت ۱/۵ به مدت ۵ دقیقه (۴/۲)، غلظت ۳ به مدت ۱۰ دقیقه (۰/۹)، غلظت ۱/۵ به مدت ۱۰ دقیقه (۰/۳) و کمترین طول هیپوکوتیل تیمار شاهد با دو مدت زمان ۵ و ۱۰ دقیقه می‌باشد.



شکل [۱]: نمودار [a] مربوط به سرعت جوانه زنی بذور گزنه تحت دو تیمار غلظت و زمان، نمودار [b] مربوط به طول لپه بذور گزنه تحت دو تیمار غلظت و زمان، نمودار [c] مربوط به قطر لپه بذور گزنه تحت دو تیمار غلظت و زمان، نمودار [e] گراف مربوط به تعداد ریشه بذور گزنه تحت دو تیمار غلظت و زمان



شکل [۲]: نمودار [e] مربوط به طول ریشه بذور گزنه تحت دو تیمار غلظت و زمان، نمودار [f] گراف مربوط به طول هیپوکوتیل گزنه تحت دو تیمار غلظت و زمان

نتیجه گیری:

با توجه به اینکه جمع اوری بذور از گیاهان غیر اهلی دارویی معمولاً از مناطق پراکنش گیاه صورت می‌گیرد و در زمان کشت و کار احتمال آلودگی مختلف بر روی بذور وجود دارد. لذا نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که جهت تهیه نشا مطلوب و کشت ارگانیک گزنه، تیمار مطلوب غلظت و مدت ضد عفونی، قابلیت کاهش آلودگی به قارچ و باکتری در محیط کشت را دارند و بیشترین قطر لپه، اندازه هیپوکوتیل، تعداد ریشه و طول ریشه را تیمار غلظت ۳٪ با مدت زمان ۵ دقیقه نشان داد.

منابع:

- [۱] امید بیگی، ر. ۱۳۹۲. تولید و فرآوری گیاهان دارویی جلد چهارم. انتشارات آستان قدس رضوی، ص: ۴۲۳.
- [۲] خیاط، م، قرینه، م. ج، ساجدی، ن. ع. ۱۳۹۰. بررسی اثر غلظت هیپوکلری تسدیم و مدت زمان ضدعفونی کردن بذر بر خصوصیات جوانه، یافته های نوین کشاورزی، سال پنجم، شماره ۴.
- [۳] قرینه، م. ج. ۱۳۸۲. پایا نامه دکتری. بررسی اثر اکوفیزیولوژی تنش کمبود آب و مراحل رسیدگی بر روی کیفیت بذر ارقام دوروم و نان. دانشگاه تبریز، دانشکده کشاورزی، ۲۲۳ صفحه
- [4] Babadoost, M., Derie, M. L. and Gabrilson, R. L. 1996. Efficacy of sodium hypochlorite treatments for control of *Xanthomonas campestris p.v campestris* in Brassica seeds. *Journal of Seed Sci & Technology*. 14: 4-15
- [5] Bnouham M, Merhfour FZ, Ziyat A, et al. 2003. Antihyper glycemic activity of the aqueous extract of *Urticadioica*. *Fitotrapia*; 47(7): 677-81.
- [6] Carisse, O., Ouimet, A. and Toussaint, V. 2000. Evaluation of the effect of seed treatment, bactericides, and cultivars on bacterial leaf spot of lettuce caused by *Xanthomonas camprstris p.v. vitians*. *Journal of Plant Disease*. 84: 295-299.
- Carrubba, A., La Torre, R., and Matranga, A. 2002. Cultivation trials of coriander (*Coriandrum*
- [7] *sativum* L.) in a semi-arid Mediterranean environment. In *International Conference on Medicinal and Aromatic Plants. Possibilities and Limitations of Medicinal and Aromatic Plant*, 576: 237-242.
- [8] Cuero, R. G., Smith, J. E. and Lacey J. 1986. The influence of gamma irradiation and sodium hypochlorite sterilization on maize seed micro flora and germination. *Journal of Food Microbiology*. 3: 107- 113
- [9] Kavalali, G., Tuncel, H., Goksel, S., and Hatemi, H.H. 2003. Hypoglycemic activity of *Urtica pilulifera* in streptozotocin-diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 84(2-3): 241-245.
- [10] kavalali G, Tuncel H, Goksel S, et al 2003. Hypoglycemic y of *urtica pilulifera* in streptozotocin diabetic rats. *activit Ethnopharmacol*; 84(2-3): 241-45.
- [11] Sauer, D. B. and Burroughs R. 1986. Disinfection of seed surfaces with sodium hypochlorite. *Journal of Phytopathology*. 76: 745-749.

Evaluation of germination properties of nettle seed (*Urticaceae dioica*) under concentration and disinfection time

Fatemeh davatgar¹

1. MSc Student, Horticultural Sciences field medicinal plants engineering, Agriculture University and Natural Resources of Sari

Email: fatemedavatgar@gmail.com

Hossein moradi^{2*}

2. Assistant Professor of Horticultural Sciences Agriculture University and Natural Resources of Sari

Email: moradiho@yahoo.com

Abstract:

Nettle (*Urtica dioica*) is a member of Urticaceae family and It is a perennial and Dioecious, contains a large number of secondary metabolite substance. The first step in the domestication and organic cultivation of the medicinal plant is the production of uniform and abundant seedlings. This study was done to obtain a suitable method to determine the best time and concentration of sodium hypochloride solution for surface contamination under in vitro culture. The experiment was conducted as a factorial experiment in a completely randomized design with three replications. Seed treatment was applied at different concentrations of sodium hypochloride solution and at different times in Murashige and Skoog (MS) medium. Traits such as germination rate, cotyledon length, cotyledon diameter, root number, root length, and hypocotyl length of each treatment were evaluated after 25 days. Since the seeds of wildtype plants were collected in the plant distribution areas, The results showed that in order to provide optimum seedlings and organic nettle cultivation, optimum concentration and duration of disinfection treatment, can reduce fungal and bacterial contamination in the culture medium. The highest cotyledon diameter, hypocotyl size, root number and root length were observed at 3% concentration for 5 min.

key words: Seed, Disinfection, nettle, sodium hypochlorite