Archive of SID

"نشریه علوم و فناوری بذر ایران"
جلد نهم، شماره ۱، بهار ۹۹
(ص ۱۳-۱)

Iranian Journal of
Seed Science and Technology
Vol.: 9, No.: 1, Spring 2020
(pp: 1-13)
DOI: 10.22034/ijsst.2020.114533.1109

تأثیر بیوپرایمینگ بذر بر برخی شاخص‌های جوانه‌زنی انیسون (*Pimpinella anisum* L.) توده فریدن تحت تنش خشکی

عاطفه حسینی[۱]، امین صالحی[۲*]، علی مرادی[۳] و حمیدرضا بلوچی[۴]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه زراعت دانشگاه یاسوج
۲.استادیار گروه زراعت دانشگاه یاسوج
۳. استادیار گروه زراعت دانشگاه یاسوج
۴. دانشیار گروه زراعت دانشگاه یاسوج

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۴/۱۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۹/۱۲)

چکیده

این پژوهش به‌منظور بررسی تأثیر بیوپرایمینگ بذر بر برخی شاخص‌های جوانه‌زنی انیسون تحت تنش خشکی، در آزمایشگاه ژنتیک دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج در سال‌های ۹۵-۱۳۹۴ انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل دو عاملی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار ۳۰ بذری طراحی شد، عامل اول بیوپرایمینگ با ۹ سطح شامل بیوپرایمینگ بذر (بدون بیوپرایمینگ، ۴ سویه باکتری *Pseudomonas fluorescen* (CHA0، (1) P.F، (2) P.F، (16) B و (52) B) و ۴ سویه قارچ *Trichoderma harzianum* (T29، T32، T43، T36 و T39)؛ و عامل دوم پتانسیل اسمزی تنش خشکی در سه سطح (صفر، ۳- و ۶- بار) بود. صفات ارزیابی شده در این پژوهش شامل درصدجوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی،طول گیاهچه،وزن خشک، شاخص‌های بنیه گیاهچه (وزنی و طولی) و ضریب آلومتریک بود. نتایج آزمایش نشان داد که با افزایش تنش خشکی شاخص‌های جوانه‌زنی بذر کاهش یافتند و بیوپرایمینگ بذر سبب بهبود این شاخص‌ها نسبت به بذور پرایم نشده شد به طوری که در هر سطح تنش خشکی، قارچ T36 بیشترین درصد جوانه‌زنی (۸۳/۸۸)، سرعت جوانه‌زنی (۴/۷)، شاخص طولی بنیه (۱۰)، وزن خشک گیاهچه (۸/۰۷)، شاخص وزنی بنیه (۱۵/۲۵) و بذور بدون پرایمینگ کمترین مقدار این صفات را داشت. با توجه نتایج بدست آمده، می‌توان اظهار داشت که بکارگیری تیمار بیوپرایمینگ می‌تواند تا حدودی اثرات نامطلوب ناشی از تنش خشکی را در مرحلهٔ جوانه‌زنی گیاه انیسون تعدیل کند.

کلمات کلیدی: انیسون، بیوپرایمینگ، درصد جوانه‌زنی،تنش خشکی

The effects of bio priming on some germination indices of *Pimpinella anisum* L., Faridan accession under drought stress

A. Hosseini [1], A. Salehi[2*], A. Moradi[3] and H. Balouchi[4]

1. MS.c student, Department of Agronomy, Yasouj University.
2. Assistant professor, Department of Agronomy, Yasouj University.
3. Assistant professor, Department of Agronomy, Yasouj University.
4. Associate professor, Department of Agronomy, Yasouj University.

(Received: Jul. 02, 2017 – Accepted: Dec. 03, 2017)

Abstract

In order to investigate seed bio-priming effects on some germination indices of *Pimpinella anisum* L. under drought stress, this research was done in genetic lab at Agriculture department of Yasouj University. The experiment was factorial with two factor based on CRD design in 4 replications and in each Petri dishe 30 seeds were planted. First factor was seed bio-priming with nine level (on bio-priming, 4 Bactria strain (*P.fluorescent*), *fluorescent* (CHA0), 1 (P.F), 2 (P.F), 16 (B) and 52 (B)) and 4 strain of T.*harzianum* (T29, T32, T43, T36 and T39) and second factor include osmotic potential of drought stress in 3 levels (0, -3 and -6 bar). The evaluated traits in this study included germination percentage, germination rate, seedling length, dry weight, seedling vigour index (weight and length) and alometric coefficient. The experimental results showed that with increasing drought stress, seed germination indicators decreased and seed bio-priming improved these characteristics compared to non-primed seeds, so that at each level of drought stress, T36 has the maximum germination percentage (83.88), germination rate (4.7), length vigor index (10), seedling dry weight (8.07), and weight vigor index (15.25) and not primed seeds have the lowest amount of this traits. According to the results, it can be stated that the application of bio-priming treatment can moderately reduce the adverse effects of drought stress in the germination stage of *pimpinella anisum* L.

Key words: *Pimpinella anisum* L., bio-priming, germination percentage, drought stress

* Email: aminsalehi@yu.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

گیاهان دارویی از گذشته‌های دور از منابع مهم درمان بیماری‌ها بوده و در حال حاضر نیز کاربردشان در علوم پزشکی رو به افزایش است. انیسون یا بادیان رومی (*Pimpinlla anisum* L.) از گونه‌های دارویی معطر خانواده چتریان بوده که به واسطه داشتن اسانس در دانه مورد توجه صنایع داروسازی، بهداشتی و غذایی است. جوانه زنی و استقرار اولیه گیاهچه یکی از مراحل مهم و حساس در چرخه زندگی گیاه است. این مرحله از رشد به شدت تحت تاثیر تنش های محیطی از جمله تنش خشکی می‌باشد (Ellis and Roberts, 1981). تنش خشکی یکی از عمده ترین عوامل غیر زیستی محدود کننده رشد و عملکرد محصولات زراعی در اکثر مناطق دنیا می‌باشد. تنش های محیطی مانند خشکی از طریق محدود کردن جذب آب توسط بذر، تاثیر بر فراهمی مواد ذخیره‌ای بذر و یا با ایجاد اختلال در نقش ترکیبات ساختاری و تولید پروتئینها در جنین در حال رشد، در عمل جوانه‌زنی اختلال ایجاد می‌کنند (Voigt *et al*., 2009). همچنین تنش خشکی می‌تواند باعث کاهش ترشح هورمون‌ها و آنزیم‌ها و در نتیجه تجزیه کندتر مواد غذایی از بافت‌های ذخیره‌ای و بنابراین انتقال آن به محور جنینی شود که خود سبب کاهش درصدجوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و بنابراین رشد گیاهچه می‌شود (Hoseyni and rezvani moghadam, 2009). برومند زاده و کوچکی (Booroomand zade and Koochaki, 2009) در آزمایشی بر روی سه گیاه دارویی زنیان، رازیانه و شوید گزارش کردند که با افزایش تنش خشکی، درصد و سرعت جوانه‌زنی و نیز وزن خشک، طول ریشه چه و ساقه چه کاهش می‌یابد. استفن و همکاران (Stephanie *et al*., 2005) در بررسی روی مریم گلی گزارش کردند که تنش خشکی سرعت جوانه زنی، طول ریشه و ساقه را کاهش داد. تنش های محیطی علاوه بر اینکه سبب کاهش در شاخص‌های جوانه زنی می شوند، در روند مصرف مواد ذخیره‌ای و کاهش در وزن خشک گیاهچه نیز اثر گذار است. پیش تیمار بذر یک استراتژی برای افزایش درصد، سرعت و یکنواختی جوانه زنی و سبز شدن بذر تحت شرایط نامساعد محیطی می باشد. تحت شرایط نامساعد استفاده از پیش تیمار بذرها با استفاده از محلول‌های نمکی، پتانسیل‌های متفاوت اسمزی، استفاده از هورمون‌ها و هیدرو پرایمینگ می‌تواند مقاومت در برابر تنش، در گیاهان را افزایش دهد (Ansari *et al*., 2012). یکی از تکنیک‌های ساده‌ای که باعث بهبود کیفیت فیزیولوژیکی بذر، استقرار گیاهچه‌ها و بالا بردن دامنه جوانه‌زنی بذرها در شرایط محیطی تنش زا از قبیل تنش خشکی می شود، پرایمینگ است. یکی از انواع پرایم، استفاده از میکراورگانیسم های مفید یا عوامل کنترل بیولوژیکی در ریشه یا بذر است که بهبود رشد گیاه یا کنترل بیماری‌ها را از طریق مکانیسم‌های مختلف شامل تولید هورمون‌های گیاهی، آنتی‌بیوتیک‌ها یا آنزیم‌ها فراهم می‌کند (Whipps. 2008). نوماوو و همکاران (Noumavo *et al*., 2013) با مطالعه جوانه‌زنی بذر ذرت دریافتند که بیشترین درصد جوانه زنی و شاخص بنیه در تلقیح سودوموناس فلورسنس می باشد. در آزمایشی تاثیر مثبت بیوپرایمینگ با باکتری‌ها و قارچ‌های محرک رشدی چون آزوسپریلیوم، فسفوباکتریا و قارچ مایکورایزا بر بهبود درصد جوانه زنی، قوه نامیه بذر و طول اولیه گیاهچه در گیاه کنجد مشخص گردید (Suma *et al*., 2014). تیمار بذور ذرت با باکتری‌های محرک رشد درصد جوانه‌زنی گیاه ذرت را ۲۰ درصد افزایش داد و سبب افزایش معنی دار وزن خشک و وزن تر ساقه‌چه و ریشه چه به میزان ۷ درصد شد (Bakonyi *et al*., 2013). با توجه به قرار گرفتن کشورمان در منطقه خشک و نیمه خشک و اهمیت شناخت گیاهان دارویی مقاوم به خشکی و همچنین کاربرد گیاه دارویی انیسون این آزمایش با هدف تعیین تأثیر بیوپرایمینگ بر مؤلفه های جوانه زنی بذر گیاه دارویی انیسون در شرایط بهینه و تنش خشکی انجام گرفت.

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روش‌ها

این پژوهش به منظور بررسی تأثیر بیوپرایمینگ بر برخی شاخص های جوانه زنی انیسون تحت تنش خشکی، در آزمایشگاه ژنتیک دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج در سال‌های ۹۵-۱۳۹۴ انجام شد. آزمایش به‌صورت آزمایش فاکتوریل دو عاملی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار ۳۰ بذری که فاکتور اول بیوپرایمینگ با ۹ سطح شامل شاهد پرایم نشده و بیوپرایم با ۴ سویه باکتری *Pseudomonas fluorescen* شامل (CHA0، (1) P.F، (2) P.F، (16) B و (52) B) و بیوپرایم با ۴ سویه قارچ *Trichoderma harzianum* شامل(T29، T32، T43، T36 و T39)؛ و فاکتور دوم پتانسیل اسمزی تنش خشکی در سه سطح (صفر، ۳- و ۶- بار) بود. جهت اعمال تنش خشکی از پلی اتیلن گلایکول ۶۰۰۰ با روش میشل و کافمن (۱۹۷۳) استفاده شد.

تهیه سوسپانسیون قارچی و باکتریایی

ابتدا محیط کشت PDA در داخل پتری تهیه گردید سپس با استفاده از لوپ پرگنه های سویه‌های قارچ به صورت زیگزاگی روی محیط کشت PDA کشت داده شد و سپس درون انکوباتور (مدل Parsian TEB) در دمای ۲۷ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. پس از رشد قارچ و اسپوردهی فراوان به مدت ۱۴ روز، اسپورها به داخل ارلن سترون ریخته شدند. سوسپانسیون قارچ با استفاده از لام هموسیتومتر (جهت شمارش اسپور) با غلظت 10^7 با آب مقطر سترون تهیه شد. جدایه‌های باکتری به مدت ۲۴-۴۸ ساعت درون انکوباتور با دمای ۲۶-۲۸ درجه سانتیگراد کشت شدند. سوسپانسیون باکتریایی با تراکم مایه تلقیح 10^8 واحد تشکیل‌دهنده کلونی بر میلی لیتربا استفاده از دستگاه اسپکتوفوتومتر، میزان جذب آن در طول موج ۶۰۰ نانومتر روی ۰/۵ تنظیم و تهیه شد.

بذور انیسون با محلول پنج درصد هیپوکلریت سدیم به مدت دو دقیقه استریل شد، سپس بذور استریل شده به مدت یک ساعت در دمای اتاق (۲۵-۲۰ درجه سلسیوس)، در آب مقطر (برای تیمار شاهد) یا سوسپانسیون باکتریایی و قارچی (برای تیمارهای تلقیحی) قرار داده شدند. پس از بدست آوردن غلظت‌های تعیین شده باکتری سودوموناس و قارچ تریکودرما و سوسپانسیون آنها بذرها به مدت ۳ ساعت در محیط تاریک در تیمار تلقیحی قرار داده شدند. به منظور چسبیدن سوسپانسیون به بذرها از صمغ عربی ۰/۵ درصد استفاده شد.

آزمون جوانه‌زنی استاندارد و صفات مورد ارزیابی

در آزمون جوانه‌زنی استاندارد ۲۱ روز بذر انیسون، نمونه‌های ۳۰ تایی بذر تهیه شده از شرکت پاکان بذر تولید سال ۹۳ درون پتری دیش های ۹ سانتی‌متری روی کاغذ صافی کشت شدند. مقدار ۵ میلی لیترآب مقطر جهت تیمار شاهد و ۵ میلی‌لیتر محلول اسمزی جهت اعمال سطوح تنش خشکی (رابطه ۱) به هر پتری دیش اضافه شد و سپس در دمای متناوب ۳۰-۲۰ درجه سلسیوس (۸ ساعت در دمای ۲۰ درجه سلسیوس و ۱۶ ساعت در دمای ۳۰ درجه سلسیوس)، در ۴ تکرار انجام و شاخص‌های مرتبط با جوانه‌زنی محاسبه شد (ایستا، ۲۰۱۰) بدین منظور بذرهای تلقیح شده و شاهد بلافاصله درون پتری دیش‌های ۹۰ میلی‌متری کشت شد و طی آزمون جوانه‌زنی استاندارد، تعداد بذور جوانه‌زده (معیار جوانه زنی خروج ریشه چه به میزان ۲ میلی‌متر) به صورت روزانه شمارش گردید. در نهایت، از هر پتری دیش ۱۰ گیاهچه عادی به صورت تصادفی انتخاب و وزن خشک گیاهچه و طول اندازه گیری شد. برای اندازه گیری وزن خشک گیاهچه ها،گیاهچه ها درون پاکت قرار داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در آون (در دمای ۷۰ درجه سلسیوس) خشک و سپس با ترازوی دقیق (دقت ۰/۰۰۰۱ گرم) وزن شدند. ضریب آلومتریک نیز با تقسیم طول ریشه چه به ساقه چه محاسبه گردید. در پایان آزمایش، درصد جوانه‌زنی و شاخص‌های مرتبط با جوانه‌زنی با استفاده از روابط زیر محاسبه شدند.

رابطه ۱

$$\Psi_s = -(1.8\times10^{-2})\,C - (1.8\times10^{-4})\,C^2 + (2.67\times10^{-4})\,CT + (8.39\times10^{-7})\,C^2$$

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس اثرات تیمار بیوپرایمینگ و تنش خشکی نشان داد که اثر اصلی بیوپرایمینگ و تنش خشکی برای کلیه شاخص‌های جوانه‌زنی مورد بررسی شامل درصدجوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول گیاهچه، وزن خشک گیاهچه، شاخص بنیه (طولی و وزنی) درسطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شدند. اثر متقابل دوگانه تیمار بیوپرایمینگ و سطح تنش برای کلیه صفات در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار شدند (جدول ۱). با توجه به معنی دار شدن اثرات متقابل دوگانه بیوپرایمینگ و تنش خشکی برای شاخص جوانه‌زنی بذر انیسون برش‌دهی برهم‌کنش اثر تیمارهای بیوپرایمینگ در هر سطح تنش خشکی انجام شد (جدول ۱). نتایج تجزیه واریانس برش‌دهی نشان داد که برهم‌کنش تیمار بیوپرایمینگ در هر سطح تنش برای کلیه شاخص های جوانه‌زنی در سطح احتمال ۱درصد معنی‌دار شد (جدول ۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات اندازه‌گیری شده در آزمایش

Table 1- The analysis of variance of measured traits in experiment

منابع تغیرات S.O.V	درجه آزادی d.f	درصد جوانه‌زنی Germination percent	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	طول گیاهچه Seedling length	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight	شاخص طولی بنیه Length vigor index	شاخص وزنی بنیه Weight vigor index	ضریب آلومتریک Allometric coefficient
بیوپرایمینگ (A) Biopriming	8	666.53**	6.49**	47.07**	46.86**	45.57**	48.27**	0.16**
تنش خشکی(B) Drought stress	2	3204.42**	9.49**	42.54**	251.08**	68.91**	272.69**	0.1 ns
A×B	16	26.64*	0.25**	1.24**	2.37**	1.90**	3.49**	0.08**
خطا Error	81	14.67	0.11	0.10	0.40	0.12	0.34	0.01
C.V	-	5.32	12.54	5.41	7.64	8.10	9.4	10.09

ns، ** و *، به ترتیب نشان‌دهنده‌ی غیر معنی دار و معنی دار در سطح آماری ۱ و ۵ درصد

ns, * and **: Not-significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

جدول ۲- تجزیه واریانس برش‌دهی تنش خشکی برای برخی شاخص‌های جوانه‌زنی بذر انیسون.

Table 2- Analysis of variance of drought stress for some indices of seed germination of anise.

تنش خشکی Drought stress	درجه آزادی d.f	درصد جوانه‌زنی Germination percent	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	طول گیاهچه Seedling length	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight	شاخص طولی بنیه Length vigor index	شاخص وزنی بنیه Weight vigor index	ضریب آلومتریک Allometric coefficient
0	8	363.73**	3.65**	21.93**	25.69**	27.12**	34.71**	0.08**
-3	8	172.76**	1.63**	18.24**	17.14**	14.98**	14.02**	0.09**
-6	8	183.83**	1.71**	9.37**	8.76**	7.46**	6.53**	0.14**

** و *: به ترتیب نشان‌دهنده‌ی معنی دار در سطح آماری ۱ و ۵ درصد

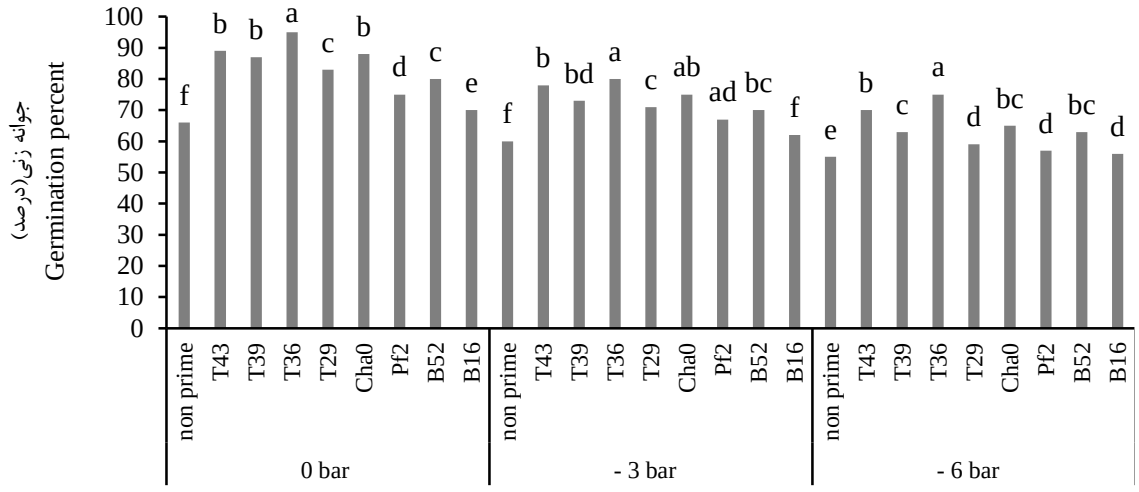
** and *: significant at 1% & 5% respectively.

www.SID.ir

Archive of SID

درصد جوانه‌زنی

مقایسه میانگین برهم کنش تیمار بیوپرایمینگ و سطح تنش خشکی بر درصد جوانه زنی بذور انیسون نشان داد که اغلب تیمارهای بیوپرایمینگ باعث افزایش معنی‌داری جوانه زنی در مقایسه با بذور پرایم نشده در هر سطح تنش شدند (شکل۱). به طوری که درصد جوانه زنی بذور پرایم نشده در سطح تنش صفر درصد از ۶۶ درصد به ۶۰ درصد در تنش ۳- بار و ۵۵ درصد در تنش ۶- بار رسید. تیمار قارچی T36 جوانه زنی را تا ۳۰ درصد در سطح تنش صفر، ۲۰ درصد در سطح تنش ۳- بار و ۲۱ درصد در سطح تنش ۶- بار نسبت به بذور پرایم نشده افزایش دهند همچنین در بذور پرایم شده با باکتری، تیمار باکتری CHA0 جوانه زنی را تا ۲۲ درصد در سطح تنش صفر، ۱۵ درصد در سطح تنش ۳- بار و ۱۰ درصد در سطح تنش ۶- بار نسبت به بذور پرایم نشده افزایش دادند (شکل۱).



شکل ۱ - مقایسه میانگین برش‌دهی اثر بیوپرایمینگ در هر سطح تنش خشکی برای درصد جوانه‌زنی بذر انیسون

Figure 1 - Mean comparison of the interaction of biopriming effect at each level of drought stress for seed germination percentage of anise

کاهش جوانه‌زنی در شرایط تنش رطوبتی به کاهش رطوبت سلول‌ها و در نتیجه کاهش تولید هورمون‌های محرک جوانه‌زنی و هورمون‌های هیدرولیز کننده مواد ذخیره‌ای بذر مانند آمیلاز و نیز اختلال در عمل ترکیبات ساختاری بذر نسبت داده شده است (Abbassi and Koocheki, 2008). حال به نظر می‌رسد که افزایش جوانه زنی به دلیل تأثیر باکتری‌ها در افزایش تولید برخی هورمون ها به ویژه جیبرلین باشد، زیرا این هورمون با فعال کردن برخی آنزیم ها مانند آمیلاز که در سوخت و ساز نشاسته دخالت دارند، جوانه زنی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Kaymak *et al*., 2009). باکتری‌های محرک رشد وقتی به سطح بذرها می‌چسبند در پاسخ به ترشح اسیدهای آمینه ترشح شده در بذر، اسید ایندول استیک سنتز می‌کنند که این اسید باعث تحریک سلول های گیاهی و طویل شدن آنها می شود و در نتیجه می تواند بر سرعت و درصد جوانه زنی بذرها موثر باشند. برزگر و رحمانی (Barzegar and Rahmani, 2004) گزارش کردند که از لحاظ درصد جوانه زنی در بذر زوفا، بین سطوح مختلف تنش خشکی تفاوت معنی داری وجود داشت و با افزایش شدت تنش مقدار این صفت کاهش یافت. با افزایش در سطوح تنش خشکی پتانسیل آب منفی‌تر شده و جذب آب توسط بذر مشکل می شود و

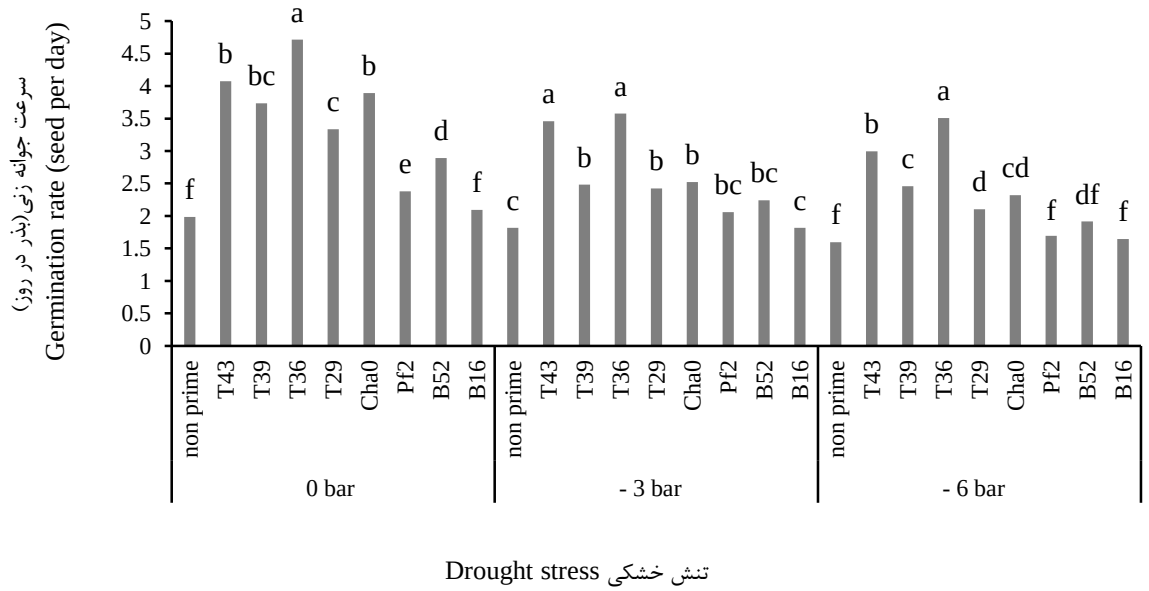
www.SID.ir

Archive of SID

کاهش در جذب آب سبب کاهش در جوانه‌زنی می‌شود. کاهش پتانسیل آب سبب بروز اختلال در جوانه‌زنی بذر اغلب گیاهان شده و منجر به عدم استقرار گیاهچه و کاهش عملکرد می شود. تنش خشکی با محدود کردن جذب آب توسط بذر، تاثیر بر حرکت و انتقال ذخایر بذر و با تاثیر مستقیم بر ساختمان آلی و سنتز پروتئین جنین، جوانه‌زنی را تحت تاثیر قرار می‌دهد. سلطانی و همکاران (Soltani *et al.*, 2006) بیان کردند که در شرایط تنش خشکی، پیش تیمار بذر موجب کاهش مدت زمان مواجهه با عوامل محدود کننده تنش خشکی می‌گردد و بذر به علت آمادگی بیشتر برای خروج ریشه چه، کمتر تحت تاثیر تنش قرار خواهد گرفت.

سرعت جوانه‌زنی

نتایج مقایسه میانگین تیمار بیوپرایمینگ در هر سطح تنش خشکی برای سرعت جوانه‌زنی بذور انیسون نشان داد که با افزایش در سطح تنش خشکی، سرعت جوانه زنی کاهش یافت اما در این شرایط تیمارهای بیوپرایمینگ باعث افزایش معنی‌داری در سرعت جوانه‌زنی در مقایسه با بذور پرایم نشده در سطوح مختلف تنش شدند (شکل ۲). در حالت صفر بار، بیشترین سرعت جوانه‌زنی (۴/۷۱ بذر در روز) مربوط به قارچ T36 بود که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت و کمترین سرعت جوانه‌زنی (۱/۹۸ بذر در روز) به تیمار پرایم نشده اختصاص داشت. در تنش ۳- بار، قارچ T36 بیشترین سرعت جوانه زنی (۳/۵۷ بذر در روز) را دارا بود که با قارچ T43 اختلاف معنی‌داری نداشت و کمترین سرعت جوانه‌زنی (۱/۸۸ بذر در روز) از تیمار بدون تلقیح بدست آمد. در تنش ۶- بار، بیشترین سرعت جوانه‌زنی (۳/۵ بذر در روز) مربوط به تیمار T36 بود که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت که سرعت جوانه‌زنی را ۵۰ درصد نسبت به تیمار پرایم نشده افزایش دهد (شکل ۲).



شکل ۲- مقایسه میانگین برش‌دهی اثر بیوپرایمینگ در هر سطح تنش خشکی برای سرعت جوانه‌زنی بذر انیسون

Figure 2 - Mean comparison of the interaction of biopriming effect at each level of drought stress for seed germination rate of anise

اگر جذب آب توسط بذر مختل شود، جذب آب به کندی صورت گیرد و فعالیت‌های متابولیکی جوانه‌زنی به آرامی صورت می گیرد، در نتیجه مدت زمانی که ریشه‌چه از بذر خارج می‌شود طولانیتر شده و از این رو سرعت

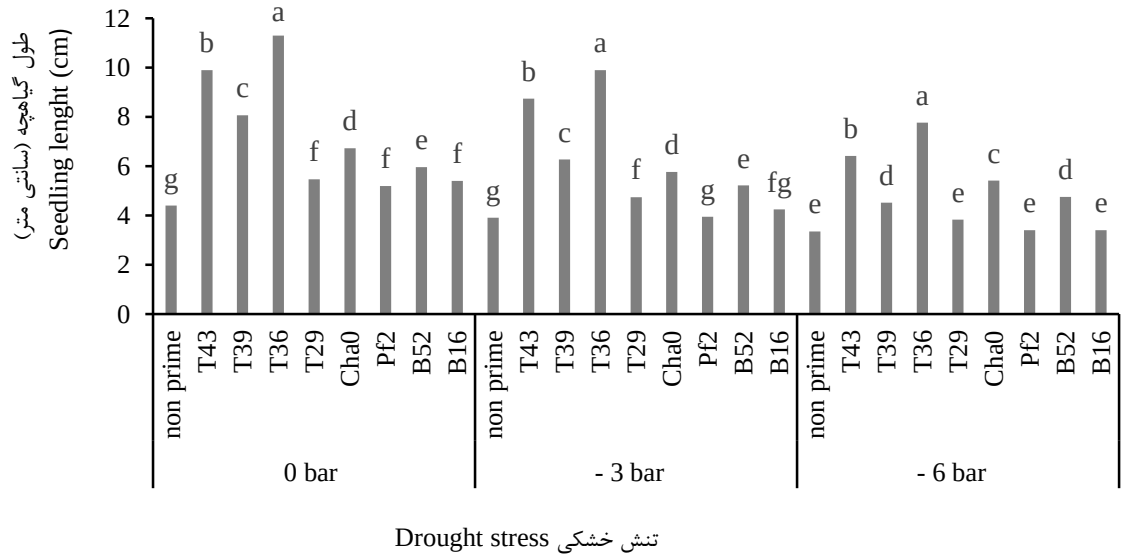
www.SID.ir

Archive of SID

جوانه زنی کاهش می‌یابد. این حالت در زمان بروز تنش خشکی که دسترسی بذر به آب کاهش می یابد، اتفاق می‌افتد و از این طریق جوانه‌زنی تحت تاثیر قرار می گیرد (Marchner. 1995). علت برتری بذرهای پیش تیمار شده نسبت به پیش تیمار نشده، در گونه های مختلف گیاهی را می توان چنین استنباط نمود که اولاً پیش تیمار بذر با توسعه فاز دو از سه فاز جوانه‌زنی یعنی از طریق کوتاه کردن مدت زمان سوخت و ساز، باعث تسریع جوانه زنی می شود و ثانیاً در طی پیش تیمار بذر، سنتز پروتئین و DNA افزایش یافته و همچنین بر فسفولیپیدهای سلول غشایی در جنین تاثیرگذار می‌باشد (Nelson, 2000).

طول گیاهچه

طول گیاهچه صفتی وابسته به طول ریشه چه و ساقه چه است لذا واکنشی مشابه این دو صفت به تنش خشکی و بیوپرایمینگ داشت (شکل ۳). مقایسه میانگین اثر بیوپرایمینگ در هر سطح تنش خشکی نشان داد که در بذور بیوپرایم شده در هر سه سطح تنش خشکی، بیشترین طول گیاهچه به تیمار قارچی T36 اختصاص یافت به طوری که توانست طول گیاهچه را از ۴/۴، ۳/۸ و ۳/۳ سانتیمتر به ترتیب در سطوح تنش صفر، ۳- و ۶- بار در بذور بذور پرایم نشده به ۶/۷، ۵/۷ و ۵/۴ سانتیمتر افزایش دهد. احتمالا دلیل کاهش طول گیاهچه تحت تنش خشکی می تواند کاهش در تقسیمات سلولی، کاهش جذب آب و کاهش در رشد طولی سلول باشد که با استفاده از بیوپرایمینگ اثرات منفی تنش کاهش خواهد یافت. کاهش رشد گیاهچه ممکن است به دلیل کاهش سرعت رشد سلول های گیاهی و بهره وری از فرآیندهای فیزیولوژیکی باشد که نیازمند آماس بالاتر سلول ها هستند. طول ساقه چه نیز ممکن است در اثر کاهش یا عدم انتقال مواد غذایی از بافت‌های ذخیره‌ای بذر به جنین کاهش یابد که سرانجام منجر به نقصان رشد گیاهچه می‌شود. علاوه بر این، کاهش جذب آب توسط بذر در شرایط تنش خشکی باعث کاهش ترشح هورمون ها و آنزیم ها و در نتیجه آن اختلال در رشد گیاهچه (ریشه‌چه و ساقه‌چه) می گردد (Hoseyni and rezvani moghadam 2009).



شکل ۳ - مقایسه میانگین برهم‌کنش اثر بیوپرایمینگ در هر سطح تنش خشکی برای طول گیاهچه بذر انیسون

Figure 3- Mean comparison of the interaction of biopriming effect at each level of drought stress for Seedling length of anise

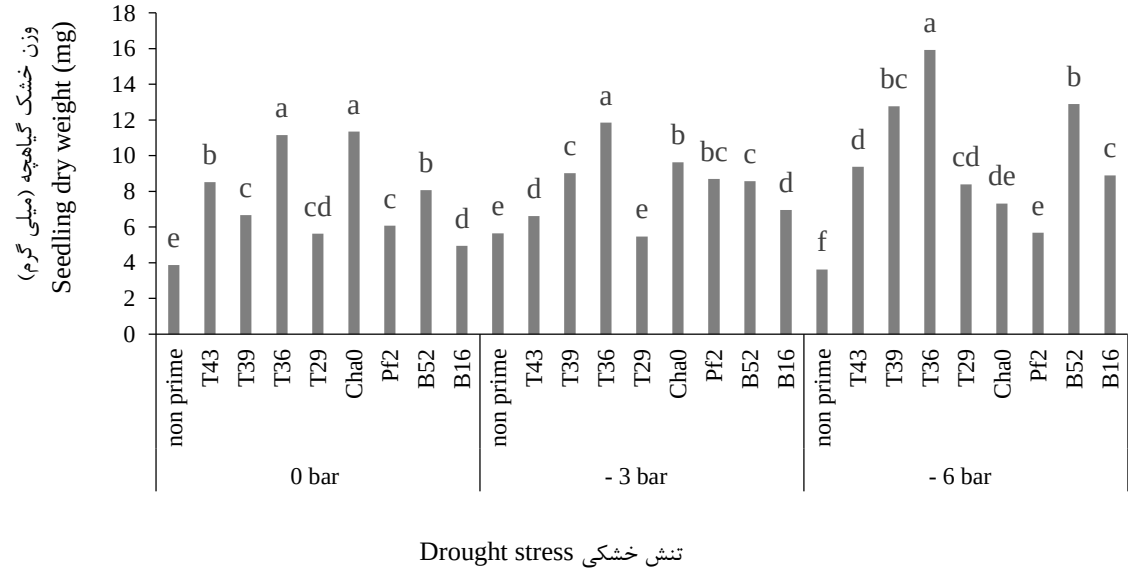
www.SID.ir

Archive of SID

وزن خشک گیاهچه

نتایج مقایسه میانگین برهم کنش تیمار بیوپرایمینگ در هر سطح تنش خشکی برای وزن خشک گیاهچه نشان داد که تنش خشکی وزن خشک گیاهچه را به طور معنی داری کاهش داد (جدول ۱). در سطح تنش صفر بیشترین وزن خشک گیاهچه با تیمار T36 حاصل شد به‌طوری‌که توانست وزن خشک گیاهچه را ۶/۴ میلی‌گرم نسبت به بذور پرایم نشده (۸/۰۷) افزایش دهد. در تیمارهای باکتریایی هم تیمارCHA0 نیز توانست وزن خشک گیاهچه را ۴/۳ و ۳/۷ میلی‌گرم نسبت به بذور پرایم نشده در سطوح تنش ۳- و ۶- بار افزایش دهد . (شکل ۴). کاهش وزن خشک گیاهچه در اثر تنش خشکی به علت کاهش میزان تخلیه ذخایر بذر است. در شرایط عدم تنش کارایی بالاتر است و مقدار بیشتری صرف تولید بافت می‌شود اما با افزایش تنش کارایی تبدیل ذخایر مورد استفاده صرف تنفس نگهداری می‌شود (Soltani *et al*., 2006).

افزایش مولفه‌های رشد گیاهچه از جمله وزن خشک آن در تلقیح با محرک‌های رشد را می توان ناشی از این دانست که مقدار زیادی از ماده پیش ساخت اتیلن (ACC) خارج شده از بذر که در اثر تحریک ایندول استیک اسید سنتز شده از باکتری تولید می شود توسط آنزیم ACC دآمیلاز باکتری هیدرولیز می شود. هیدرولیز ACCتوسط باکتری مستقر در خارج گیاه موجب کاهش میزان ACC موجود در ریزوسفر میگردد. بنابراین به منظور حفظ تعادل بین ACC داخل و خارج از ریشه گیاه باید میزان ترشح ACC به بیرون افزایش یابد. که در نتیجه، کاهش میزان ACC در داخل گیاه منجر به کاهش مقدار اتیلن در داخل گیاه می شود و متعاقباً طویل شدن ریشه و افزایش وزن خشک را به همراه دارد (Jalili *et al*., 2009). همچنین دلیل افزایش وزن خشک گیاهچه می‌تواند به تولید هورمون اکسین و سیتوکنین در تقسیم سلولی و گسترش دیواره سلولی در گیاهچه باشد (میرشکاری و باصر، ۱۳۸۸). همبستگی مثبت و معنی‌داری بین درصد جوانه‌زنی (r =۰/۷۷**) و طول گیاهچه (r =۰/۶۶**) وجود داشت که ممکن است دلیلی برای افزایش وزن خشک گیاهچه باشد (جدول ۳). چپسرگون و همکاران (Chepsergon, *et al*., 2012) اظهار داشتند که قارچ‌های تریکودرما باعث افزایش وزن خشک گیاهچه ارزن تحت تنش خشکی نسبت به تیمار پرایم نشده شدند.



شکل ۴- مقایسه میانگین برهم‌کنش اثر بیوپرایمینگ در هر سطح تنش خشکی برای وزن خشک گیاهچه بذر انیسون.

Figure 4- Mean comparison of the interaction of biopriming effect at each level of drought stress for seedling dry weight of anise.

www.SID.ir

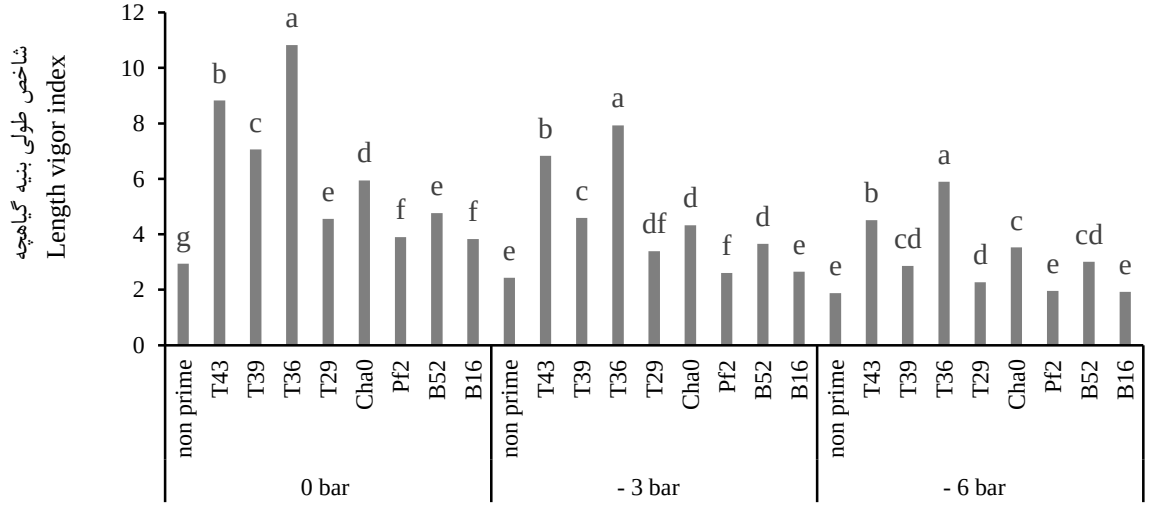
Archive of SID

شاخص طولی بنیه گیاهچه

شاخص طولی بنیه گیاهچه یک صفت وابسته به درصد جوانه‌زنی و طول گیاهچه است بنابراین واکنش آن به سطوح مختلف خشکی و تیمارهای پرایمینگ همانند این دو صفت بود (شکل۱۰). در بین تیمارهای قارچی تیمار T36 بیشترین شاخص بنیه طولی گیاهچه را کلیه سطوح تنش به خود اختصاص داد به طوری که شاخص طولی بنیه گیاهچه را از ۲/۹۳، ۲/۴۳ و ۱/۸ به ترتیب در سطوح تنش صفر، ۳- و ۶- بار در بذور پرایم نشده به ۱۰، ۷/۹ و ۵/۸ افزایش داد. در تیمار باکتریایی نیز باکتری CHA0 توانست شاخص طولی بنیه گیاهچه را از ۲/۹۳، ۲/۴۳ و ۱/۸ به ترتیب در سطوح تنش صفر، ۳- و ۶- بار در بذور پرایم نشده به ۵/۹، ۴/۳ و ۳/۵ افزایش دهد (شکل ۵).

افزایش رشد ریشه و ساقه بوته‌های گوجه‌فرنگی تحت تأثیر قارچ تریکودرما به واسطه تولید هورمون‌های رشدی از جمله ایندول استیک اسید گزارش شده است (Gravel *et al.*, 2007). نوماوو و همکاران (Noumavo *et al.*, 2013) در گیاه ذرت دریافتند که بالاترین درصد جوانه‌زنی و شاخص بنیه در تلقیح ترکیبی ریزوباکتر *P. putida* و *Pseudomonas fluorescens* مشاهده شد. افزایش درصد جوانه‌زنی و نیز رشد گیاهچه می تواند در افزایش شاخص بنیه گیاهچه (طولی) موثر باشد. همبستگی مثبت و معنی‌دار این صفت با درصد جوانه‌زنی ($r=۰/۸۸^{**}$)، طول گیاهچه ($r=۰/۹۸^{**}$)، سرعت جوانه‌زنی ($r=۰/۹۰^{**}$)، ضریب سرعت جوانه‌زنی ($r=۰/۷۴^{**}$) و منفی و معنی‌دار با صفت متوسط مدت زمان جوانه‌زنی نیز موئد این دلیل است (جدول ۳).

شاخص بنیه گیاهچه معیاری برای ارزیابی بنیه بذر است. افزایش سرعت ترمیم DNA، ساخت RNA، سنتز پروتئین، فعال‌سازی آنزیم‌ها، حذف رادیکال‌های فعال اکسیژن، افزایش انبساط سلولی و نیز پیشرفت بیشتر مراحل جوانه‌زنی بذرهای پرایم شده در مقایسه با بذرهای پرایم نشده از مهمترین دلایل بهبود بنیه بذور پرایم شده نسبت به بذور پرایم نشده ذکر شده‌اند (Hsu and Sung. 1997).



شکل ۵- مقایسه میانگین برهم‌کنش اثر بیوپرایمینگ در هر سطح تنش خشکی برای شاخص طولی بنیه گیاهچه بذر انیسون

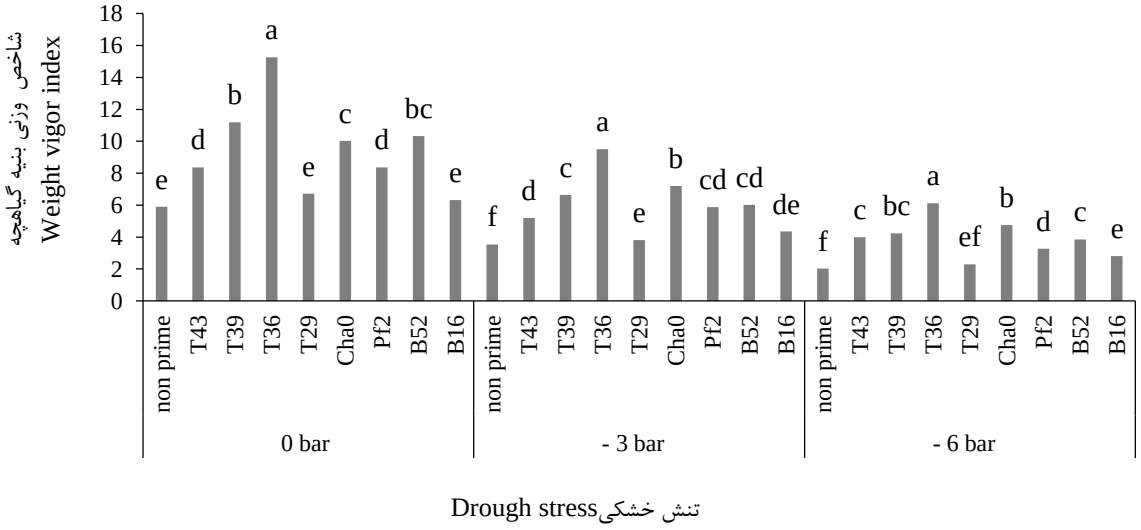
Figure 5- Mean comparison of the interaction of biopriming effect at each level of drought stress for Length vigor index of anise

www.SID.ir

Archive of SID

شاخص وزنی بنیه گیاهچه

نتایج مقایسه میانگین برهمکنش تیمارهای بیوپرایمینگ و سطوح تنش خشکی بر شاخص وزنی بنیه گیاهچه انیسون نشان داد که تیمارهای بیوپرایمینگ باعث افزایش معنی‌دار و قابل توجهی در شاخص وزنی بنیه گیاهچه در مقایسه با بذور پرایم نشده در هر سطح تنش شدند (شکل ۶). در تیمارهای قارچی تیمار T36 توانست شاخص وزنی بنیه گیاهچه را در کلیه سطوح تنش نسبت به بذور پرایم نشده به‌طور معنی‌داری افزایش دهد به طوری که بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد. این تیمار توانست شاخص وزنی بنیه گیاهچه را از ۵/۸، ۳/۵ و ۲ به ترتیب در سطوح تنش صفر، ۳- و ۶- بار در بذور پرایم نشده به ۱۵/۲۵، ۹/۵ و ۶/۱ افزایش دهد. در تیمارهای باکتریایی نیز تیمار CHA0 در تنش صفر بار بنیه گیاهچه را از ۵/۸ به ۱۰/۰۳ افزایش دهد.



شکل ۶- مقایسه میانگین برهم‌کنش اثر بیوپرایمینگ در هر سطح تنش خشکی برای شاخص وزنی بنیه گیاهچه بذر انیسون

Figure 6 - Mean comparison of the interaction of biopriming effect at each level of drought stress for weight vigor index of anise

افزایش در درصد جوانه‌زنی و رشد گیاهچه (طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و بنابراین طول گیاهچه) می‌تواند منجر به افزایش در وزن خشک گیاهچه و سرانجام شاخص بنیه گیاهچه (وزنی) شود که ممکن است دلیلی برای افزایش این صفت باشد. ماتریس ضرایب همبستگی (جدول ۳) نشان داد بین صفت شاخص بنیه گیاهچه (وزنی) با وزن خشک گیاهچه (r=۰/۹۷**)، درصد جوانه‌زنی (r=۰/۷۶**)، طول گیاهچه (r=۰/۷۴**)، همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد.

به نظر می‌رسد علت افزایش این صفت فعالیت آنزیم ACC دآمیناز توسط باکتری‌های محرک رشد می‌باشد. کاوال کانت و همکاران (Cavalcante *et al*., 2008) در تلقیح بذر گندم با قارچ تریکودرما افزایش بنیه وزنی گیاهچه را گزارش کردند. طبق گزارش انصاری و همکاران (Ansari and sharifzadeh. 2012) کاهش در بنیه به دلیل کاهش در اجزای آن تحت سطوح مختلف تنش خشکی و زوال بذر بوده است که این افت بیشتر در بذور پرایم نشده مشاهده می‌شود.

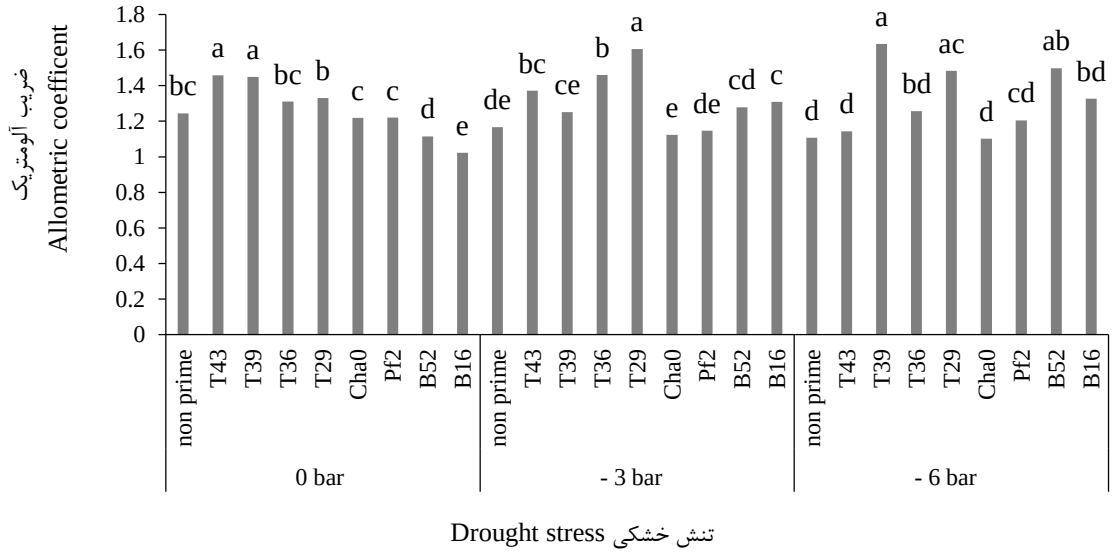
ضریب آلومتریک (نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه)

مقایسه میانگین برهم‌کنش تیمارهای بیوپرایمینگ در هر سطح تنش خشکی نشان داد که در سطح تنش صفر بار

www.SID.ir

Archive of SID

بیشترین مقدار این صفت در بیوپرایمینگ با T39 مشاهده شد که با T43 اختلاف معنی داری نداشت. با این حال کمترین مقدار نیز در تیمار باکتری B16 مشاهده شد (شکل۷). در سطح تنش ۳- بار نیز بیشترین مقدار در تیمار T29 و کمترین مقدار در CHA0 مشاهده شد که مقدار ضریب آلومتریک را نسبت به تیمار شاهد نیز کاهش داد. در سطح تنش ۶- بار نیز تیمارT39 بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد که با تیمار T29، B52 تفاوت معنی دار نداشت. با این حال تیمارCHA0 نیز مقدار ضریب آلومتریک را نسبت به تیمار شاهد کاهش داد (شکل ۷). نتایج جدول همبستگی (جدول۳) حاکی از این بود که این صفت همبستگی قابل توجهی با سایر مولفه‌های جوانه‌زنی نداشت. گزارش شده است که تلقیح گیاه سویا با قارچ Tricoderma virida سبب افزایش نسبت ریشه به ساقه شد (Yazdani Biuki *et al*., 2011).



شکل ۷- مقایسه میانگین برهم‌کنش اثر بیوپرایمینگ در هر سطح تنش خشکی برای شاخص ضریب الومتریک بذر انیسون

Figure 7- Mean comparison of the interaction of biopriming effect at each level of drought stress for allometric coefficient of anise

نتیجه‌گیری

آزمایشات مختلف بیانگر این مطلب است که در اثر تنش خشکی طول ریشه‌چه و ساقه‌چه هر دو کاهش ولی نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه افزایش می‌یابد (خدارحم‌پور، ۲۰۱۱). دلیل افزایش این نسبت به این خاطر است که در شرایط تنش خشکی ارقام مقاوم در مراحل اولیه تنش از سرعت رشد ریشه بالاتری برخوردارند، در نتیجه نسبت طول ریشه به ساقه در آنها زیاد می‌شود (کافی و همکاران، ۱۳۸۴).

نتایج نشان داد که با افزایش سطح تنش خشکی، متوسط مدت زمان جوانه‌زنی افزایش و سایر شاخص‌های جوانه زنی کاهش یافتند. در این شرایط تاثیر تیمارهای مختلف بیوپرایمینگ بر بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی در سطوح مختلف تنش خشکی متفاوت بود به‌طوری‌که پرایمینگ بذر با تیمارهای T36قارچی تریکودرما و CHA0 باکتریایی سودوموناس فلورسنت، بیشترین تاثیر را بر اکثر شاخص‌های جوانه‌زنی از جمله درصد جوانه‌زنی و شاخص بنیه گیاهچه نشان دادند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- ماتریس ضرایب همبستگی صفات اندازه‌گیری شده در تیمارهای بیوپرایمینگ و تنش خشکی بذر انیسون

Table 3- Matrix of correlation coefficients of measured traits in biopriming and drought stress treatments of anise seeds

صفات اندازه‌گیری شده Measured traits	(۱)	(۲)	(۳)	(۴)	(۵)	(۶)	(۷)
درصد جوانه‌زنی (۱) Germination percent	1						
سرعت جوانه‌زنی (۲) Germination rate	0.88**	1					
طول گیاهچه (۳) Seedling length	0.80**	0.86**	1				
شاخص طولی بنیه (۴) Length vigor index	0.88**	0.90**	0.98**	1			
وزن خشک گیاهچه (۵) Seedling dry weight	0.77*	0.64**	0.66**	0.71**	1		
شاخص وزنی بنیه (۶) Weight vigor index	0.86**	0.75**	0.74**	0.81**	0.97**	1	
ضریب آلومتریک (۷) Allometric coefficient	0.65 ns	0.16 ns	0.17**	0.16 ns	-.08 ns	-.02 ns	1

ns، * و **، به ترتیب نشان‌دهنده‌ی عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد می‌باشد.

ns, * and **: Not-significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

Reference منابع

Abbassi, F., and A. Koocheki. 2008. Effects of water deficit and salinity on germination properties of Aeluropus spp. Desert. 12: 179-184.

Ansari, a., and F. sharifzadeh. 2012. Improvement of germination indices of primed seeds of rye under accelerated degradation conditions. Seed Sci. Technol. 2(2):68-76.

Ansari, O., H. R. Chogazardi. F. Sharifzadeh., and H. Nazarli. 2012. Seed reserve utilization and seedling growth of treated seeds of mountain rye (*Seecale montanum*) as affected by drought stress. Agron. Res. Moldavia. 2 (150): 43-48.

Bakonyi, N., S. Bott., A. Gajdos., A. Szabo., A. Jakab., B. Toth., B. Makleit., and S.z. Veres. 2013. Using biofertilizer to improve seed germination and early development of maize. Polish J. Environ. Stud. 22(6): 1595-1599.

Barzegar, A., and M. Rahmani. 2004. Study of the Effect of Some Environmental Tensions on Germination Stimulation in Zoospah . Abstract Articles of 2nd Conf. Medicinal Plants, Tehran, Shahed University.

Booroomand zade,z., and A. Koochaki. 2009. Germination response of Ajowan, Fennel and Dill to osmotic potential of sodium chloride and polyethylene glycol 6000 in different temperature regimes. Iranian J. Field Crops Res. Iranian Journal Of Field Crops Research. 3(2), 207-218. (In persian).

Cavalcante, R. S., H. L. S. Lima, G. A. S. Pinto, C. A. T. Gava., and S. Rodriguez. 2008. Effect of moisture on *Trichoderma conidia* production on corn and wheat bran by solid state fermentation. Microbiol. Biotechnol. 24: 319-325.

Chepsergon, J., L. Mwamburi., and M. Kipkembio Kassim. 2012. Mechanism of drought Toleranc in plants using Trichoderma spp. International Journal of Science and Research. 3: 353-358.

www.SID.ir

Archive of SID

Ellis, R. H., and E. H. Roberts. 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. Seed Sci. Technol. 9: 373-409.

Gravel, V., H. Antoun., and R. J. Tweddell. 2007. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with Pseudomonas putida or Trichoderma atroviride: Possible role of indole acetic acid (IAA). Soil Biol. Biochem. 39: 1968-1977.

Hamzai, S., A. Sorushzade., A. Asgharzade., and H. Naghadi abadi. 2012. Effect of Growth Stimulating Bacteria on Germination and Seedling Growth in Different Temperatures. Journal of Medicinal Plants. 11(2):115-104.

Hoseyni, H., and P. Rezvani moghadam . 2009. Effect of water and salinity stress in seed germination on Isabgol (*Plantago ovata*). Iranian J. Field Crops Res. 4(1): 15-22.

Hsu, J. L., and J. M. Sung. 1997. Antioxidant role of glutathione associated with accelerated aging and hydration of triploid watermelon seeds. Physiolica Plantarum. 100(4): 967-974.

ISTA (International Seed Testing Association). 2010. International Rules for Seed Testing. Bassersdorf, Switzerland.

Jalili, F., K. Khavazi., A, pazira., A, sharaee nejati., and H. Asadi Rahmani. 2009. Effect of Fluorescent Pseudomonads with ACC Deaminase Enzyme Activity in Reducing the Effect of Salinity on Canola in Germination Stage . Iranian J. Soil Res. 23(1):19-105

Kafi, M., A. Nezami., and A. Masumi. 2005. The physiological effects of polyethylene glycol drought stress on germination of lentil genotypes. Iranian Crop Res. 3(1):80-69.

Kaymak, H. A., I. Guvenc., F. Yarali., and M. F. Denmez. 2009. The effect of biopriming whit PGPR on germination of radish (*Raphanus sativus* L.) seeds under saline conditions. Turkish J. Agric. 33: 173-179.

Khodarahmpour, Z. 2011. Effect of drought stress induced by polyethylene glycol (PEG) on germination indices in corn (*Zea mays* L.) hybrids. Afr. J. Biotechnol. 10 (79): 18222-18227.

Marchner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. Second reprint. Academic Press.

Mirshkari, B., and S. Baser. 2005. Effect of seed inoculation with bio-fertilizer on germination and initial growth Canola (*Brassica napus* L.), Sesame (*Sesamum indicum*) and Sunflower (*Helianthus annus* L.). Agroecol. J. 5(17):100-91.

Nelson, C.P. 2000. Water potential: The key to successful seed priming. Decagon Devices, Inc. AN4101- 10.

Noumavo, P. A., E. Kochoni., Y. O. Didagbé., A. Adjanohoun., M. Allagbe., R. Sikirou., E. W. Gachomo., S. O. Kotchoni., and L. Baba-Moussa. 2013. Effect of Different Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Maize Seed Germination and Seedling Development, Am. J. Plant Sci. 4:1013-1021.

Soltani, A., M. Gholipoor., and M. E. Zeinali. 2006. Seed reserve utilization and seedling growth of wheat as affrcted by drought and salinity. Environ. Exp. Bot. 55:195-200.

Stephanie, E.B., V.P. Svoboda, A.T. Paul., and W.V.I. Marc. 2005. Controlled drought affects morphology and anatomy of Salvia solendens. Hortic Soc. 130(5): 775-781.

Suma, N., P. Srimathi., and V. M. Roopa. 2014. Influence of Biofertilizer pelleting on seed and seedling quality characteristics of Sesamum indicum. Int. J. Curr. Microbiol. Appl Sci. 3(6): 591-594.

Voigt, E.L., T.D. Almeida, R.M. Chagas, L.F.A. Ponte, R.A. Viégas., and J.A.G. Silveira. 2009. Source–sink regulation of cotyledonary reserve mobilization during cashew (*Anacardium occidentale*) seedling establishment under NaCl salinity. J. Plant Physiol. 166: 80–89.

Whipps J. 2008. Beneficial microorganism survival on seed, roots and in rhizosphere soil Trease GE, Evance WC. Pharmacognosy. 14th ed. London: Bailliere Tindall. 1996: 266.

Yazdani Biuki, R ., P. Rezvani Moghaddam., H . Khazaie., R. Ghorbani., and A. Astaraei. 2011. Effects of Salinity and Drought Stresses on Germination Characteristics of Milk Thistle (*Silybum marianum*). Iranian J. Field Crops Res. 8(1), 12-19.

www.SID.ir