

اثر پیش تیمار شیمیایی بر تنژگی بذر و قدرت رشد دانهال گوجه‌فرنگی در تنش

شوری^۱

Effect of Chemical Seed Priming on Seed Germination and Seedling Vigor of Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) under Salinity Stress

فرهاد شریفی، علیرضا افشاریفر و علی نیازی^{۲*}

چکیده

شوری از جمله عامل‌های محدود کننده کشاورزی در بسیاری از مناطق دنیا است. در این پژوهش به منظور پیش تیمار بذر گوجه فرنگی از ماده‌های شیمیایی ارزان و مناسب شامل کلراید کلسیم، کلراید سدیم، نیترات پتاسیم، کیتوزان و منادیون سدیم بی سولفات (MSB)، استفاده شد. سپس، تیمار شوری شامل سه سطح شوری ۲/۲، ۴ و ۸ دسی زیمنس بر متر اعمال شد. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با هدف بررسی پیش تیمارهای شیمیایی بر کاهش اثر شوری بر بنیه بذر و استقرار گیاهچه‌ها استفاده شد. نتیجه‌ها نشان داد که در شرایط تنش شوری، به ترتیب پیش تیمارهای ۵۰ میلی‌مولار کلراید کلسیم، MSB ۳۰ میلی‌مولار، کیتوزان ۰/۶ درصد وزنی حجمی، کیتوزان ۰/۴ درصد وزنی حجمی به ترتیب منجر به افزایش ۳۷/۵۱ درصد، ۳۶/۷۴ درصد، ۳۵/۶۸ درصد و ۲۷ درصد مجموع وزن تر و خشک ساقه و ریشه شدند. از سوی دیگر افزایش سطح‌های شوری اثرهای منفی معنی‌داری بر وزن تر و خشک ساقه و ریشه و شاخص‌های تنژگی شامل سرعت تنژگی، نرخ شاخص تنژگی، ضریب سرعت تنژگی و میانگین مدت زمان تنژگی داشت. در شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر، کاهش ۶۸/۴۱ و ۸۳/۴۶ درصد و در شوری ۸، کاهش ۸۴/۲۴ و ۹۶/۳۸ درصد به ترتیب در وزن تر ساقه و ریشه نسبت به شوری ۲/۲ مشاهده شد. در نهایت، غلظت ۵۰ میلی‌مولار کلراید کلسیم بهترین نتیجه را نشان داد. این نتیجه‌ها به احتمال، به دلیل کوتاه شدن زمان لازم برای بیدار شدن نهایی اندوسپرم، افزایش توانایی روپان در گرفتن آب، تغییر در مقدار قند، ترکیب‌های آلی و یون‌های تجمع یافته در بذر است که موجب سرعت بیشتر در تنژگی و نیز مقاومت بیشتر آن به شرایط نامساعد شده است.

واژه‌های کلیدی: پیش تیمار بذر، شوری، گوجه‌فرنگی.

مقدمه

شوری از جمله عامل‌های محدودکننده کشاورزی در بسیاری از مناطق دنیا است که به‌خاطر استفاده از آب‌های نامتعارف، سطح و مقدار آن رو به افزایش است. براساس آمار فائو (۲۰۱۲)، بیش از ۸۰۰ میلیون هکتار از زمین‌های دنیا زیر تاثیر شوری است که ۳۹۷ میلیون هکتار شور و ۴۳۴ میلیون هکتار سدیمی هستند (۱۱). تنش شوری سه تاثیر مضر به هم پیوسته دارد که شامل کاهش پتانسیل آب، برهم خوردن تعادل یونی و مسمومیت یونی می‌باشد (۱۰، ۲۴). هم‌چنین در گیاهان، ویژگی‌های مهمی مانند تنژگی، نسبت وزن خشک ریشه به ساقه و نسبت Na^+/K^+ در ریشه و ساقه زیر اثرهای منفی آن هستند در شرایط شوری در بسیاری از گونه‌های گیاهی مدت زمان مورد نیاز برای تنژگی افزایش می‌یابد (۱۸). از سویی، پژوهش‌ها نشان می‌دهند گیاهانی که در مرحله تنژگی و گیاهچه نسبت به شوری تحمل داشته‌اند در مرحله بلوغ نیز این تحمل را نشان داده‌اند (۲۴).

تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۲/۲۱

تاریخ دریافت: ۹۷/۹/۱۴

۲- به ترتیب دانشجوی پیشین دکتری زیست‌فناوری پردیس بین الملل دانشگاه شیراز، استاد پژوهشکده ویروس شناسی گیاهی و استاد پژوهشکده زیست فناوری دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (niazi@shirazu.ac.ir).

۳- *Solanum lycopersicum*

یکی از محصولات مهم در بخش کشاورزی، گوجه‌فرنگی^۳ است که امروزه تولید آن در سراسر جهان گسترش یافته است و در ایران نیز تولید آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (جدول ۱).

جدول ۱- سطح زیر کشت و مقدار تولید گوجه‌فرنگی در ایران و استان فارس (۱۳۹۶)*.

Table 1. Cultivated area and tomato production in Iran and Fars province (2017)*

نوع کشت						
Cultivation type						
گلخانه‌ای			فضای آزاد			
Greenhouse			Farm			
تولید کل	عملکرد	سطح زیر کشت	تولید کل	عملکرد	سطح زیر کشت	تولید کل
Total production (kg)	Yield (kg hr-1)	Area under cultivation (hr)	Total production (kg)	Yield (kg hr-1)	Area under cultivation (hr)	Total production (kg)
استان						
فارس	۱۶	213125	3410000	16134	55369	893316
Fars province						
ایران	۷۸۲/۹	278402	217968.3	125531	42617	5349705
Iran						

*: برگرفته از آمارنامه کشاورزی (۱ و ۲).

بر اساس گزارش Hughes و De La Peña (۱۰)، در میان سبزی‌ها، گوجه‌فرنگی دارای حساسیت میانه به شوری است. بیشتر رقم‌های تجاری این محصول نسبت به سطح‌های متوسط شوری (حدود ۲/۵ دسی زیمنس بر متر) متحمل هستند و کاهش عملکرد چشمگیری نشان نمی‌دهند. ولی در سطح‌های بالاتر به ازای افزایش هر واحد شوری، حدود ۱۰٪ کاهش در محصول گوجه‌فرنگی مشاهده شد. تیمارهای کلرور سدیم ۱٪، کلرور سدیم ۳٪ و محلول هوگلند، باعث افزایش اثرهای منفی شوری روی مقدار تنژگی، سرعت تنژگی، وزن خشک و نسبت Na^+/K^+ در ریشه و ساقه در گوجه‌فرنگی شد (۲۴).

یکی از راهکارهای ساده و عملی برای کاهش این اثرها، پیش‌تیمار بذر است. پیش‌تیمار بذر یک استراتژی پیش از کاشت است که بر تنژگی و گسترش گیاهچه‌ها از راه تنظیم فعالیت‌های متابولیکی قبل از تنژگی، پیدایش ریشه‌چه و به‌طور کلی افزایش سرعت تنژگی و عملکرد گیاه موثر است. در جریان پیش‌تیمار، بذر در ماده‌هایی با پتانسیل اسمزی بالا غوطه‌ور شدند که یک سری واکنش‌های متابولیکی مورد نیاز در تنژگی را (بدون نیاز به فراهم کردن شرایط تنژگی) فراهم می‌نماید و باعث جلوگیری از جذب آب مورد نیاز برای رشد ریشه‌چه توسط بذر شد. بنابراین بذر در مرحله تاخیر (عقب ماندن) متوقف شد (۶ و ۱۲). پیش‌تیمار، فاصله زمانی بین کاشت بذر و تنژگی را کاهش می‌دهد و تنژگی مطلوبی را به دنبال دارد (۲۵). همچنین عملکرد بذر در شرایط دمایی زیر نرمال را افزایش داده، محدوده دمایی بهینه بذر را گسترش می‌دهد و در نهایت موجب افزایش رشد گیاهچه‌ها در هوای سرد می‌گردد (۱۳).

پیش‌تیمار، به‌عنوان یک فناوری ارزان، باعث افزایش تنژگی و بنیه گیاهچه‌ها، تسریع در رشد گیاهچه‌ها و افزایش قدرت استقرار گیاه شد. این روش ساده، ارزان و راحت بوده که در مزارع نیز باعث جلب اعتماد کشاورزان شده و معاش آن‌ها را ارتقا می‌بخشد. بنابراین توسعه کاشت، کاهش کل زمان داشت و تولید محصول بالاتر را به دنبال خواهد داشت و می‌تواند در شرایط تنش و همچنین وضعیت مطلوب استفاده شود (۲۴). پیش‌تیمار اسمزی به صورت تجاری برای افزایش تنژگی و بنیه گیاهچه‌ها

استفاده شد. این روش امتیازهای زیادی از جمله تنژگی همزمان و سریع را به دنبال دارد و استقرار را در شرایط مختلف اقلیم و خاک بهبود می بخشد (۱۲). پیش تیمار اسمزی در بذرهای گوجه فرنگی باعث افزایش فعالیت اندوبتاماناز^۲ در کلاهک اندوسپرم شد و افزایش چشمگیری در تنژگی، طول ریشه و استقرار گیاهچه را به دنبال دارد (۲۲).

پیش تیمار با آب در دمای ۱۵ درجه سلسیوس نیز یک روش مفید برای گسترش تنژگی بذر و توسعه گیاهچه گوجه فرنگی است و فعالیت های آنزیمی را افزایش می دهد (۱۷). بررسی های Harris و همکاران ۱۹۹۹ (۱۱) نشان می دهد که تنژیدن زود هنگام و بلوغ در اثر پیش تیمار، می تواند به علت توسعه شرایط سوخت و سازی گیاه باشد. تغییرهای شیمیایی در جریان آب گیری بذر شامل یک سری جریان های زیست شیمیایی مانند شکسته شدن و انتقال ماده های ذخیره ای، به ویژه از اندوسپرم به قسمت های در حال رشد رویان و ساخت ماده های جدید مورد نیاز در آن قسمت می باشد. در سال ۱۹۹۹، Musa و همکاران (۱۶) بیان داشتند که بر اساس نتیجه های به دست آمده در کشتزارهای بنگلادش با خاک حاوی رس بالا، پیش تیمار با آب بذرهای نخود به مدت ۸ ساعت باعث توسعه استقرار گیاهان و تنژگی مناسب آنها شده است. تنژگی بین یک تا سه روز سریع تر اتفاق افتاد و به مقدار قابل توجهی رشد، بنیه گیاهچه ها و استقرار ابتدایی گیاه افزایش یافت. افزون بر ۴۷٪ افزایش محصول، در تمامی فاکتورهای محصول تاثیرهای مثبت مشاهده گردید.

نتیجه های بررسی های Rinku و همکاران (۲۱) نشان می دهد که پیش تیمار بذرهای گوجه فرنگی در آب به صورت پیش تیمار با آب و در عصاره جلبک دریایی به عنوان پیش تیمار زیستی باعث شده است که درصد تنژگی، شاخص تنژگی، میانگین مدت زمان تنژگی، طول ریشه چه، طول ساقه چه و همچنین استقرار گیاهچه ها بهبود یابد. همچنین پیشنهاد شده است که پیش تیمار زیستی نسبت به پیش تیمار با آب اثرهای مثبت بیشتری داشته است. پیش تیمار بذرهای گوجه فرنگی با خیساندن بذرها در محلول پلی اتیلن گلیکول (PEG) ۶۰۰۰ با هوادهی مداوم (روش پیش تیمار اسمزی) و در ورمی کولایت مرطوب به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و در چهار سطح دمایی مختلف (۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درجه سلسیوس)، باعث بهبود مقدار و سرعت تنژگی بذرهای گوجه فرنگی حتی در دماهای غیر بهینه شده است. در دماهای ۱۰ و ۱۵ درجه سلسیوس، میانگین تنژگی در بذرهای تیمار شده به روش هیدراسیون و پیش تیمار اسمزی به طور معنی داری بهتر از بذرهای شاهد بدون پیش تیمار بوده است (۳). از آن جا که ماده های عمومی پیش تیمار مانند پلی اتیلن گلیکول به علت گرانی به ویژه در کشورهای در حال توسعه قابل استفاده نیستند (۱۵)، استفاده از ماده های ارزان و در دسترس، شامل کیتوزان، کلراید کلسیم، نترات پتاسیم و منادیون سدیم بی سولفات^۲ در این پژوهش مد نظر بود.

کیتوزان یک پلی ساکارید کاتیونی با مولکول درشت است که از پروسه های فراوری موجودهای دریایی به دست می آید. تیمار بذرهای گندم با کیتوزان باعث افزایش مقاومت به بیماری های مهم و افزایش کیفیت بذرها شد (۲۲). بذرهای بادام زمینی که در کیتوزان غوطه ور شده اند، در قدرت تنژگی، درصد تنژگی، عملکرد لیپاز، عملکرد جیبرلیک اسید و سطح ایندول استیک اسید افزایش نشان دادند (۲۳). نترات پتاسیم نیز یک ترکیب مناسب برای پیش تیمار بذرها است. نترات پتاسیم باعث افزایش شاخص بنیه گیاهچه ها، وزن تر و خشک ریشه ذرت و مقدار محصول در غلظت ۲ و ۵٪ به مدت ۱۲ و ۱۸ ساعت شد، همچنین افزایش شاخص بنیه گیاهچه ها را نیز به دنبال داشت (۴). کلراید کلسیم (CaCl₂)، نترات پتاسیم و کلرور سدیم از جمله ماده های فراوان و ارزان پر کاربرد در پیش تیمار می باشند (۲۵). پیش تیمار با کلراید کلسیم، کمیت و کیفیت تنژگی را از طریق اثر بر هدایت الکتریکی در گندم تغییر داد (۲۲). استفاده از کلراید کلسیم و کلرور سدیم برای پیش تیمار بذرهای گشنیز (*Coriandrum sativum*) در انگیزش تحمل به شوری مناسب گزارش شد (۷).

یک ترکیب قابل حل در آب، (MSB) Menadion Sodium Bisulphite می باشد که پیش ساز ویتامین K3 است و از قارچ ها و گیاهان گلدار جدا شد. این ترکیب یک اکسید کننده قوی است که به طور وسیعی در بررسی های اکسیداسیون در پستانداران، گیاهان، قارچ ها و باکتری ها استفاده شد (۹). روی کاربرد بذر MSB تلاش های زیادی انجام شده است (۶). این ماده روی

تنش‌های غیرزنده، از جمله تنش سرما در گیاهچه ذرت تاثیر مثبت داشته و کاربرد آن به صورت پیش‌ تیمار بذر باعث افزایش تحمل گیاهچه‌های ذرت به سرما شد (۱۹).

مدیریت تنش شوری با استفاده از روش‌های ساده و ارزان شبیه پیش‌ تیمار بذرامری اجتناب‌ناپذیر است. پژوهش حاضر بر اساس این فرضیه که پیش‌ تیمار بذر گوجه‌فرنگی می‌تواند به‌عنوان یک روش ارزان و ساده، کارایی استفاده از آب‌های شور و نامتعارف را بهبود بخشیده و در تولید این محصول مهم مفید باشد، پیشنهاد و اجرا شد. در انتخاب سطح‌های شوری و ماده‌های شیمیایی پیش‌ تیمار، وضعیت کلی تولید و امکان بهره‌گیری کشاورزان از نتیجه‌ها مد نظر بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در آزمایشگاه بخش زیست‌فناوری و گلخانه پژوهشکده ویروس‌شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی شامل ۱۶ تیمار و سه سطح شوری آب شامل ۲/۲، ۴ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر و سه تکرار اجرا شده است. بذرها F_1 گوجه‌فرنگی رقم ماریانا از نمایندگی معتبر خریداری گردید. بذرها با محلول ۱٪ هیپوکلراید سدیم به مدت ۱۵ دقیقه گندزدایی شد و سپس با آب دو بار تقطیر سه بار آبشویی شدند. بذرها به مدت ۲۴ ساعت در محلول‌های نمک کلراید کلسیم، کلرور سدیم و نیترات پتاسیم با غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار و غلظت‌های ۳۰، ۲۰ و ۱۰ میلی مولار MSB و به مدت ۶ ساعت در محلول‌هایی با غلظت‌های ۲/۲، ۴/۰ و ۶/۰ درصد وزن به حجم کیتوزان در دمای ۲۵ درجه سلسیوس پیش‌ تیمار شدند (۵، ۱۰، ۱۸، ۲۳) و از بذرها پیش‌ تیمار نشده به‌عنوان شاهد استفاده شد.

جدول ۲- محلول‌های شیمیایی به کار رفته برای پیش‌ تیمار بذرها و گوجه‌فرنگی و مدت زمان غوطه‌وری بذرها.

Table 2. Chemical solutions used for tomato seed priming and duration of seeds soaking.

مدت زمان غوطه‌وری	مدت زمان غوطه‌وری	مدت زمان غوطه‌وری	مدت زمان غوطه‌وری
Duration of seed soaking (h)	Duration of seed soaking (h)	Duration of seed soaking (h)	Duration of seed soaking (h)
Priming solution	Priming solution	Priming solution	Priming solution
CaCl ₂ (100 mM)	24	KNO ₃ (25 mM)	24
CaCl ₂ (50 mM)	24	Control(Distilled water)	24
CaCl ₂ (25 mM)	24	MSB(30 mM)	24
NaCl(100 mM)	24	MSB(20 mM)	24
NaCl(50 mM)	24	MSB(10 mM)	24
NaCl(25 mM)	24	Chitosan (0.6% w/v)	6
KNO ₃ (100 mM)	24	Chitosan (0.4% w/v)	6
KNO ₃ (50 mM)	24	Chitosan (0.2% w/v)	6

در ادامه، بذرها با استفاده از کاغذ صافی آب‌گیری شدند. همه بذرها تیمار شده پس از آب‌گیری اولیه، به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفته و به‌طور کامل خشک شدند. برای اعمال تیمار شوری، با توجه به نبودن فرمول مرجع و ضرایب ثابت برای تعیین نسبت نمک به آب در تهیه محلول شور، محلول‌های مورد نیاز با روش آزمون و خطا تهیه گردید. در ابتدا مقدار هدایت الکتریکی آب مورد استفاده در گلخانه‌های دانشکده کشاورزی سه بار اندازه‌گیری شد که نتیجه‌های شبیه به هم و برابر ۲/۲ دسی‌زیمنس بر متر به دست آمده و به‌عنوان تیمار اول منظور شد. برای تهیه محلول‌های ۴ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر، مقدارهای مشخص کلرور سدیم با درصد خلوص ۹۹/۹۹ به ۱۰۰ میلی‌لیتر آب (شوری ۲/۲ دسی‌زیمنس بر متر) افزوده شده و با استفاده از شیکر، نمک به‌طور کامل در آب حل شد و محلول یکنواخت به دست آمد. هدایت الکتریکی محلول به دست آمده اندازه‌گیری شد و این عمل تا زمان رسیدن به محلول مورد نظر تکرار شد. مقدار ۳/۳۳۵ گرم در لیتر برای شوری ۴

و ۵/۱۳۳ گرم برای تهیه محلول شور ۸ دسی‌زیمنس بر متر ثبت و مورد استفاده قرار گرفت. در ادامه، برای بررسی فاکتورهای تنژگی، تعداد ۱۰ بذر از هر گروه، به صورت جداگانه با دو لایه کاغذ صافی پوشانده شده و تا زمان پیدایش ریشه‌چه در تشتک‌های آزمایشگاهی با قطر نه سانتی متر نگهداری شدند. در این مرحله، شوری با استفاده از آب شور بر اساس تیمارهای آزمایش، اعمال شد. به هر تشتک ۵ میلی لیتر از محلول شور مربوط به تیمار مورد نظر افزوده شد. بذرهای طوری روی کاغذ صافی قرار گرفتند که ضمن مرطوب ماندن غوطه ور نشوند. تشتک‌ها تا آخرین مرحله آزمایش با تیمار مربوطه، به صورت یکسان مرطوب نگه‌داشته شدند. تشتک‌ها در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری و به صورت روزانه بازدید و مقدار تنژگی یادداشت‌برداری شد. یادداشت برداری تا ۱۰ روز بعد از مشاهده اولین تنژگی ادامه یافت. برای جلوگیری از آسیب ریشه‌چه، بذرهای تنژیده بی‌درنگ (در روز تنژگی) به گلدان‌ها منتقل شده و تاریخ کاشت یادداشت شد. محیط کشت گلدان‌ها از خاک رس، ماسه، پودر زغال، پرلاپت و کود حیوانی تهیه و گندزدایی شدند. اولین آبیاری پیش از کاشت گلدان‌ها و با استفاده از محلول شور برای هر تیمار برای آماده سازی و ایجاد تراکم مورد نیاز و آماده‌سازی بستر بذر انجام شد. دومین آبیاری بی‌درنگ بعد از کاشت و بعد از آن، هر چهار روز یکبار با ۴۰ میلی‌لیتر محلول شور انجام شد. برای به کمینه رساندن خطای آزمایش، ضمن حفظ شرایط یکسان (دمای ۲۵ درجه سلسیوس و ۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی) در گلخانه، ۴ هفته بعد از کاشت (۱۷)، هر گلدان به صورت جداگانه برداشت شد. ابتدا ریشه‌ها در تشت آب به‌طور کامل شسته و در نهایت در زیر آب شیر به‌طور کامل تمیز شدند. بعد از آن به مدت یک ساعت در صافی‌های پلاستیکی در دمای اتاق نگهداری شد تا آب حاصل از شستشو به‌طور کامل خشک شود. پس از خشک شدن آب اضافی، وزن تر ریشه و ساقه اندازه‌گیری و برای تعیین وزن خشک، نمونه‌ها در آون با دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت نگهداری و به‌طور کامل خشک شدند. وزن خشک ریشه و ساقه اندازه‌گیری و یادداشت شد. داده‌ها با استفاده از نرم افزار GenStat واکاوی و نتیجه‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

بر اساس بررسی‌ها، ضریب سرعت تنژگی^۱ (CVG)، شاخص تنژگی^۲ (GI)، نرخ شاخص تنژگی، (GRI)^۳ و میانگین مدت زمان تنژگی^۴ (MGT) بر اساس فرمول‌های ارائه شده توسط ابراهیمی و همکاران (۱۲) محاسبه گردید.

$$CVG = 100 \times (\sum Ni) / (\sum NiTi)$$

Ni: تعداد بذرهای جوانه زده در هر روز و Ti عدد روز شمارش).

$$GI = (7 \times N1) + (6 \times N2) + \dots + (1 \times N7)$$

N1 و N2 و... تعداد بذرهای جوانه زده در روز اول، دوم و ...)

$$GRI = \frac{G1}{1} + \frac{G2}{2} + \dots + \frac{Gx}{x}$$

G1: درصد تنژگی در روز اول و G2 درصد تنژگی در روز دوم).

$$MGT^2 = \frac{\sum DN}{\sum N}$$

N: تعداد بذرهای جوانه زده در روز D ام و D تعداد روز از آغاز جوانه زنی می باشد).

نتایج و بحث

نتیجه‌های حاصل از تجزیه واریانس اثرهای شوری، پیش تیمار و برهمکنش شوری و پیش تیمار بر تنژگی بذرهای گیاهچه‌ها بررسی شد. ضریب سرعت تنژگی (CVG)، شاخص تنژگی (GI)، نرخ شاخص تنژگی (GRI)، میانگین مدت زمان تنژگی (MGT) و همچنین مؤلفه‌های رشد شامل وزن تر ساقه، وزن خشک ساقه، وزن تر ریشه و وزن خشک ریشه بیانگر تاثیر متفاوت و اختلاف معنی‌دار تیمارها می‌باشد.

در بررسی سطوح‌های مختلف شوری بدون در نظر گرفتن نوع پیش تیمارها، مشاهده شد که با افزایش شوری، به‌طور معنی‌داری از مقدار رشد بوته‌ها و وزن تر و خشک ساقه و ریشه کم شد و اختلاف معنی‌داری در بین سطوح‌های شوری وجود دارد. در شوری

۱- Germination Rate Index -۳

۲- Germination Index -۲

۳- Coefficient of Velocity of Germination -۱

۴- Median Germination Time -۴

۴ دسی‌زیمنس بر متر کاهش ۶۸/۴۱ و ۸۳/۴۶٪ و در شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر کاهش ۸۴/۲۴ و ۹۶/۳۸٪ به‌ترتیب در وزن تر ساقه و ریشه نسبت به شوری ۲/۲ مشاهده شده است. هم‌چنین ۶۳/۳۶ و ۸۰/۶۱٪ کاهش وزن خشک ساقه و ریشه در شوری ۴ و مقدار ۸۳/۱۶ و ۹۶/۰۸٪ کاهش وزن خشک ساقه و ریشه در شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر نسبت به شوری ۲/۲ مشاهده شد که این تفاوت‌ها در سطح ۱٪ معنی‌دار بود (شکل ۱). این موضوع می‌تواند حاصل اثرهای منفی و بی‌شمار شوری بر تنژگی و رشد گیاهان باشد که از آن جمله می‌توان اختلال در تنژگی، به‌هم خوردن نسبت وزن خشک ریشه به ساقه و نسبت Na^+/K^+ در ریشه و ساقه، افزایش مدت زمان مورد نیاز برای تنژگی، کاهش پتانسیل آب، برهم خوردن تعادل یونی و مسمومیت یونی (۲۴) را نام برد.

در بررسی اثرهای شوری بر فاکتورهای تنژگی مشاهده شد که چهار فاکتور اصلی شامل سرعت تنژگی، شاخص تنژگی، نرخ شاخص تنژگی و میانگین مدت زمان تنژگی بذرها زیر اثرهای منفی شوری بوده است. بیشترین تأثیر منفی مربوط به GRI به مقدار ۶۲/۰۴٪ در شوری ۸ نسبت به ۲/۲ و بعد از آن GI به نسبت ۵۱/۳۷٪ مشاهده شده است که در سطح ۱٪ معنی‌دار بوده است. کمترین اثرهای منفی مربوط به CVG و MGT به‌ترتیب به مقدار ۱۸/۷۴ و ۲۰/۳۶٪ در شوری ۴ نسبت به ۲/۲ اتفاق افتاده است که در سطح ۵٪ معنی‌دار بود. تفاوت بین سطح‌های شوری ۴ و ۸ در مورد GI و GRI در سطح ۵٪ معنی‌دار ولی در خصوص CVG و MGT این اختلاف معنی‌دار نبود.

بررسی اثرهای تیمارهای روی وزن تر و وزن خشک ساقه و ریشه بدون در نظر گرفتن تأثیر شوری، نشان می‌دهد که در وزن تر و خشک ساقه، تیمارهای ۳۰ میلی‌مولار MSB، میزان ۳۶/۱۰، درصد وزنی حجمی کیتوزان، ۳۱/۹۸، ۵۰ میلی‌مولار کلراید کلسیم، ۳۱/۷۷ و ۰/۴ درصد وزنی حجمی کیتوزان، ۲۲/۱۶ درصد افزایش نشان دادند. در وزن تر و خشک ریشه، تیمارهای: ۵۰ میلی‌مولار کلراید کلسیم، به‌میزان ۴۰/۶۹، ۰/۶ درصد وزنی حجمی کیتوزان، ۳۵/۶۳، ۳۰ میلی‌مولار MSB، ۳۹/۰۵ و ۰/۴ درصد وزنی حجمی کیتوزان، ۲۷/۷۴ درصد و در کل وزن تر و خشک ساقه و ریشه تیمارهای: ۵۰ میلی‌مولار کلراید کلسیم، ۳۰ میلی‌مولار MSB، ۰/۶ درصد وزنی حجمی کیتوزان و ۰/۴ درصد وزنی حجمی کیتوزان، نسبت به شاهد میانگین بالاتری داشتند و در سطح ۵٪ معنی‌دار بودند (شکل ۱). مجموع نتیجه‌های به دست آمده از سرعت تنژگی، شاخص تنژگی و نرخ شاخص تنژگی نشان می‌دهد که بهترین نتیجه‌ها مربوط به کیتوزان ۰/۲ درصد وزنی حجمی (W/V)، کیتوزان ۰/۴ درصد وزنی حجمی، KNO_3 (25 mM)، کیتوزان ۰/۴ درصد وزنی حجمی، $(CaCl_2$ (50 mM)، KNO_3 (50 mM)، MSB (10 mM)، MSB (20 mM) و MSB (30 mM) بود که بالاتر از شاهد قرار گرفتند (شکل‌های ۱ و ۲).

این نتیجه‌ها منطبق با بررسی‌های برخی پژوهشگران از جمله Li و همکاران (۱۶) است. پیش‌تیمار بذرها ذرت با کیتوزان باعث افزایش تنژگی و رشد گیاهچه‌ها در تنش سرما شده است. این تأثیر به‌دلیل کم شدن نفوذپذیری غشا در دمای پایین است که در نهایت کاهش خسارت در گیاهچه‌ها را به دنبال داشته است و این موضوع شبیه پوشش بذرها با ماده‌های ضد سرما می‌باشد. کیتوزان یک پلی ساکارید کاتیونی با مولکول درشت است که از پروسه‌های فرآوری غذاهای دریایی به‌دست می‌آید. تیمار بذرها گندم با کیتوزان باعث افزایش مقاومت به بیماری‌های مهم و افزایش کیفیت بذرها شده است (۲۸). بذرها بادام‌زمینی که در کیتوزان غوطه‌ور شده‌اند، در قدرت تنژگی، درصد تنژگی، عملکرد لیپاز، عملکرد جیبرلیک اسید (GA3) و سطح ایندول استیک اسید افزایش نشان داده‌اند (۳۰). هم‌چنین زمانی که از کیتوزان به عنوان پوشش بذر برای افزایش ماندگاری و تنژگی بذرهاى برنج استفاده شده است، در غلظت ۵۰ تا ۱۵۰ قسمت در میلیون تأثیر معنی‌دار داشته و در غلظت ۵۰ قسمت بر میلیون بیشترین اثر را داشته است. گزارش Benhamou و همکاران (۶) نشان داد که پیش‌تیمار بذر با کیتوزان باعث افزایش مقاومت سیستمیک به فوزاریوم و پوسیدگی ریشه شد. نیترات پتاسیم نیز یک ترکیب مناسب برای پیش‌تیمار بذرها است. نیترات می‌تواند جذب شده و در سوخت‌وساز رویان از راه آنزیم نیترات رداکتاز (NR) تأثیر نماید و هم‌چنین پاسخ سیستم آنتی اکسیدان را فعال نماید. (۳۳). پیش‌تیمار بذرهاى آفتاب‌گردان با غلظت ۶ گرم بر لیتر KNO_3 ، روی تنژگی دو واریته سویا در مقابل تنش شوری در سه سطح شوری صفر، ۴ و ۸ دسی‌زیمنس اثر مثبت داشتند. پیش‌تیمار بذرهاى ذرت به‌مدت ۱۲ و ۱۸ ساعت با

غلظت‌های ۲ و ۵ درصد پلی اتیلن گلیکول و KNO_3 باعث افزایش شاخص استقرار، وزن تر و خشک ریشه ذرت و مقدار محصول شد و همچنین افزایش شاخص استقرار گیاهچه را نیز به دنبال داشت. (۹). بررسی‌های مربوط به میانگین داده‌های حاصل از اثرهای متقابل شوری و پیش تیمار در مورد وزن تر ساقه، وزن تر ریشه، وزن خشک ساقه و وزن خشک ریشه، نشان می دهد که بهترین اثرها مربوط به ۵۰ میلی مولار کلراید کلسیم، ۳۰ میلی مولار MSB، ۰/۶ درصد وزنی حجمی کیتوزان، ۰/۴ درصد وزنی حجمی کیتوزان ۲۰ میلی مولار MSB، ۱۰۰ میلی مولار کلراید سدیم ۲۵ میلی مولار کلراید سدیم، ۵۰ میلی مولار نیترات پتاسیم بود که به‌ویژه چهار تیمار اول با شاهد اختلاف معنی داری داشتند. (شکل‌های ۴، ۵، ۶ و ۷).

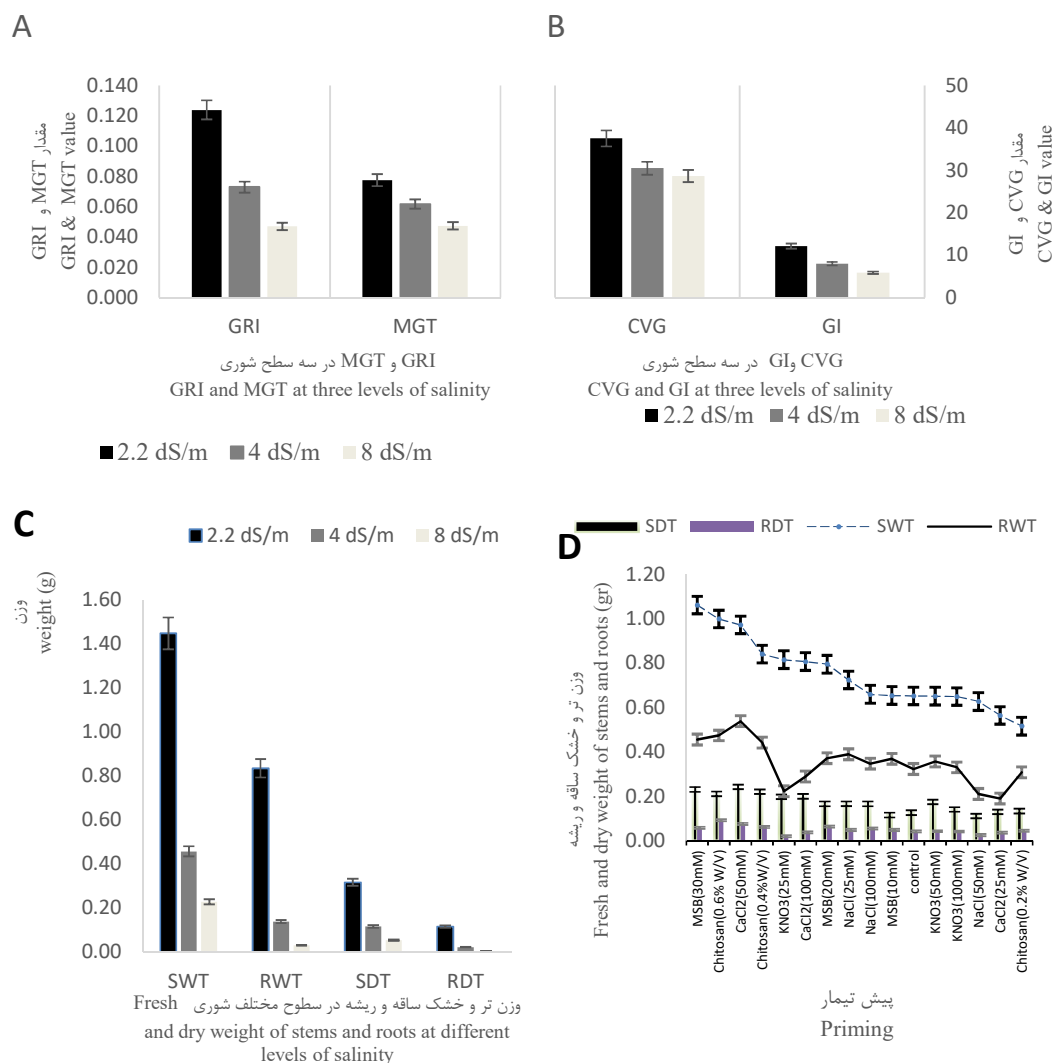


Fig. 1. GRI and MGT at three salinity levels. B: CVG and GI at three salinity levels. C: wet and dry shoot and root weights at three salinity levels. D: Effect of different pretreatments on fresh and dry shoot and root weight . CVG: Coefficient of Velocity of Germination, GI: germination Index, GRI: Germination Rate Index, MGT: Median Germination Time. SWT: Stem fresh weight, SDT: Stem dry weight, RWT: Root fresh weight, RDT: Root dry weight.

شکل ۱- A: GRI و MGT در سه سطح شوری. B: CVG و GI در سه سطح شوری. C: وزن تر و خشک ساقه و ریشه در سه سطح شوری. D: تأثیر پیش تیمارهای مختلف بر وزن تر و خشک ساقه و ریشه. CVG: سرعت جوانه‌زنی، GI: شاخص جوانه‌زنی، GRI: نرخ شاخص جوانه‌زنی، MGT: میانگین مدت زمان جوانه‌زنی، SWT: وزن تر ساقه، SDT: وزن خشک ساقه، RWT: وزن تر ریشه، RDT: وزن خشک ریشه.

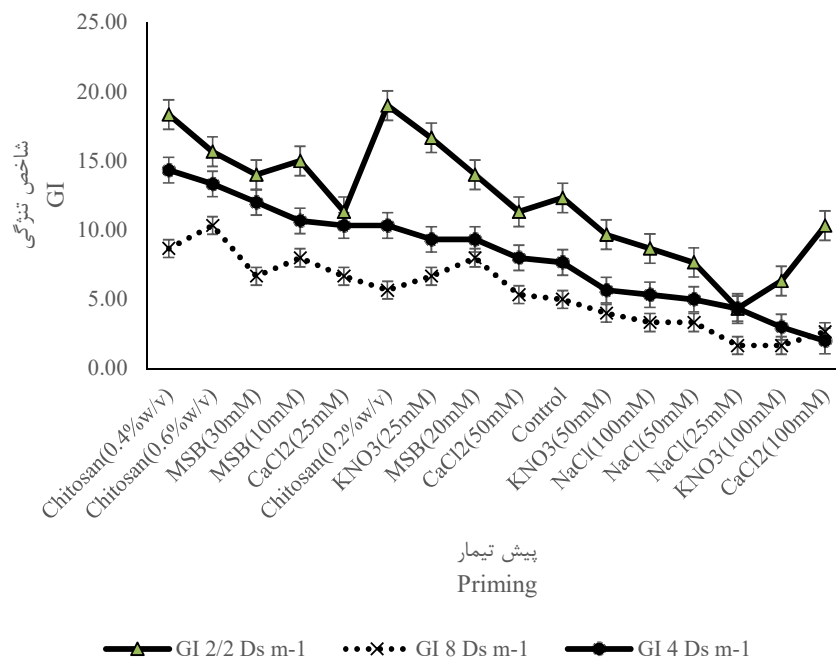


Fig. 2. Germination index (GI) at 3 levels of salinity of 2.2, 4 and 8 dS m⁻¹.

شکل ۲- شاخص تنژگی (GI) در سه سطح شوری ۲/۲، ۴ و ۸ دسی زیمنس بر متر.

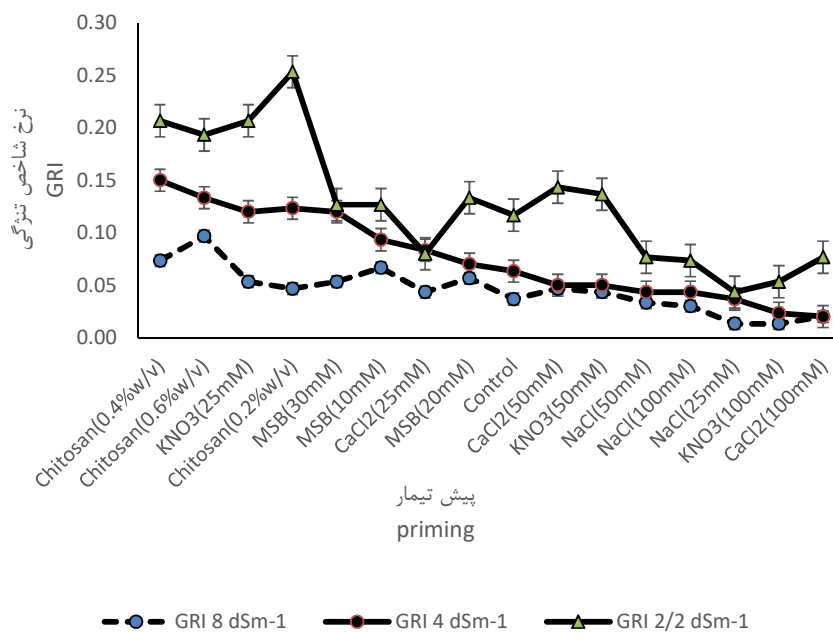


Fig. 3. Germination rate index (GRI) at three levels of salinity of 2.2, 4 & 8 dS m⁻¹.

شکل ۳- نرخ شاخص تنژگی (GRI) در سه سطح شوری ۲/۲، ۴ و ۸ دسی زیمنس بر متر.

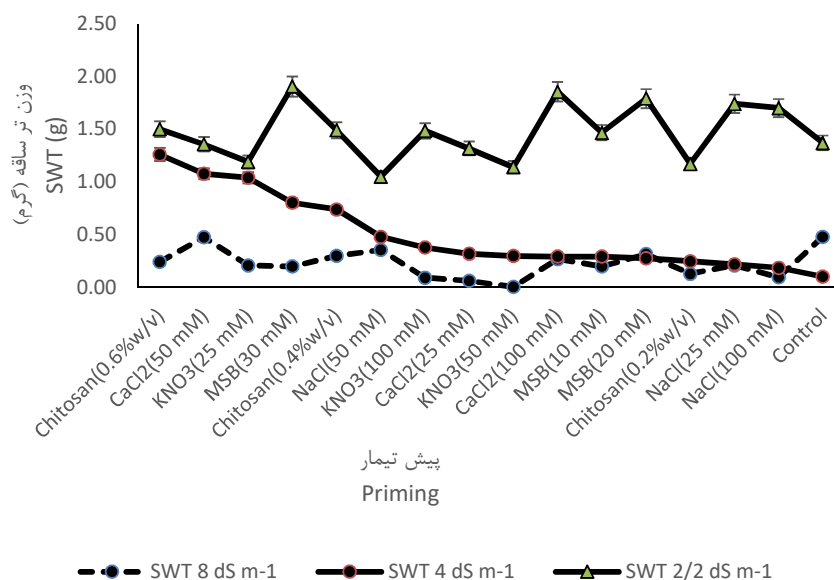


Fig. 4. The fresh weight of the stem (SWT) at 3 levels of salinity of 2.2, 4 and 8dS m⁻¹.

شکل ۴- وزن تر ساقه (SWT) در سه سطح شوری ۲/۲، ۴ و ۸ دسی زیمنس بر متر.

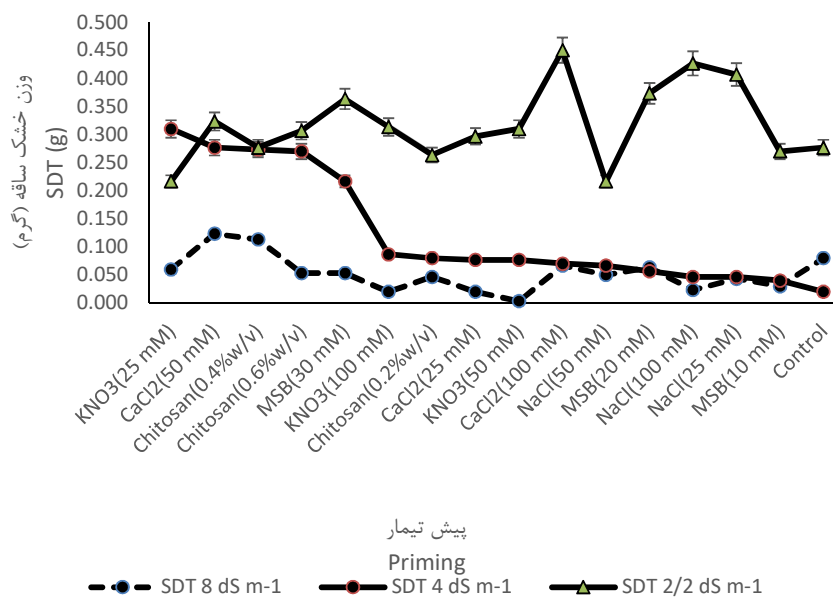


Fig. 5. Stem dry weight (SDT) at 3 levels of salinity of 2.2, 4 & 8 dS m⁻¹.

شکل ۵- وزن خشک ساقه (SDT) در سه سطح شوری ۲/۲، ۴ و ۸ دسی زیمنس بر متر.

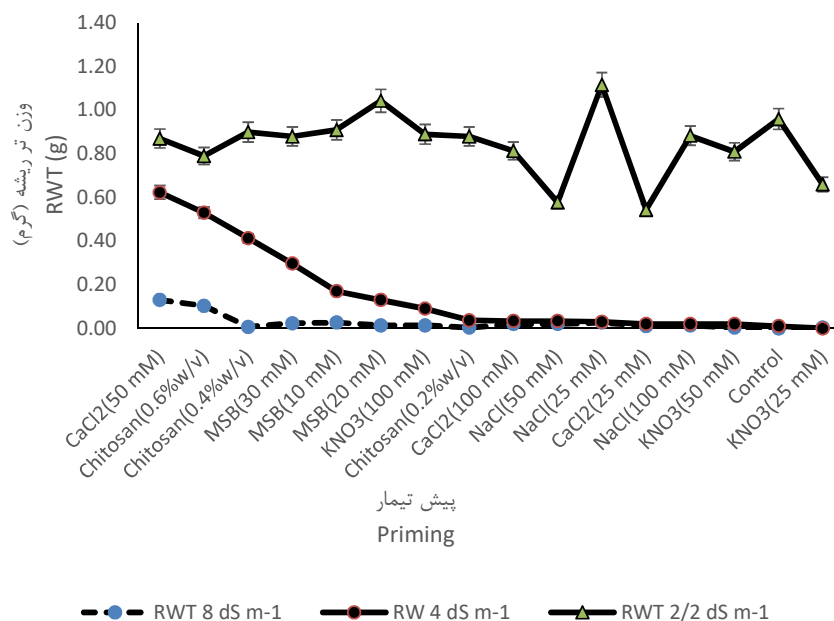


Fig. 6. Root fresh weight (RWT) at 3 levels of salinity of 2.2, 4 and 8 dS m⁻¹.

شکل ۶- وزن تر ریشه (RWT) در سه سطح شوری ۲/۲، ۴ و ۸ دسی زیمنس بر متر.

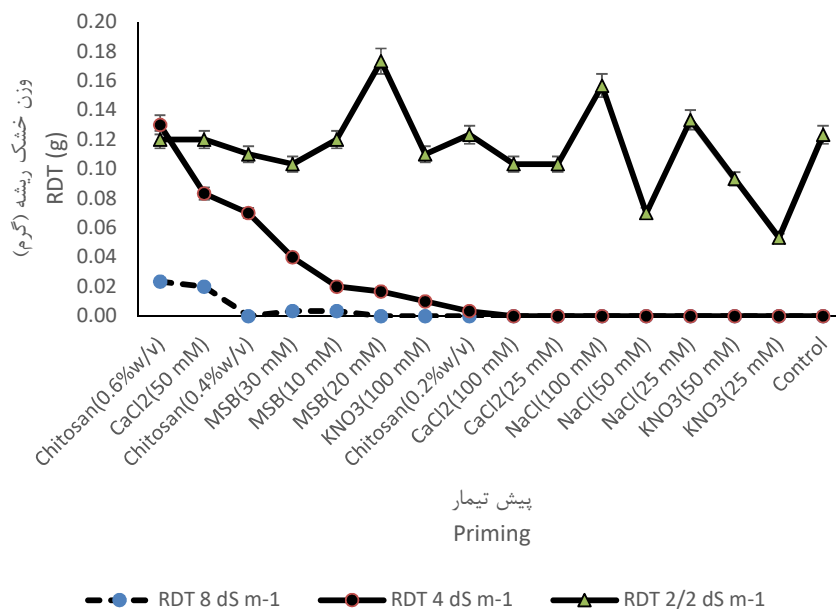


Fig. 7. Root dry weight (RDT) at 3 levels of salinity of 2.2, 4 and 8 dS m⁻¹.

شکل ۷- وزن خشک (RDT) ریشه در سه سطح شوری ۲/۲، ۴ و ۸ دسی زیمنس بر متر.

این بررسی‌ها منطبق با نتیجه‌های آزمایش‌های بسیاری از پژوهشگران از جمله Singh و همکاران (۲۴) و Aymen (۷) می‌باشد. بررسی‌های متعددی نشان می‌دهد که تنژگی بذر، استقرار گیاهچه‌ها و در نهایت مقدار محصول در خاک‌های شور در پاسخ به پیش تیمار در محلول‌های نمکی غیر آلی (هالوپرایمینگ) افزایش داشته است. کلراید کلسیم (CaCl_2)، نترات پتاسیم (KNO_3) و کلراید سدیم (NaCl) از جمله ماده‌های فراوان و ارزان پر کاربرد در هالوپرایمینگ می‌باشند (۲۵). پیش تیمار با CaCl_2 ، کمیت و کیفیت تنژگی را در گندم افزایش داده است (۹، ۲۱). در آزمایش Rehmane و همکاران (۲۰) روی رشد زود هنگام محصول، توسعه فنولوژیکی و مطلوبیت محصول لینولا در پاکستان، پیش تیمار با CaCl_2 باعث کاهش زمان مورد نیاز برای سبز شدن بذر ها شد و گیاهچه‌های بلندتری را تولید کرد که وزن تر و خشک بالاتر و محتوای کلروفیل بیشتری داشتند. در بررسی Aymen (۷)، از NaCl و CaCl_2 برای پیش تیمار بذر های گشنیز در انگیزش تحمل به شوری استفاده شد و نتیجه‌های قابل قبولی را گزارش کرد. در این آزمایش، بذر های گشنیز با محلول‌های ۰/۱۳ مولار NaCl و CaCl_2 پیش تیمار شد. در شرایط شوری مؤلفه‌های طول زمان تنژگی، طول، وزن تر، وزن خشک ریشه و ساقه و محتوای ماده‌های معدنی K^+ ، Na^+ ، Ca^{2+} ، Na^+/K^+ ، $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ افزایش نشان دادند استفاده از محلول NaCl توسط Kaya و همکاران (۱۳) برای پیش تیمار بذر های گوجه‌فرنگی نشان داد که تحمل به شوری تا حد قابل قبولی افزایش یافته است. غوطه‌ور کردن بذر های آرابیدوپسیس در محلول ۲۰ میلی مولار MSB باعث افزایش اثر تحمل به شوری و تطابق گیاهان و افزایش انباشت پروتئین شده است و TF های کلیدی شبیه ZAT12 و پروتئین‌هایی با موتیف Zing-finger که به وسیله چندین ژن کد شد و با شبکه ژنی ROS پیوستگی دارد و در تنش های غیر زیستی فعال شد، را فعال می‌کند. همچنین روی تنش‌های غیرزیستی، از جمله تنش سرما در گیاهچه ذرت تاثیر مثبت داشت و کاربرد خارجی آن به همراه H_2O_2 باعث افزایش تحمل گیاهچه‌های ذرت به سرما شد. اثر اصلی پیش تیمار بر روی بذر های گوجه فرنگی از طریق کوتاه کردن فرصت زمان لازم جهت بیدار شدن نهایی اندوسپرم (فعال شدن) و افزایش توانایی جنین در گرفتن آب صورت می‌گیرد. حضور نترات در طول جذب آب احتمالاً موجب سنتز پروتئین در طول پیش تیمار می‌شود که این خود می‌تواند سرعت تنژگی را بالا ببرد. همچنین پیش تیمار سبب ایجاد برخی تغییرات فیزیولوژیکی از قبیل مقدار قند و ترکیب‌های آلی و یونهای تجمع یافته در بذر و ریشه و در نهایت در برگ‌های گیاه بوجود آمده می‌شود که موجب سرعت بیشتر در جوانه‌زنی و نیز مقاومت بیشتر آن به شرایط نامساعد می‌شود (۱۸).

نتیجه‌گیری

افزایش میزان شوری آب، باعث کاهش رشد بوته‌ها شد و بیشترین تاثیرات منفی در شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر نسبت به شوری ۲/۲ دسی‌زیمنس بر متر به میزان ۹۶/۳۸ درصد در وزن تر ریشه و ۸۴/۲۴ درصد در وزن تر ساقه شد. همچنین در فاکتورهای تنژگی، GRI به مقدار ۶۲/۰۴٪ در شوری ۸ نسبت به ۲/۲ و بعد از آن GI به نسبت ۵۱/۳۷٪ مشاهده شد. بدون در نظر گرفتن تاثیر شوری پیش تیمارهای ۳۰ میلی‌مولار MSB، میزان ۳۶/۱۰، درصد وزنی حجمی کیتوزان، ۳۱/۹۸، ۵۰ میلی مولار کلراید کلسیم، ۳۱/۷۷ درصد وزن تر و خشک ساقه را افزایش داد. همچنین داده‌های حاصل از برهمکنش شوری و پیش تیمار نشان داد که ۵۰ میلی مولار کلراید کلسیم، ۳۰ میلی مولار MSB، ۰/۶ درصد وزنی حجمی کیتوزان، ۰/۴ درصد وزنی حجمی کیتوزان در وزن تر ساقه، وزن تر ریشه، وزن خشک ساقه و وزن خشک ریشه، بیشترین افزایش و تفاوت با شاهد را داشتند. با توجه به نتایج این آزمایش و با توجه به گزارش‌های قبلی، اهمیت پیش تیمار جهت بالا بردن شاخص‌های تنژگی و همچنین افزایش رشد و در نهایت افزایش راندمان برداشت، تأیید می‌شود.

References

منابع

۱. آمارنامه کشاورزی. ۱۳۹۷. جلد اول: محصولات زراعی. سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵. معاونت برنامه‌ریزی و اقتصادی. دفتر آمار و فن اوری اطلاعات. تهران، ص. ۶۹.

۲. آمارنامه کشاورزی. ۱۳۹۷. جلد سوم: محصولات باغبانی. سال ۱۳۹۶. معاونت برنامه‌ریزی و اقتصادی. دفتر آمار و فناوری اطلاعات. تهران، ص. ۲۲۲.

۳. نیک‌زاد چالشتی. خ. و ر. عمواقی. ۱۳۹۲. تأثیر پرایمینگ بر جوانه‌زنی دانه‌های گوجه‌فرنگی در دماهای زیربینه. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران) ۲۶، شماره ۲، ۲۲۶ - ۲۳۷.

4. Abandani, R. and M. Ramezani. 2012. The physiological effects on some traits of osmopriming germination of maize (*Zea mays* L.), rice (*Oryza sativa* L.) and cucumber (*Cucumis sativus* L). Int. J. Agron. 4:132-148.
5. Aloui, H., M. Souguir, And C. Hannachi. 2014. Determination of an optimal priming duration and concentration protocol for pepper seeds (*Capsicum annuum* L). Acta Agr. Slovenica, 103: 213 – 221.
6. Arias, J., D. Pérez, J. Luis, J. Martín-Rodríguez, F. González, and A. Borges. 2014. Treating seeds in menadione sodium bisulphite primes salt tolerance in Arabidopsis by inducing an earlier plant adaptation. Environ. Exp. Bot. 109: 23-30
7. Aymen, E.M., and H. Cherif. 2013. Influence of seed priming on emergence and growth of coriander (*Coriandrum sativum* L.) seedlings grown under salt stress. Acta Agr. Slov. 1: 41– 47.
8. Berhane G. G., and C. A. Qufa. 2017. Plant physiological stimulation by seeds salt priming in maize (*Zea mays*): Prospect for salt tolerance. Afr. J. Biotechnol. 16(5) : 209-223.
9. Borges A. A., D. Jiménez-Arias, M. Expósito-Rodríguez, L. M. Sandalio, and J. A. Pérez. 2014. Priming crops against biotic and abiotic stresses: MSB as a tool for studying mechanisms. Front Plant Sci. 5: 642.
10. De La Peña R, and J. Hughes. 2007. Improving vegetable productivity in a variable and changing climate. J. SAT Agric. Res. 4:1–22.
11. Harris, D., A. Joshi, P.A. Khan, P. Gothkar and P.S. Sodhi. 1999. On farm seed priming in semi arid agriculture: development and evaluation in maize, rice and chickpea in India using participatory methods. Exp Agric. 35: 15-29.
12. Karamoorthy S. 2014. Effects of NaCl, CaCl₂ and their combination of salt on seed germination and seedling growth of *Lycopersicum esculentum* L.. Int. Let. Natu. Sci. 17: 1-15.

13. Kaya D., and Mustafa. 2014. Improvement in tolerance to salt stress during tomato cultivation. Turk. J. Bio. 38.(2): 193-199.
14. Li LQ, J. Hu, ZY. Zhu, and N. J. keshimana. 2004. The effects of seed film coating with cold-tolerant agents on physiology and biochemistry changes of supersweet corn in low temperature stress. J. of Zhejiang University (Agri. and Life Sci.); 30(9):311–317. (in Chinese).
15. Lin JM, JM. Sung. 2001. Pre-sowing treatments for improving emergence of bitter gourd seedlings under optimal and sub-optimal temperatures. Seed Sci. Technol. 29:39–50.
16. Musa, A.M., C. Johansen, J. Kumar and D. Harris. 1999. Response of chickpea to seed priming in the high Barind Tract of Bangladesh. International Chickpea and Pigeonpea Newsletter. 6: 20-22.
17. Nawaz, A, M. Amjad , M. M. Jahangir , S. M. Khan , H. Cui, 2012. Induction of salt tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds through sand priming. Australian Journal of Crop Science. 6(7):1199-1203.
18. Nawaz, A., M. Amjad, M. A. Pervez and I. Afzal. 2011. Effect of halopriming on germination and seedling vigor of tomato. Afr. J. Agr. Res. 6(15): 3551-3559.
19. Prasad, T. K., M. D. Anderson., B. A. Martin. and C. R. Stewart. 1994. Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide. Plant Cell, 6: 65–74.
20. Rehman, H.,Q. Nawaz, SMA. Basra, I. Afzal, A. Yasmeen, and FU. Hassan. 2013 Seed priming influence on early crop growth, phenological development and yield performance of linola (*Linum usitatissimum* L.). Eur. J. Agron. 49: 141-149.
21. Rinku, P. P., R. T. Krishna, J. Brahmbhatt, Nayana. 2017. Effect of hydropriming and biopriming on seed germination and growth of two Mexican fir tree species in danger of extinction. Forests, 6(9): 3109-3122.
22. Roy, N.K. and A. K. Srivastava. 1999. Effect of presoaking seed treatment on germination and amylase activity of wheat (*Triticum aestivum*) under salt stress conditions. Int. Center for Agri. Res. 18:46–5.
23. Ruan S., and Q. Z. Xue. 2002 Effects of chitosan coating on seed germination and salt-tolerance of seedlings in hybrid rice (*Oryza sativa* L.). Acta Agron. Sin. 28: 803–808.

24. Singh J., E. V. Divakar Sastry, and V. Singh. 2012. Effect of salinity on tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) during seed germination stage. *Physiol. Mol. Biol. Plants*. 18(1): 45–50.
25. Singh, D., P. C. Ram, A. Singh, and S. Srivastava. 2015. Alleviating adverse effect of soil salinity on biomass production and physiological changes in wheat (*Triticum aestivum* L.) through application of zinc fertilizer. *Res. Environ. Life Sci*. 8(2): 251-254.

Effect of Chemical Seed Priming on Seed Germination and Seedling Vigor of Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) under Salinity Stress

F. Sharifi, A. Afsharifar and A. Niazi*¹

Salinity is one of the most limiting factors in agriculture in many parts of the world. In this research, pre-treatment of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seeds using some inexpensive and suitable chemicals including calcium chloride, sodium chloride, potassium nitrate, chitosan, and menadion sodium bisulfite (MSB) at three salinity levels of 2.2, 4 and 8 dS/m in Randomized complete block design was done. Then the effects of salinity during seed germination stage and seedling growth of were investigated. The results showed that under salinity treatments, 50 mM calcium chloride, 30 mM MSB, 0.6 and 0.4% w/v chitosan, total dry weight of stems and roots significantly increased to 37.51, 36.74, 35.68 and 27% respectively. On the other hand, increase in salinity levels showed a significant negative effect on shoot and root fresh and dry weights and drought tolerance indexes including drought tolerance, germination index, drought tolerance coefficient and mean of germination duration. Under salinity of 4 dS m⁻¹, 41.48% and 83.46% decrease and under salinity of 8 dS/m, 84.28% and 96.38% decrease, in the fresh weight of stem and root compared to the salinity of 2.2 dS m⁻¹ were observed respectively. Finally, the 50 mM calcium chloride showed the best results. These results might be related to the decrease of the time for endosperm induction, increase of embryo power in water uptake, change in content of sugar, organic components, and concentrated ions. These changes might cause an increase in germination speed and tolerance in unfavorable conditions.

Keywords: Seed Priming, Salinity, Tomato.

1. Former Ph.D. Student of Biotechnology of Shiraz University International Division, Professor, Institute of Plant Virology, Faculty of Agriculture, and Professor, Institute of Biotechnology, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran, respectively.

* Corresponding author, Email: (niazi@shirazu.ac.ir).