

اثر پرایمینگ زیستی و هورمونی بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذرهای مریم‌گلی کبیر (*Salvia sclarea* L.)

حسن نورافکن^{۱*}، فرانک ناصری^۲

^۱ گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، واحد میانه، دانشگاه آزاد اسلامی، میانه، ایران
^۲ کارشناس ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، واحد میانه، دانشگاه آزاد اسلامی، میانه، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۹/۲۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۰/۱۰

چکیده

پرایمینگ بذر روشی است که در آن بذر پیش از قرار گرفتن در بستر کشت و مواجهه با شرایط محیطی، به لحاظ فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آماده جوانه‌زنی می‌شود. در این راستا، دو آزمایش جداگانه به منظور ارزیابی اثر پرایمینگ بذرهای مریم‌گلی کبیر با باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد گیاهی و مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی به صورت طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در آزمایشگاه علوم باغبانی دانشگاه آزاد اسلامی واحد میانه انجام در سال ۱۳۹۴ شد. تیمارهای پرایمینگ زیستی شامل ۱۵ باکتری افزایش‌دهنده رشد گیاهی از جنس‌های *Herbaspirillum*، *Azotobacter*، *Azospirillum*، *Flavobacterium* و *Pseudomonas* و پرایمینگ هورمونی شامل جیبرلیک‌اسید و کیتین در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به همراه هیدروپرایمینگ و شاهد (بدون پرایم) بود. پس از اعمال پرایمینگ، تعداد ۲۵ عدد بذر در هر پتری‌دیش قرار داده شده و بذرهای جوانه‌زده به صورت روزانه شمارش گردید. همه شاخص‌های جوانه‌زنی مورد بررسی، به جز میانگین زمان جوانه‌زنی و ضریب سرعت جوانه‌زنی روزانه تحت تأثیر پرایمینگ زیستی قرار گرفتند. پرایمینگ زیستی با *Azotobacter 12* موجب کاهش درصد، سرعت و متوسط جوانه‌زنی روزانه بذر شد و فقط سرعت جوانه‌زنی روزانه افزایش یافت. در پرایمینگ هورمونی، تمام شاخص‌های جوانه‌زنی تحت تأثیر تیمارها قرار داشتند و کاربرد مواد تنظیم‌کننده رشد موجب کاهش ضریب سرعت جوانه‌زنی و افزایش میانگین زمان جوانه‌زنی گردید. همچنین، کیتین در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر موجب کاهش درصد، سرعت و متوسط جوانه‌زنی روزانه بذر شد و فقط سرعت جوانه‌زنی روزانه را افزایش داد.

واژه‌های کلیدی: ازتوباکتر، بیوپرایمینگ، تندش، جیبرلیک‌اسید، کیتین

مقدمه

جوانه‌زنی مطلوب و در پی آن استقرار مناسب محصول و ایجاد یک مزرعه سبز یکنواخت می‌تواند راه را برای تولید محصولی قابل قبول از نظر کمی و کیفی هموار سازد (Ghiyasi et al., 2012). یکی از مشکلات تولید گیاهان، جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه‌های آنها می‌باشد. استفاده از تیمارهای پیش از کاشت بذر یا پرایمینگ^۲ یکی از روش‌های مؤثر برای غلبه بر این مشکل می‌باشد (Shekari et al., 2010). پرایمینگ بذر تکنیکی است که به واسطه آن، بذر پیش از قرار گرفتن در بستر کشت و مواجهه با شرایط اکولوژیکی محیط، به لحاظ فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آمادگی

*نویسنده مسئول: hassannourafcan@gmail.com

جوانه‌زنی را به دست می‌آورد (Mahmoodzadeh Ardahaei et al., 2010). پرایمینگ بذر از طریق افزایش سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی موجب افزایش کارایی بذر می‌گردد. این اثرات مثبت، بهبود سرعت رشد گیاه، تسریع در تاریخ رسیدگی، افزایش در کمیت و کیفیت عملکرد را موجب می‌گردد (Shekari et al., 2010). در خصوص روش‌های مختلف پرایمینگ از جمله اسموپرایمینگ^۱ و بیوپرایمینگ^۲ (تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد گیاه^۳) و تأثیرات آن بر جوانه‌زنی و استقرار بهتر بذر و ویژگی‌های مرتبط با آن پژوهش‌های متعددی صورت گرفته است (Ghiasi et al., 2012). باکتری‌های محرک رشد گیاه از طریق ساز و کارهای متفاوتی بر شاخص‌های مختلف رشد گیاه تأثیر می‌گذارند. از جمله این مکانیسم‌ها می‌توان به تولید هورمون ایندول استیک اسید^۴، جیبرلیک اسید^۵، سایتوکینین، تثبیت نیتروژن، حل فسفات‌های نامحلول و سایر عناصر غذایی و کنترل عوامل بیماری‌زای گیاهی اشاره کرد (Khosravi et al., 2000). باکتری‌های جنس ازتوباکتر، آزوسپیریوم و سودوموناس از مهمترین باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌باشند که علاوه بر تثبیت زیستی نیتروژن و محلول کردن فسفر خاک با تولید مقادیر قابل ملاحظه هورمون‌های تحریک کننده رشد به ویژه انواع اکسین، جیبرلین و سیتوکینین رشد و نمو و عملکرد گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Jafarinia and Hadi, 2015). بذرهای پرایم شده پس از قرار گرفتن در بستر کشت زودتر جوانه زده و استقرار گیاهان حاصل از این بذر سریع‌تر، بهتر و در عین حال یکنواخت‌تر انجام می‌پذیرد. در واقع چنین گیاهی در مقایسه با گیاهان به وجود آمده از بذر تیمار نشده در طی زمان کوتاه‌تری سیستم ریشه‌ای خود را گسترش داده و با جذب مطلوب‌تر آب و مواد غذایی و تولید بخش‌های سبز فتوسنتز کننده به مرحله اتوتروفی می‌رسند (Tamjidi, 2009).

هورمون‌های گیاهی یا مواد تنظیم‌کننده رشد در بسیاری از جنبه‌های رشد و نمو گیاه شرکت دارند. بسیاری از هورمون‌های گیاهی از جمله اکسین، جیبرلین، سیتوکینین، اتیلن و آبسیزیک اسید احتمالاً از راه‌های مشخصی که منجر به کنترل عملکرد نوکلئیک اسیدها می‌شود در تحریک جوانه‌زنی و یا خواب بذر نقش دارند (Koornneef et al., 2002). جیبرلیک اسید یکی از هورمون‌های مهم رشد است که نقش بسیار مهمی در شکستن خواب بذر، جایگزینی سرمادهی در بذرهای دارای پوسته سخت و در نهایت جوانه‌زنی بذر گیاهان دارد (Nadjafi et al., 2006). کاربرد جیبرلیک اسید و نیترات پتاسیم سبب تحریک جوانه‌زنی بذر گونه‌های مختلف کور^۶ می‌شود. جیبرلیک اسید یک هورمون عمده در تحریک جوانه‌زنی بذر است که با تحریک تجزیه ذخایر غذایی بذر و جایگزینی نیاز سرمایی بذر در جوانه‌زنی بذرهای دارای خواب نقش عمده‌ای دارد (Makkizadeh Tafti et al., 2012). از طرفی، سیتوکینین‌ها، هورمون‌های گیاهی هستند که در تنظیم فرآیندهای مختلف زیستی نظیر رشدونمو، جوانه‌زنی بذرها و ریخت‌زایی اندام‌های هوایی حایز اهمیت هستند (Saboora and Shokri, 2014) و قادرند عمل بازدارندگی آبسیزیک اسید را برطرف نمایند. سیتوکینین‌ها با تحریک سنتز DNA و RNA در بذرها، رشد و تقسیم سلولی در رویان بذر را تسهیل نموده و به جوانه‌زنی کمک می‌کنند و یا با افزایش فعالیت α -آمیلاز و هیدرولیز نشاسته و یا با افزایش نفوذپذیری غشاء سیتوپلاسمی و در نتیجه انتقال سریع‌تر مواد بر روی جوانه‌زنی اثر گذار هستند (Nabaei et al., 2011).

1. Osmopriming
2. Biopriming
3. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPRs)
4. Indole Acetic Acid (IAA)
5. Gibberellic acid (GA3)
6. Capparis

جنس سالویا متعلق به خانواده نعناعیان و شامل ۷۰۰ تا ۹۰۰ گونه در سرتاسر جهان می‌باشد. در ایران ۵۷ گونه از این جنس شناسایی شده‌است که ۱۷ گونه آنها بومی هستند (Bakhshi Khaniki and Lari Yazdi, 2009). مریم گلی کبیر^۱ با نام علمی *Salvia sclarea* L. گیاهی علفی و دوساله است (Omidbeigi, 2009). به دلیل داشتن برگ و گل‌های زیبا و عطر فراوان در مرحله گلدهی و عدم نیاز به شرایط خاص جهت پرورش و مقاومت به شرایط نامساعد محیطی، گیاه مناسبی جهت کشت و کار در مزرعه و فضای سبز می‌باشد (Ghani et al., 2010). هدف از این آزمایش، معرفی مناسب‌ترین باکتری افزاینده رشد گیاهی و غلظت و نوع تنظیم کننده‌های رشدی مناسب بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر مریم گلی کبیر در شرایط آزمایشگاهی بود.

مواد و روش‌ها

دو آزمایش جداگانه برای مقایسه اثر باکتری‌های افزاینده رشد گیاه و تنظیم کننده‌های رشد (جیبرلیک‌اسید و کینتین^۲) بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر مریم گلی کبیر در آزمایشگاه علوم باغبانی دانشگاه آزاد اسلامی واحد میانه انجام شد. بذرهای مریم گلی کبیر از مرکز تحقیقات گیاهان دارویی سمنان و باکتری‌های مورد استفاده به شرح زیر از بخش تحقیقات بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب کرج تهیه شد.

1. *Herbaspirillum (Herbaspirillum seropodicae DSM 6445)*
2. *Azotobacter 12 (Azotobacter chroococcum strain 12)*
3. *Azotobacter 5 (Azotobacter chroococcum strain 5)*
4. *Azospirillum oF (Azospirillum brasilens strain oF)*
5. *Azospirillum 21 (Azospirillum lipoferum strain 21)*
6. F21 (*Flavobacterium* sp.)
7. F46 (*Flavobacterium* sp.)
8. R108 (*Pseudomonas putida* strain 108)
9. R112 (*Pseudomonas putida* strain 112)
10. R153 (*Pseudomonas fluorescens* strain 153)
11. R159 (*Pseudomonas putida* strain 159)
12. R168 (*Pseudomonas putida* strain 168)
13. R169 (*Pseudomonas fluorescens* strain 169)
14. P10 (*Pseudomonas* sp.)
15. P23 (*Pseudomonas fluorescens* strain 23)

آزمون اول بیوپرایمینگ بذر مریم گلی کبیر با ۱۵ باکتری افزاینده رشد گیاه و آزمون دوم پرایمینگ با جیبرلیک‌اسید و کینتین در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بود. در هر دو آزمایش، در کنار تیمارهای مورد اشاره از هیدروپرایمینگ با آب مقطر و تیمار شاهد (بدون پرایم) استفاده شد.

جهت پرایمینگ، بذرهای به مدت سه ساعت در محلول‌ها قرار گرفته (Mansouri and Omid, 2018) و قبل از آزمون جوانه‌زنی به مدت شش ساعت در دمای اتاق تا رسیدن به وزن و رطوبت اولیه (بر اساس مشاهدات قبلی نویسندگان) خشک شدند. ۲۵ عدد بذر پرایم شده در پتری‌های نه سانتی‌متری دارای یک کاغذ صافی قرار گرفته و ۵ میلی‌لیتر آب مقطر به آن افزوده شد. پتری‌های حاوی بذر در ژرمیناتور با دمای ۲۰ درجه سلسیوس قرار گرفته و بازبینی و شمارش بذرهای جوانه‌زده به صورت روزانه به مدت ۳۰ روز انجام شد. معیار جوانه‌زنی برای بذرهای مریم

1. Clary sage
2. Kinetin

گلی کبیر خروج دو میلی‌متر ریشه‌چه در نظر گرفته شد (ISTA, 2009). در پایان آزمایش، شاخص‌های جوانه‌زنی بذر مطابق فرمول‌های جدول یک اندازه‌گیری شد.

جدول ۱: روابط محاسباتی شاخص‌های جوانه‌زنی مورد بررسی

منابع	رابطه	شاخص
Panwar and Bhardwaj, 2005	$GP = n/N * 100$	درصد جوانه‌زنی ^۱
Kulkarni et al., 2007	$MGT = \sum(n_i.t_i) / \sum n$	میانگین زمان جوانه‌زنی ^۲
Kulkarni et al., 2007	$GS = \sum(n_i/t_i)$	سرعت جوانه‌زنی ^۳
Hoogenboom and Peterson, 1987	$MDG = FGP/d$	متوسط جوانه‌زنی روزانه ^۴
Hoogenboom and Peterson, 1987	$DGS = 1/MDG$	سرعت جوانه‌زنی روزانه ^۵
Stephanie et al., 2005	$CVG = 1/MGT$	ضریب سرعت جوانه‌زنی ^۶

n = تعداد کل بذرهای جوانه‌زده در طی دوره، ni = تعداد بذرهای جوانه‌زده در یک فاصله زمانی مشخص ti (در این آزمایش هر روز)، N = تعداد بذرهای کاشته شده (در این آزمایش ۲۵ بذر)، ti = تعداد روزهای پس از شروع جوانه‌زنی، d = تعداد روزها از آغاز آزمون، FGP = درصد جوانه‌زنی نهایی^۷

طرح آزمایشی به صورت کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری SAS ver 9.1 استفاده و برای مقایسه میانگین صفات از روش چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

الف- بیوپرایمینگ: جدول تجزیه واریانس اثر بیوپرایمینگ باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد گیاهی بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر مریم‌گلی کبیر نشان داد که بین تیمارها به جز در صفات میانگین زمان جوانه‌زنی و ضریب سرعت جوانه‌زنی روزانه در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف آماری معنی‌داری وجود دارد (جدول ۲).

جدول ۲: نتایج تجزیه واریانس اثر بیوپرایمینگ بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر مریم‌گلی کبیر

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		درصد جوانه‌زنی	میانگین زمان جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	متوسط جوانه‌زنی روزانه	سرعت جوانه‌زنی روزانه
تیمار	۱۶	۸۲۵**	۱/۶۵ ^{NS}	۲/۸۰**	۰/۹۲**	۰/۵**
اشتباها	۳۴	۱۳۷	۱/۱۰	۰/۵۲	۰/۱۵	۰/۰۲
ضریب تغییرات(%)	-	۱۶/۳۳	۱۸/۴۲	۱۸/۹۳	۱۶/۳۳	۲۴/۰۹

^{NS} غیر معنی‌دار؛ ** معنی‌دار در سطح آماری یک درصد

1. Germination percentage
2. Mean germination time
3. Germination speed
4. Mean daily germination
5. Daily germination speed
6. Coefficient of velocity of germination
7. Final germination percentage

درصد جوانه‌زنی: مقایسه میانگین (جدول ۳) نشان داد که بیوپرایمینگ با Azospirillum oF بالاترین درصد جوانه‌زنی (۸۶/۶۷ درصد) را داشت ولی با سایر تیمارها به استثنای R108، F46 و Azotobacter 5 اختلاف آماری نشان نداد. همچنین، Azotobacter 5 کمترین درصد جوانه‌زنی (۱۴/۶۷ درصد) را داشته و با هیچ یک از تیمارها در یک سطح آماری قرار نگرفت.

سرعت جوانه‌زنی: مقایسه میانگین (جدول ۳) نشان داد که بیوپرایمینگ با Azospirillum 21 بیشترین سرعت جوانه‌زنی (۵/۰۱ جوانه در روز) را داشت ولی با سایر تیمارها به جز R108، P23 و Azotobacter 5 اختلاف آماری نشان نداد. همچنین، Azotobacter 5 کمترین سرعت جوانه‌زنی (۰/۵۹ جوانه در روز) را داشته و با هیچ یک از تیمارها در یک سطح آماری قرار نگرفت.

متوسط جوانه‌زنی روزانه: مقایسه میانگین (جدول ۳) نشان داد که بیوپرایمینگ با Azospirillum oF بالاترین متوسط جوانه‌زنی روزانه (۲/۸۹ بذر جوانه زده در روز) را داشت ولی با سایر تیمارها به جز R108، Azotobacter 5 و F46 اختلاف آماری نشان نداد. همچنین، Azotobacter 5 کمترین متوسط جوانه‌زنی روزانه (۰/۴۹ بذر جوانه زده در روز) را داشته و با هیچ یک از تیمارها در یک سطح آماری قرار نگرفت.

جدول ۳: مقایسه میانگین شاخص‌های جوانه‌زنی بذر مریم‌گلی کبیر تحت تأثیر بیوپرایمینگ

تیمار	درصد جوانه‌زنی (درصد)	سرعت جوانه‌زنی (جوانه در روز)	متوسط جوانه‌زنی روزانه (بذر جوانه زده در روز)	سرعت جوانه‌زنی روزانه (جوانه زده در یک روز)
Herbaspirillum	۷۹ ^{abc}	۳/۸۸ ^{abc}	۲/۵۳ ^{abc}	۰/۴۰ ^b
P23	۸۱/۳۳ ^{abc}	۳/۴۴ ^{bc}	۲/۷۱ ^{abc}	۰/۳۷ ^b
Azotobacter 12	۷۲ ^{abc}	۳/۹۸ ^{abc}	۲/۴۰ ^{abc}	۰/۴۲ ^b
Azospirillum oF	۸۶/۶۷ ^a	۴/۷۶ ^{ab}	۲/۸۹ ^a	۰/۳۵ ^b
R159	۷۳/۳۳ ^{abc}	۳/۹۹ ^{abc}	۲/۴۴ ^{abc}	۰/۴۴ ^b
P10	۷۶ ^{abc}	۴/۱۹ ^{abc}	۲/۵۳ ^{abc}	۰/۴۰ ^b
R108	۶۲/۶۷ ^{bc}	۳/۴۲ ^{bc}	۲/۰۹ ^{bc}	۰/۵۰ ^b
R168	۷۳/۳۳ ^{abc}	۳/۹۲ ^{abc}	۲/۴۴ ^{abc}	۰/۴۱ ^b
R169	۷۰/۶۷ ^{abc}	۳/۶۵ ^{abc}	۲/۳۶ ^{abc}	۰/۴۳ ^b
Azotobacter 5	۱۴/۶۷ ^d	۰/۵۹ ^d	۰/۴۹ ^d	۲/۰۸ ^a
F21	۶۹/۳۳ ^{abc}	۴/۱۰ ^{abc}	۲/۳۱ ^{abc}	۰/۴۹ ^b
R153	۸۲/۶۷ ^{ab}	۴/۵۵ ^{ab}	۲/۷۶ ^{ab}	۰/۳۶ ^b
R112	۸۰ ^{abc}	۴/۴۰ ^{abc}	۲/۶۷ ^{abc}	۰/۳۸ ^b
Azospirillum 21	۸۵/۳۳ ^{ab}	۵/۰۱ ^a	۲/۸۴ ^{ab}	۰/۳۵ ^b
F46	۵۸/۶۷ ^c	۳/۰۹ ^c	۱/۹۶ ^c	۰/۵۳ ^b
Hydropriming	۸۴ ^{ab}	۴/۲۲ ^{abc}	۲/۸۰ ^{ab}	۰/۳۶ ^b
Control (no prim)	۷۳/۳۳ ^{abc}	۳/۷۲ ^{abc}	۲/۴۴ ^{abc}	۰/۴۱ ^b

ستون‌های دارای حروف مشترک، تفاوت آماری معنی‌داری از نظر آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر ندارند.

اثر پرایمینگ زیستی و هورمونی بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذرهای...

سرعت جوانه‌زنی روزانه: مقایسه میانگین (جدول ۳) نشان داد که در بین تمام تیمارهای بیوپرایمینگ انجام شده، Azotobacter 5 با داشتن بالاترین سرعت جوانه‌زنی روزانه (۲/۰۸ بذر جوانه زده در یک روز) در سطح بالاتری از بقیه تیمار قرار گرفته و سایر تیمارها در یک گروه آماری قرار داشتند.

ب- پرایمینگ هورمونی: جدول تجزیه واریانس اثر پرایمینگ هورمونی بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر مریم‌گلی کبیر نشان داد که بین تیمارها در صفات درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و متوسط جوانه‌زنی روزانه در سطح احتمال ۱ درصد و در میانگین زمان جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی روزانه و ضریب سرعت جوانه‌زنی در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف آماری معنی‌داری وجود دارد (جدول ۴).

جدول ۴: نتایج تجزیه واریانس اثر پرایمینگ هورمونی بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر مریم‌گلی کبیر

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		درصد جوانه‌زنی	میانگین زمان جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	متوسط جوانه‌زنی روزانه	سرعت جوانه‌زنی روزانه
تیمار	۵	۷۵۲**	۵/۴۹*	۲/۵**	۰/۸۴**	۰/۰۷*
اشتباه	۱۲	۸۴	۱/۱۹	۰/۲	۰/۰۹	۰/۰۲
ضریب تغییرات (%)	-	۱۲/۱	۱۴/۶۸	۱۴/۷	۱۲/۱	۲۹/۲۸

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح آماری پنج و یک درصد

درصد جوانه‌زنی: مقایسه میانگین (جدول ۵) نشان داد که کیتین در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کمترین میزان درصد جوانه‌زنی (۴۵/۳۳ درصد) بذر مریم‌گلی کبیر را داشته و حتی از تیمارهای شاهد و هیدروپرایمینگ نیز کمتر بود.

میانگین زمان جوانه‌زنی: مقایسه میانگین (جدول ۵) نشان داد که کاربرد هورمون‌های جوانه‌زنی و به‌خصوص کیتین در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر موجب افزایش میانگین زمان جوانه‌زنی بذر مریم‌گلی کبیر شد.

سرعت جوانه‌زنی: مقایسه میانگین (جدول ۵) نشان داد که مصرف کم جیبرلیک‌اسید و زیاد کیتین موجب کاهش سرعت جوانه‌زنی بذر مریم‌گلی کبیر می‌شود.

متوسط جوانه‌زنی روزانه: مقایسه میانگین (جدول ۵) نشان داد که کیتین در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث کاهش متوسط جوانه‌زنی روزانه بذر شد.

سرعت جوانه‌زنی روزانه: مقایسه میانگین (جدول ۵) نشان داد که کیتین در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بالاترین میزان سرعت جوانه‌زنی روزانه بذر مریم‌گلی کبیر را داشت.

ضریب سرعت جوانه‌زنی: مقایسه میانگین (جدول ۵) نقش منفی کاربرد هورمون‌های جوانه‌زنی بذر را بر ضریب سرعت جوانه‌زنی بذر مریم‌گلی کبیر نشان داد.

جدول ۵: مقایسه میانگین شاخص‌های جوانه‌زنی بذر مریم‌گلی کبیر تحت تأثیر پرایمینگ هورمونی

تیمار	درصد جوانه‌زنی (درصد)	میانگین زمان جوانه‌زنی (روز)	سرعت جوانه‌زنی (جوانه در روز)	متوسط جوانه‌زنی روزانه (بذر جوانه زده در روز)	سرعت جوانه‌زنی روزانه (بذر جوانه زده در یک روز)	ضریب سرعت جوانه‌زنی (بذر در روز)
GA 50 ppm	۸۴/۰۰ ^a	۷/۹۸ ^{ab}	۳/۱۹ ^b	۲/۸۰ ^a	۰/۳۶ ^b	۰/۱۲۷ ^c
GA 100 ppm	۸۹/۳۳ ^a	۷/۹۷ ^{ab}	۳/۴۴ ^{ab}	۲/۹۸ ^a	۰/۳۴ ^b	۰/۱۲۷ ^c
Kin 50 ppm	۷۷/۳۳ ^a	۷/۵۴ ^{abc}	۳/۳۶ ^{ab}	۲/۵۸ ^a	۰/۳۹ ^b	۰/۱۳۳ ^{abc}
Kin 100 ppm	۴۵/۳۳ ^b	۹/۳۳ ^a	۱/۵۴ ^c	۱/۵۱ ^b	۰/۷۳ ^a	۰/۱۰۸ ^c
Hydropriming	۸۴/۰۰ ^a	۵/۶۰ ^c	۴/۲۳ ^a	۲/۸۰ ^a	۰/۳۶ ^b	۰/۱۷۹ ^a
Control (no prim)	۷۳/۳۳ ^a	۶/۱۶ ^{bc}	۳/۷۷ ^{ab}	۲/۴۴ ^a	۰/۴۱ ^b	۰/۱۷۰ ^{ab}

ستون‌های دارای حروف مشترک، تفاوت آماری معنی‌داری از نظر آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر ندارند.

GA: پرایمینگ با جیبرلیک‌اسید، Kin: پرایمینگ با کینتین، Hydropriming: پرایمینگ با آب و Control (no prim): شاهد (بدون تیمار)

نتایج و بحث

خواب و جوانه‌زنی بذرها به وسیله تعادلی که بین آبسزیک‌اسید و مواد تسهیل کننده رشد وجود دارد کنترل می‌شود و از بین رفتن مواد بازدارنده رشد و در حقیقت کاهش میزان آبسزیک‌اسید به تنهایی، منجر به تحریک جوانه‌زنی در بذر نشده و فقط به‌عنوان پیش‌نیازی برای فعال شدن تسهیل کننده‌های رشد که از بین رفتن خواب و به دنبال آن جوانه‌زنی را تنظیم می‌کنند محسوب می‌شود. از جمله این تسهیل کننده‌ها می‌توان به سیتوکینین و جیبرلین اشاره کرد (Noorafkan and Khoshkhui, 2005). باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه می‌توانند به‌صورت مستقیم یا غیرمستقیم باعث افزایش رشد گیاه شوند. سازوکارهای مستقیم شامل تثبیت نیتروژن، تولید هورمون‌های گیاهی، افزایش قابلیت فراهمی عناصر معدنی نامحلول و تولید آنزیم‌هایی چون ACC - دآمیناز است (Besharati et al., 2017). گاهی مصرف هورمون‌های مصنوعی یا خالص‌سازی شده از کشت‌های باکتریایی، اثرات مثبت آروسپریلیوم روی رشد را باعث می‌شود (Fulchieri et al., 1993). تأثیر تلقیح آروسپریلیوم می‌تواند از راه تولید اکسین یا مخلوطی از اکسین، جیبرلیک‌اسید و کینتین صورت گیرد (Besharati et al., 2017). یکی از مکانیسم‌های اصلی باکتری‌های محرک رشد گیاه، کاهش دادن میزان اتیلن گیاه از طریق تولید آنزیم ACC deaminase در مسیر تولید اتیلن می‌باشد (Penrise and Glick, 2003). تلقیح بذر گیاه با باکتری‌های محرک رشد گیاه، مقدار ACC و به دنبال آن، غلظت اتیلن را کاهش می‌دهد. اتیلن هرچند که در رشد و نمو گیاه اهمیت دارد ولی افزایش غلظت اتیلن درون‌زا در گونه‌های گیاهی می‌تواند باعث کاهش جوانه‌زنی گردد (Belimov et al., 2001). احتمالاً مقادیر زیاد ACC تولید شده با آنزیم ACC deaminase به آلفاکتوبوتیرات^۱ و آمونیاک^۲ هیدرولیز می‌شود. بنابراین موقعی که باکتری‌های محرک رشد گیاه به بذر در حال جوانه‌زنی منتقل می‌شوند ممکن است از ACC به عنوان منبع نیتروژن استفاده نمایند (Grichko and Glick, 2001).

شکست خواب بذرها، کاربرد دو گروه از هورمون‌های جیبرلینی و سیتوکینین‌ها (به تنهایی یا در ترکیب با هم) باعث کاهش تأثیر محتوای بالای آبسزیک‌اسید بافت‌های رویانی شده و جوانه‌زنی را تسریع کرد. در گیاهانی که دارای

1. α - ketobutyrate
2. Ammonia

خواب هستند هنگام تمایز رویان، مقدار سیتوکینین‌ها زیاد می‌شود و نسبت بالای جیبرلین و سیتوکینین به آبسزیک‌اسید که مهمترین بازدارنده جوانه‌زنی و رشد است، نشانه‌ای برای شروع فعالیت‌های متابولیسمی بذر برای شکست خواب، افزایش تقسیمات سلولی، تجزیه ذخایر سلولی و تحرک مواد به سمت رویان در حال تمایز است (Saboora and Shokri, 2014). یکی از دلایل اثر مثبت محرک‌های شیمیایی بر جوانه‌زنی بذور احتمالاً به دلیل به تعادل رسیدن نسبت هورمونی در بذر و کاهش مواد بازدارنده رشد می‌باشد (Mansouri and Omid, 2018). جیبرلین‌ها شامل گروهی از هورمون‌ها هستند که بیشترین دخالت مستقیم را در جوانه‌زنی بذر دارند. افزایش سنتز و آزادسازی جیبرلیک‌اسید در بذر موجب تجزیه نشاسته و تبدیل آن به مواد قابل استفاده جنین شده و جوانه‌زنی شروع می‌شود (Afzal et al., 2006). مصرف غلظت‌های بالاتر از ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر جیبرلیک‌اسید موجب افزایش جوانه‌زنی باریجه (*Ferula gummosa*) می‌شود ولی مقادیر کم جیبرلیک‌اسید تأثیری بر شکستن خواب بذر باریجه ندارد. بیشترین درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر باریجه در غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۲۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر دیده شد (Koocheki et al., 2010). میانگین زمان جوانه‌زنی با کیفیت بذر حالت عکس دارد و هر قدر کمتر باشد کیفیت بذر بیشتر است (Mansouri and Omid, 2018). کاربرد جیبرلیک‌اسید و سیتوکینین بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر گیاه باران‌طلایی تأثیر مثبت معنی‌داری نشان نداد (Noorafkan and Khoshkhui, 2005). احتمال اینکه مصرف جیبرلیک‌اسید و کیتین باعث افزایش میانگین زمان جوانه‌زنی در آزمایش حاضر شد می‌تواند ناشی از زیاد بودن هورمون‌های مؤثر در جوانه‌زنی بذر مریم گلی کبیر باشد. همچنین، اثر جیبرلیک‌اسید بر درصد جوانه‌زنی بذر ناترک^۱ تفاوت معنی‌داری با هیدروپرایمینگ نشان نداد (Pour Mombeini and Moalemi, 2016). در پژوهش دیگری روی فرایند جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه گلرنگ مشخص شد که جوانه‌زنی بذر چندان تحت تأثیر هورمون جیبرلیک‌اسید قرار نمی‌گیرد (Vajedi et al., 2011) که با نتایج این آزمایش هماهنگی دارد.

نتیجه‌گیری کلی

در بین باکتری‌های مورد استفاده در پرایمینگ زیستی، *Azotobacter* 12 موجب کاهش درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و متوسط جوانه‌زنی روزانه شد و فقط سرعت جوانه‌زنی روزانه را افزایش داد. از طرفی پرایمینگ با مواد تنظیم کننده رشد گیاهی موجب کاهش ضریب سرعت جوانه‌زنی و افزایش میانگین زمان جوانه‌زنی گردید. همچنین، کیتین در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر موجب کاهش درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و متوسط جوانه‌زنی روزانه و افزایش سرعت جوانه‌زنی روزانه شد.

References

- Afzal, I., Basra, S., Farooq, M., and Nawaz, A. 2006. Alleviation of salinity stress in spring wheat by hormonal priming with ABA, salicylic acid and ascorbic acid. *Agricultural and Biology*, 1:23-28.
- Bakhshi Khaniki, Gh. and Lari Yazdi, H. 2009. The survey of essential oils composition in *Salvia limbata* and *Salvia macrosiphon*. *Cellular and Molecular plant Biology Journal*. 4(1): 33-42.
- Besharati, H., Pashapour, Sh., and Rezazadeh, M. 2017. The evaluation of plant growth promoting rhizobacteria effect for improving soybean growth indices. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 47(4): 671-687.
- Ghani, A., Ebrahimpour, A., and Tehrani-far, A. 2010. Evaluation of growth and development adaptability and medicinal/ornamental potential of clary sage (*Salvia sclarea* L.) cultivated in Mashhad climatic conditions. *Journal of Plant Production*, 17(1): 77-90.

1. *Dodonaea viscosa*

- Ghiasi, A., Parsa, S., Hamidi, A. and Khavazi, K. 2012.** Seed priming effect on germination, Seedling Vigour Index and colony forming unit per grain of Wheat (*Triticum aestivum*). Journal of Seed Research, 2(1): 25-38.
- Hoogenboom, G., and Peterson, C.M. 1987.** Shoot growth rate of soybean as affected by drought stress. Agronomy Journal, 79(4): 598-607.
- ISTA. 2009.** International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association, Switzerland.
- Jafarinia, M., and Hadi, M.R. 2015.** Effect of biopriming on seed germination indices of two low n cultivare. Journal of Seed Research, 5(1): 1-12.
- Khosravi, H., Yakhchali, B., and Alikhani, H.A. 2000.** Potential evaluatin of some native rhizobia as plant growth promoting bacteria and thir role in decreasing of stress ethylene. Iranian Journal of Biology. 22(4): 661-670.
- Koocheki, A., Nassiri Mahallati, M., Azizi G., and Khazaei H.R.. 2010.** Feasibility study for domestication of *Teucrium polium* L. based on ecological agriculture. Iranian Journal of Filed Crops Research. 6(2): 395-404.
- Koornneef, M., bentsink, L. and Hilhorst, H. 2002.** Seed dormancy and germination. Current Opinion in plant Biology, 5(1): 33-36.
- Kulkarni, M.G., Street R.A., and Van Staden, J. 2007.** Germination and seedling growth requirements for propagation of *Dioscorea dregeana* (Kunth) Dur. and Schinz— a tuberous medicinal plant. South African Journal of Botany, 73(1): 131-137.
- Mahmoodzadeh Ardahaei, B.S., Aliabadi Farahani, H., Farahvash, F., and Hassanpour Darvishi, H. 2010.** Effect of hydroperiming on emergence of seedling in seeds of sunflower cultivars. 2(4): 355-366.
- Makkizadeh Tafti, M., Farhoudi, M., Rastifar, M., and Sadat Asilan, K. 2012.** Methods of breaking seed dormancy in Caper (*Capparis spinosa* L.). Iranian journal of Range and Desert Reseach, 18(4):569-577.
- Mansouri, A., and Omid, H. 2018.** Effects of potassium nitrate on germination indices of green basil (*Ocimum basilicum* L.) under water deficit stress. Journal of Seed Research, 8(2): 20-28.
- Nabaei, M., Roshandel, P. and Mohammadkhani, A. 2011.** Effective techniques to break seed dormancy and stimulate seed germination in *Rheum ribes* L.. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 27(2): 212-223.
- Nadjafi, F., Bannayan, M., Tabrizi, L., and Rastgoo, M. 2006.** Seed germination and dormancy breaking techniques for *Ferula gummosa* and *Teucrium polium*. Journal of Arid Environments, 64(3):542-547.
- Noorafkan, H and Khoshkhui, M. 2005.** Investigations on sexual propagation of golden rain (*Koelreuteria paniculata* Laxm.) and chinese rain (*K. elegans* Seem.) trees. Iranian Journal of Horticultural Science and Technology, 6(2): 89-98.
- Omidbaigi, R. 2005.** Production and Processing of Medicinal Plants. Vol. 2. Astane Gods-e Razavi publication: Mashhad, Iran.
- Panwar, P., and Bhardwaj, S.D. 2005.** Handbook of practical forestry, Agrobios Publication, India, 191 pp.
- Pour Mombeini, S., and Moalemi, N. 2016.** Effect of hydro and osmo-priming in combination with GA₃ and KNO₃ on seed germination of *Dodonaea viscosa* under salinity conditions. Journal of Horticultural Science, 30(1): 102-111.
- Saboora, A., and Shokri, M. 2014.** Effect of plant growth regulators on in vitro germination and micropropagation of Brazmbl (*Perovskia abrotanoides*), a medicinal plant. Iranian journal of Plant biology, 5(18): 95-114.
- Shekari, F., Baljani, R., Saba, J., Afsahi, K., and Shekari, F. 2010.** Effect of seed priming with salicylic acid on growth characteristics of borage plants (*Borago officinalis*) seedlings. Agroecology Journal 6(1): 47-53.
- Stephanie, E.B., Svoboda, V.P., Paul, A.T., and Marc, W.V.I. 2005.** Controlled drought affects morphology and anatomy of *Salvia solendens*. Horticultural Society, 130(5): 775-781.
- Tamjidi, A. 2009.** Evaluation of seed pre-treatment effect on germination indices of several crops. MSc. Thesis. Agronomy department, Islamic Azad University - Miyaneh branch. Miyaneh, Iran.
- Vajedi, S.J., Eradatmandasli, D., and Mohammadiachi, R. 2011.** Investigation of GA₃ effects on seed *Carthamus tinctorius* germination and seedling growth of under drought stress. 6th National Conference on New Ideas in Agriculture. Islamic Azad University – Khurasgan Branch.

Effect of bio and hormonal priming on seed germination indices of clary sage (*Salvia sclarea* L.)

Nourafcan, H.^{1*}, Naseri, F.²

¹Department of Horticulture, College of Agriculture, Miyaneh branch, Islamic Azad University, Miyaneh, Iran

²M.Sc. Student, Department of Horticulture, College of Agriculture, Miyaneh branch, Islamic Azad University, Miyaneh, Iran

Abstract

Seed priming is a technique in which seeds are physiologically and biochemically prepared to germinate prior to planting and facing with environmental conditions. In this way, two separate experiments were carried out to evaluate the effect of priming of clary sage seeds with plant growth promoting bacteria and plant growth regulators as a completely randomized design with three replications in the Horticultural Sciences Laboratory at Islamic Azad University, Miyaneh Branch, Miyaneh, Iran in 2015. Biopriming treatments including 15 types of PGPRs belonged to *Herbaspirillum*, *Azotobacter-12*, *Azospirillum*, *Flavobacterium* and *Pseudomonas* genera and hormonal priming including gibberellic acid and kintin at concentrations of 50 and 100 ppm along with hydroperiming and control (no priming) treatments. Twenty five primed seeds were placed in each petri dishes containing filter paper and seed germination numbers were recorded every other day. Results showed that biopriming affected on all traits except mean germination time (MGT) and coefficient of velocity of germination (CVG). Biopriming with *Azotobacter-12* reduced germination percentage (GP), germination speed (GS) and mean daily germination (MDG) and only increased daily germination speed (DGS). In hormonal priming, all germination indices were affected by treatments and application of growth regulators reduced CVG and increased MGT. Also, kinetin at 100 ppm concentration reduced GP, GS and MDG and only increased DGS.

Keywords: *Azotobacter*, Biopriming, Germination, Gibberellic acid, Kinetin.

*Corresponding author; hassannourafcan@gmail.com