

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 و 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 به منظور 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 fluorescens* (CHA0)، P.F (1)، P.F (2)، B (16) و B (52)) 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 درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول گیاهچه، وزن خشک، شاخص‌های بینه 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 بینه (۱۰)، وزن خشک گیاهچه (۸/۰۷)، شاخص وزنی بینه (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 مرحله 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. Hosseini¹, A. Salehi^{2*}, A. Moradi³ and H. Balouchi⁴

1. MS.c student, Department of Agronomy, Yasouj University.

2 and 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 allometric 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

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 (*Pimpinella 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 تنش‌های 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. تنش‌های 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 درصد جوانه‌زنی، 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 ریشه‌چه و ساقه‌چه کاهش می‌یابد. استغن 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. تنش‌های محیطی علاوه بر اینکه سبب کاهش در

شاخص‌های جوانه زنی می‌شوند، 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 می‌باشد. تحت شرایط نامساعد استفاده از پیش تیمار بذر 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 بذر در شرایط محیطی تنش‌زا از قبیل تنش خشکی می‌شود، پرایمینگ است. یکی از انواع پرایم، استفاده از میکروارگانسیم‌های 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 بینه در تلقیح سودوموناس فلورسنس می‌باشد. در آزمایشی تاثیر مثبت بیوپرایمینگ با باکتری‌ها و قارچ‌های محرک رشدی چون آزوسپریلیوم، فسفوباکتیریا 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 ریشه‌چه 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 مؤلفه‌های جوانه زنی بذر گیاه دارویی انیسون در شرایط بهینه و تنش خشکی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

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 دیش‌های ۹ سانتی‌متری روی کاغذ صافی کشت شدند. مقدار ۵ میلی‌لیتر آب 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 جوانه‌زنی 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 اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک گیاهچه‌ها، گیاهچه‌ها 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 آلومتریکی 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

$$\Psi_s = - (1.8 \times 10^{-2}) C - (1.8 \times 10^{-4}) C^2 + (2.67 \times 10^{-4}) CT + (8.39 \times 10^{-7}) C^2$$

این پژوهش به منظور بررسی تأثیر بیوپرایمینگ بر برخی شاخص‌های جوانه‌زنی انیسون تحت تنش خشکی، در آزمایشگاه ژنتیک دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج در سال‌های ۹۵-۱۳۹۴ انجام شد. آزمایش به صورت آزمایش فاکتوریل دو عاملی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار ۳۰ بذری که فاکتور اول بیوپرایمینگ با ۹ سطح شامل شاهد پریم نشده و بیوپرایم با ۴ سویه باکتری *Pseudomonas fluorescens* شامل (P.F (1), CHA0)، (P.F (2), B (16) و B (52) 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 پرگنه‌های 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 هموستیومتر (جهت شمارش اسپور) با غلظت ۱۰^۷ 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 ۱۰^۸ واحد تشکیل‌دهنده کلونی بر میلی‌لیتر با 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

نتایج و بحث

سطح احتمال ۱ درصد معنی دار شدند (جدول ۱). با توجه به معنی دار شدن اثرات متقابل دو گانه بیوپرایمینگ و تنش خشکی برای شاخص جوانه زنی بذر انیسون برش دهی برهم کنش اثر تیمارهای بیوپرایمینگ در هر سطح تنش خشکی انجام شد (جدول ۱). نتایج تجزیه واریانس برش دهی نشان داد که برهم کنش تیمار بیوپرایمینگ در هر سطح تنش برای کلیه شاخص های جوانه زنی در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار شد (جدول ۲).

نتایج تجزیه واریانس اثرات تیمار بیوپرایمینگ و تنش خشکی نشان داد که اثر اصلی بیوپرایمینگ و تنش خشکی برای کلیه شاخص های جوانه زنی مورد بررسی شامل درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی، طول گیاهچه، وزن خشک گیاهچه، شاخص بنیه (طولی و وزنی) در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار شدند. اثر متقابل دو گانه تیمار بیوپرایمینگ و سطح تنش برای کلیه صفات در

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

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

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی d.f	درصد جوانه زنی Germination percent	سرعت جوانه زنی 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)	8	666.53**	6.49**	47.07**	46.86**	45.57**	48.27**	0.16**
تنش خشکی (B)	2	3204.42**	9.49**	42.54**	251.08**	68.91**	272.69**	0.1 ^{ns}
A×B	16	26.64 ^o	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 *^o: به ترتیب نشان دهنده ی 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 برش دهی تنش خشکی برای برخی شاخص های جوانه زنی 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 جوانه زنی Germination percent	سرعت جوانه زنی 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**

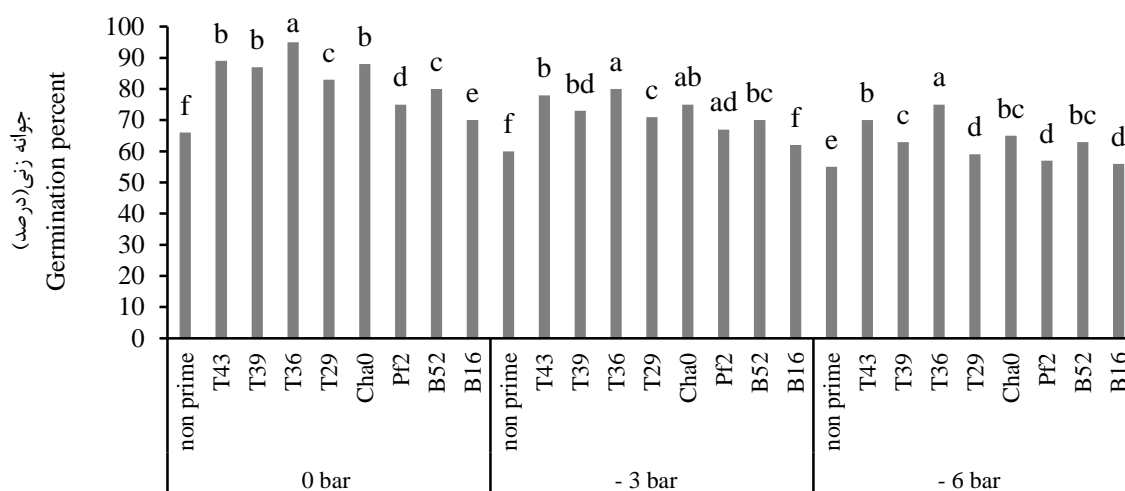
^{ns}, **, * و *^o: به ترتیب نشان دهنده ی معنی دار در سطح آماری ۱ و ۵ درصد

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

درصد جوانه‌زنی

مقایسه میانگین برهم کنش تیمار بیوپرایمینگ و سطح تنش خشکی بر درصد جوانه زنی بذر انیسون نشان داد که اغلب تیمارهای بیوپرایمینگ باعث افزایش معنی‌داری جوانه زنی در مقایسه با بذر پرایم نشده در هر سطح تنش شدند (شکل ۱). به طوری که درصد جوانه زنی بذر 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 بذر پرایم نشده افزایش دهند همچنین در بذر 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 بذر پرایم نشده افزایش دادند (شکل ۱).



تنش خشکی Drought stress

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

محرك رشد وقتی به سطح بذرهای می‌چسبند در پاسخ به ترشح اسیدهای آمینه ترشح شده در بذر، اسید ایندول استیک سنتز می‌کنند که این اسید باعث تحریک سلول‌های گیاهی و طولیل شدن آنها می‌شود و در نتیجه می‌تواند بر سرعت و درصد جوانه زنی بذرهای 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 معنی‌داری 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 می‌شود و

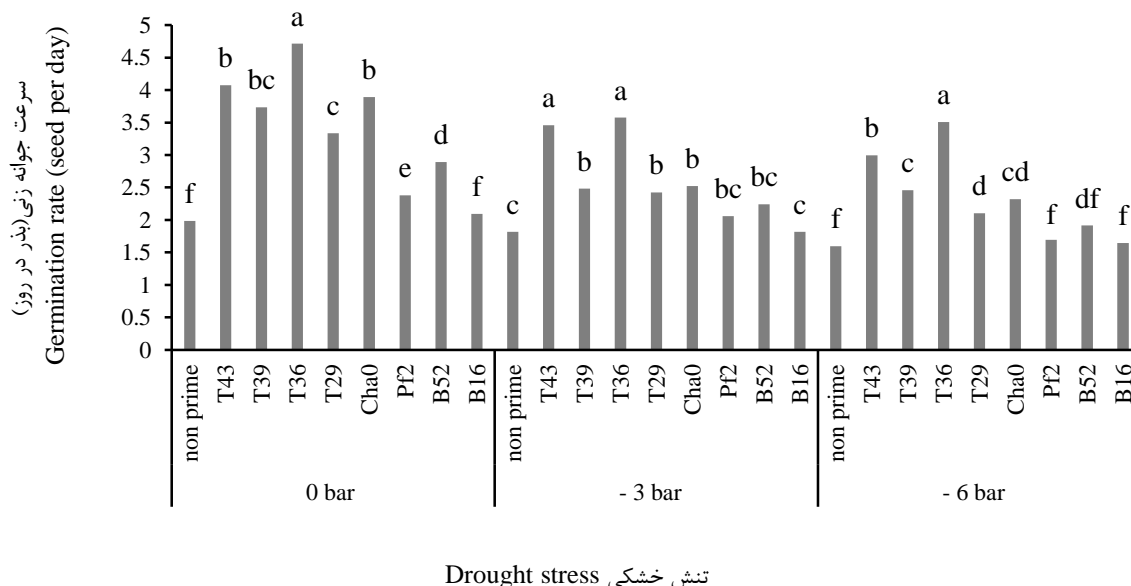
کاهش جوانه‌زنی در شرایط تنش رطوبتی به کاهش رطوبت سلول‌ها و در نتیجه کاهش تولید هورمون‌های محرك جوانه‌زنی و هورمون‌های هیدرولیز کننده مواد ذخیره‌ای بذر مانند آمیلاز و نیز اختلال در عمل ترکیبات ساختاری بذر نسبت داده شده است (Abbassi and Koocheki, 2008). حال به نظر می‌رسد که افزایش جوانه زنی به دلیل تأثیر باکتری‌ها در افزایش تولید برخی هورمون‌ها به ویژه جیبرلین باشد، زیرا این هورمون با فعال کردن برخی آنزیم‌ها مانند آمیلاز که در سوخت و ساز نشاسته دخالت دارند، جوانه زنی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Kaymak et al., 2009). باکتری‌های

کاهش یافت اما در این شرایط تیمارهای بیوپرایمینگ باعث افزایش معنی داری در سرعت جوانه زنی در مقایسه با بذور پرایم نشده در سطوح مختلف تنش شدند (شکل ۲). در حالت صفر بار، بیشترین سرعت جوانه زنی (۴/۷۱) بذر در روز) مربوط به قارچ T36 بود که با سایر تیمارها اختلاف معنی داری داشت و کمترین سرعت جوانه زنی (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 معنی داری نداشت و کمترین سرعت جوانه زنی (۱/۸۸) بذر در روز) از تیمار بدون تلقیح بدست آمد. در تنش ۶- بار، بیشترین سرعت جوانه زنی (۳/۵) بذر در روز) مربوط به تیمار T36 بود که با سایر تیمارها اختلاف معنی داری داشت که سرعت جوانه زنی را ۵۰ درصد نسبت به تیمار پرایم نشده افزایش دهد (شکل ۲).

کاهش در جذب آب سبب کاهش در جوانه زنی می شود. کاهش پتانسیل آب سبب بروز اختلال در جوانه زنی 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، جوانه زنی را تحت تاثیر قرار می دهد. 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 می گردد و بذر به علت آمادگی بیشتر برای خروج ریشه چه، کمتر تحت تاثیر تنش قرار خواهد گرفت.

سرعت جوانه زنی

نتایج مقایسه میانگین تیمار بیوپرایمینگ در هر سطح تنش خشکی برای سرعت جوانه زنی بذور انیسون نشان داد که با افزایش در سطح تنش خشکی، سرعت جوانه زنی



شکل ۲- مقایسه میانگین برش دهی اثر بیوپرایمینگ در هر سطح تنش خشکی برای سرعت جوانه زنی بذور انیسون

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

آرامی صورت می گیرد، در نتیجه مدت زمانی که ریشه چه از بذر خارج می شود طولانیتر شده و از این رو سرعت

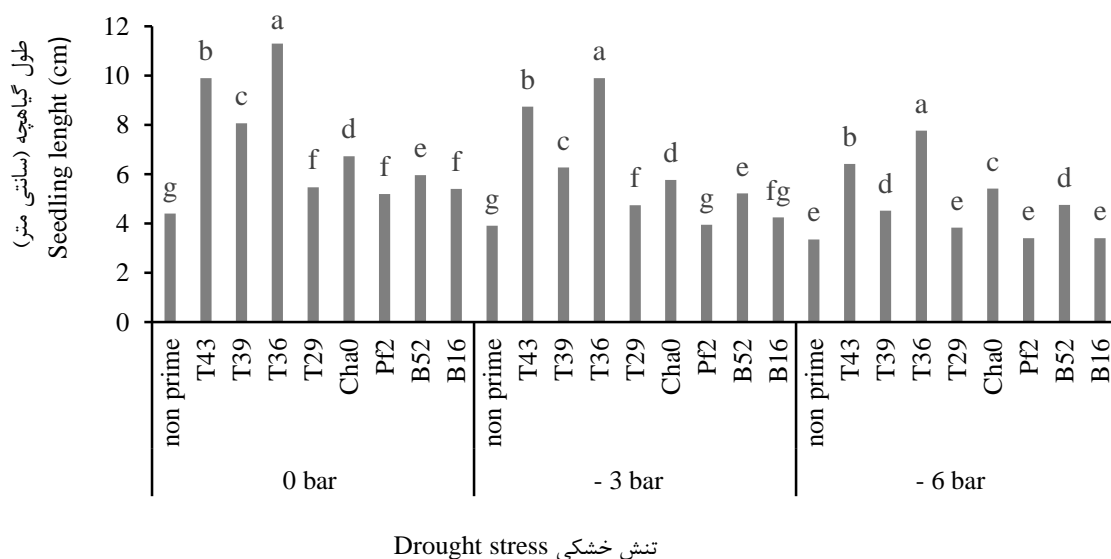
اگر جذب آب توسط بذر مختل شود، جذب آب به کندی صورت گیرد و فعالیت های متابولیکی جوانه زنی به

بذور پرایم نشده به ۱۱/۲۹، ۹/۹ و ۷/۷۶ سانتیمتر افزایش دهد (شکل ۹). در تیمار باکتریایی نیز باکتری CHA0 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 پرایم نشده به ۶/۷، ۵/۷ و ۵/۴ سانتیمتر افزایش دهد. احتمالاً 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 بافت های ذخیره ای بذر به جنین کاهش یابد که سرانجام منجر به نقصان رشد گیاهچه می شود. 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 (ریشه چه و ساقه چه) می گردد (Hoseyni and rezvani moghadam 2009).

جوانه زنی کاهش می یابد. این حالت در زمان بروز تنش خشکی که دسترسی بذر به آب کاهش می یابد، اتفاق می افتد و از این طریق جوانه زنی 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 جوانه زنی 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 تاثیر گذار می باشد (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



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

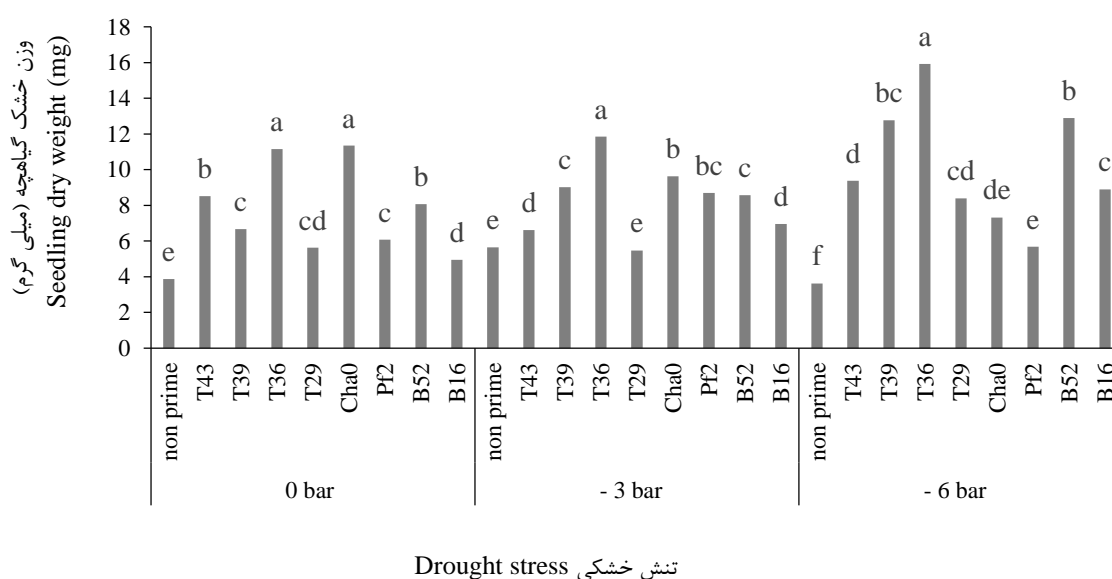
Figure 3- Mean comparison of the interaction of biopriming effect at each level of drought stress for Seedling length of anise

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 به طوری که توانست وزن خشک گیاهچه را ۶/۴ میلی گرم نسبت به بذور پرایم نشده (۷/۰) افزایش دهد. در تیمارهای باکتریایی هم تیمار CHA0 نیز توانست وزن خشک گیاهچه را ۴/۳ و ۳/۷ میلی گرم 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 می شود اما با افزایش تنش کارایی تبدیل ذخایر مورد استفاده صرف تنفس نگهداری می شود (Soltani et al., 2006).

افزایش مولفه های رشد گیاهچه از جمله وزن خشک آن در تلقیح با محرک های 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 دامیلاز باکتری هیدرولیز می شود. هیدرولیز ACC توسط 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 طولی شدن ریشه و افزایش وزن خشک را به همراه دارد (Jalili et al., 2009). همچنین دلیل افزایش وزن خشک گیاهچه می تواند به تولید هورمون اکسین و سیتوکینین در تقسیم سلولی و گسترش دیواره سلولی در گیاهچه باشد (میرشکاری و باصر، ۱۳۸۸). همبستگی مثبت و معنی داری بین درصد جوانه زنی ($r = 0.77^{**}$) و طول گیاهچه ($r = 0.66^{**}$) وجود داشت که ممکن است دلیلی برای افزایش وزن خشک گیاهچه باشد (جدول ۳). چپسرگون و همکاران (Chepsergon, et al., 2012) اظهار داشتند که قارچ های تریکودرما باعث افزایش وزن خشک گیاهچه ارزن تحت تنش خشکی نسبت به تیمار پرایم نشده شدند.



شکل ۴- مقایسه میانگین برهم کنش 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.

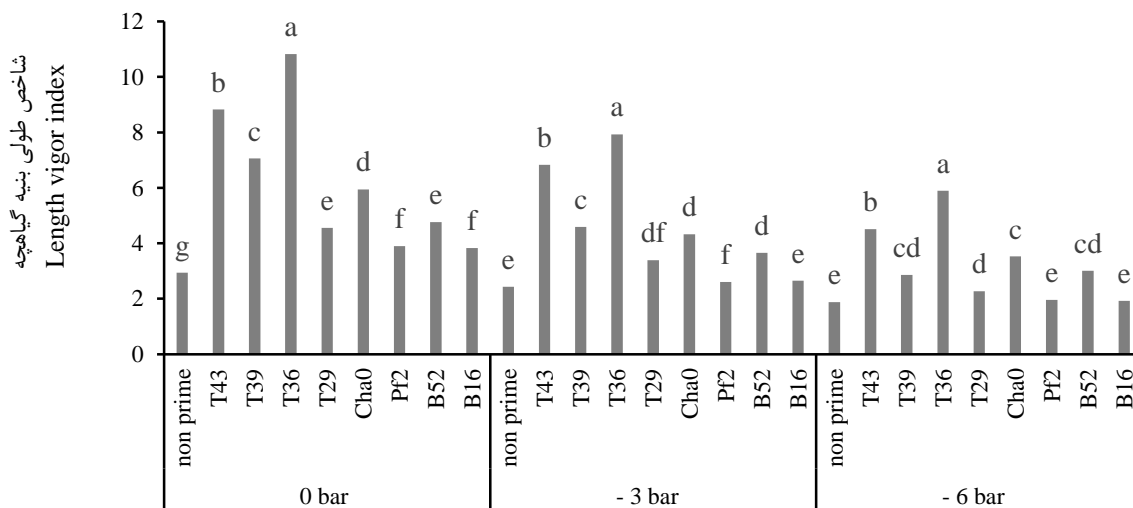
شاخص طولی بینه گیاهچه

شاخص طولی بینه گیاهچه یک صفت وابسته به درصد جوانه زنی و طول گیاهچه است بنابراین واکنش آن به سطوح مختلف خشکی و تیمارهای پرایمینگ همانند این دو صفت بود (شکل ۱۰). در بین تیمارهای قارچی تیمار T36 بیشترین شاخص بینه طولی گیاهچه را کلیه سطوح تنش به خود اختصاص داد به طوری که شاخص طولی بینه 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 بینه 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 ۴/۳، ۵/۹ 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 جوانه زنی و شاخص بینه در تلقیح ترکیبی ریزوباکتر *P. putida* و *Pseudomonas fluorescens* مشاهده شد. افزایش درصد جوانه زنی و نیز رشد گیاهچه می‌تواند در افزایش شاخص بینه گیاهچه (طولی) موثر باشد. همبستگی مثبت و معنی‌دار این صفت با درصد جوانه‌زنی ($r=0/88^{**}$)، طول گیاهچه ($r=0/98^{**}$)، سرعت جوانه‌زنی ($r=0/90^{**}$)، ضریب سرعت جوانه‌زنی ($r=0/74^{**}$) و منفی و معنی‌دار با صفت متوسط مدت زمان جوانه‌زنی نیز موثر این دلیل است (جدول ۳).

شاخص بینه گیاهچه معیاری برای ارزیابی بینه 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 بینه بذور پرایم شده نسبت به بذور پرایم نشده ذکر شده‌اند (Hsu and Sung, 1997).



تنش خشکی Drought stress

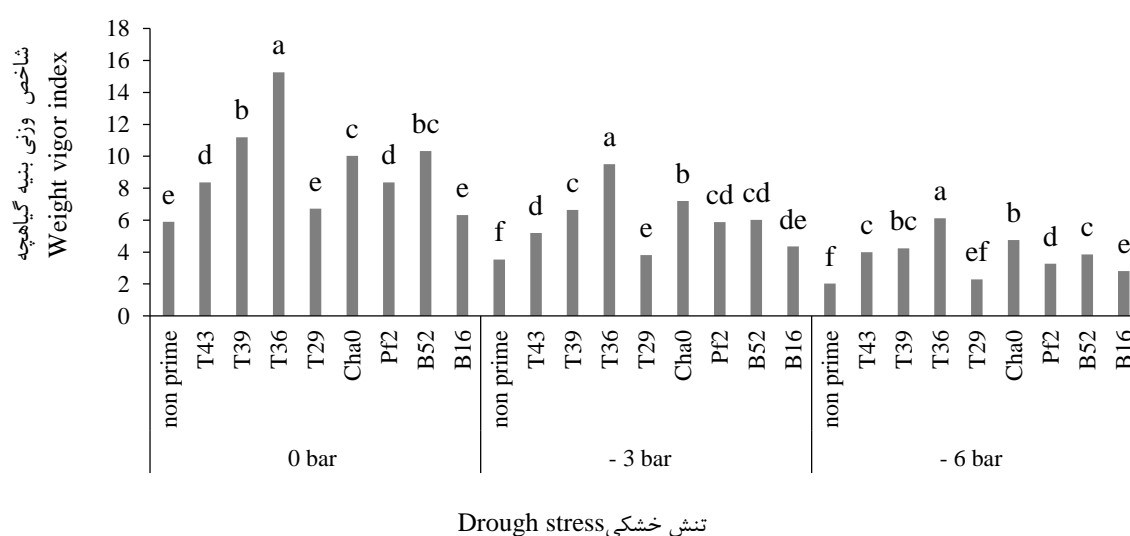
شکل ۵- مقایسه میانگین برهم‌کنش اثر بیوپرایمینگ در هر سطح تنش خشکی برای شاخص طولی بینه گیاهچه بذر انیسون

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

شاخص وزنی بینه گیاهچه

نتایج مقایسه میانگین برهمکنش تیمارهای بیوپرایمینگ و سطوح تنش خشکی بر شاخص وزنی بینه گیاهچه انیسون نشان داد که تیمارهای بیوپرایمینگ باعث افزایش معنی دار و قابل توجهی در شاخص وزنی بینه گیاهچه در مقایسه با بذور پرایم نشده در هر سطح تنش شدند (شکل ۶). در تیمارهای قارچی تیمار T36 توانست شاخص وزنی بینه گیاهچه را در کلیه سطوح تنش نسبت

به بذور پرایم نشده به طور معنی داری افزایش دهد به طوری که بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد. این تیمار توانست شاخص وزنی بینه گیاهچه را از ۵/۸، ۳/۵ و ۲ به ترتیب در سطوح تنش صفر، ۳- و ۶- بار در بذور پرایم نشده به ۹/۵، ۱۵/۲۵ و ۶/۱ افزایش دهد. در تیمارهای باکتریایی نیز تیمار CHA0 در تنش صفر بار بینه گیاهچه را از ۵/۸ به ۱۰/۰۳ افزایش دهد.



شکل ۶- مقایسه میانگین برهم کنش اثر بیوپرایمینگ در هر سطح تنش خشکی برای شاخص وزنی بینه 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

کاوال کانت و همکاران (Cavalcante *et al.*, 2008) در تلقیح بذر گندم با قارچ تریکودرما افزایش وزنی گیاهچه را گزارش کردند. طبق گزارش انصاری و همکاران (Ansari and sharifzadeh, 2012) کاهش در بینه 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 می شود.

ضریب آلومتریک (نسبت طول ریشه چه به ساقه چه)

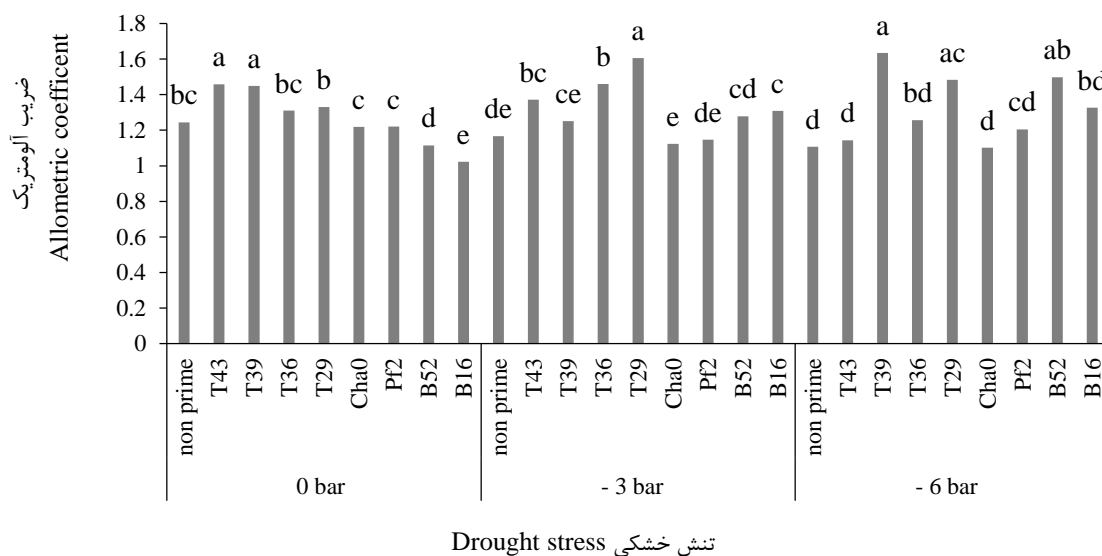
مقایسه میانگین برهم کنش تیمارهای بیوپرایمینگ در هر سطح تنش خشکی نشان داد که در سطح تنش صفر بار

افزایش در درصد جوانه زنی و رشد گیاهچه (طول ریشه چه، ساقه چه و بنابراین طول گیاهچه) می تواند منجر به افزایش در وزن خشک گیاهچه و سرانجام شاخص بینه گیاهچه (وزنی) شود که ممکن است دلیلی برای افزایش این صفت باشد. ماتریس ضرایب همبستگی (جدول ۳) نشان داد بین صفت شاخص بینه گیاهچه (وزنی) با وزن خشک گیاهچه ($r=0.97^{**}$)، درصد جوانه زنی ($r=0.76^{**}$)، طول گیاهچه ($r=0.74^{**}$)، همبستگی مثبت و معنی داری وجود دارد.

به نظر می رسد علت افزایش این صفت فعالیت آنزیم ACC دامیناز توسط باکتری های محرک رشد می باشد.

نداشت. با این حال تیمار CHA0 نیز مقدار ضریب آلومتریکی را نسبت به تیمار شاهد کاهش داد (شکل ۷). نتایج جدول همبستگی (جدول ۳) 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).

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 (شکل ۷). در سطح تنش ۳- بار نیز بیشترین مقدار در تیمار T29 و کمترین مقدار در CHA0 مشاهده شد که مقدار ضریب آلومتریکی را نسبت به تیمار شاهد نیز کاهش داد. در سطح تنش ۶- بار نیز تیمار T39 بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد که با تیمار T29، B52 تفاوت معنی دار



شکل ۷- مقایسه میانگین برهم کنش اثر بیوپرایمینگ در هر سطح تنش خشکی برای شاخص ضریب آلومتریکی بذر انیسون
Figure 7- Mean comparison of the interaction of biopriming effect at each level of drought stress for allometric coefficient of anise

نتیجه گیری

نتایج نشان داد که با افزایش سطح تنش خشکی، متوسط مدت زمان جوانه زنی 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 به طوری که پرایمینگ بذر با تیمارهای T36 قارچی تریکودرما و CHA0 باکتریایی سودوموناس فلورسنت، بیشترین تاثیر را بر اکثر شاخص‌های جوانه‌زنی از جمله درصد جوانه‌زنی و شاخص بنیه گیاهچه نشان دادند.

آزمایشات مختلف بیانگر این مطلب است که در اثر تنش خشکی طول ریشه چه و ساقه چه هر دو کاهش ولی نسبت طول ریشه چه به ساقه چه 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).

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}	-0.08 ^{ns}	-0.02 ^{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 (*Secale 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.

- 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.

