

تأثیر بیوپرایمینگ با تریکودرما و سودوموناس بر جوانه‌زنی و برخی شاخص‌های بیوشیمیایی بذرهای زوال‌یافته کتان (*Linum usitatissimum* L.) رقم نورمن

منا بخیت^۱، علی مرادی*^۱ و محمد عبداللهی^۲

^۱گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، ^۲گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۲۶، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۵/۰۳/۱۹)

چکیده:

زوال بذر به عنوان یک پدیده فیزیولوژیکی برگشت‌ناپذیر، تأثیر معنی‌داری بر کیفیت بذر می‌گذارد. افزایش بنیه بذر زوال یافته و حفظ آن با استفاده از روش‌هایی مانند پرایمینگ زیستی دارای اهمیت می‌باشد. به این منظور آزمایشی سه عاملی در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار بر روی یک رقم کتان (رقم نورمن) در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج در سال ۹۴ اجرا شد. عامل اول شامل طول دوره انبارداری (۳۱، ۵۳، ۹۳ و ۱۳۰ روز)، عامل دوم شرایط انبارداری شامل دو ترکیب رطوبتی-دمایی (دمای ۱۵ °C، محتوای رطوبت بذر ۱۷ درصد (شرایط ملایم) و دمای ۳۵ °C، محتوای رطوبت بذر ۹ درصد (شرایط سخت)) و عامل سوم پنج سطح پرایمینگ شامل پرایمینگ با جدایه‌های T_{۳۶} و T_{۴۰} قارچ *Trichoderma harzianum* و جدایه‌های CHA0 و P.F(۲) باکتری *Pseudomonas fluorescens*، یک سطح بذر پرایم نشده (شاهد) بودند. تلقیح بذر با سوسپانسیون باکتریایی و قارچی قبل یا بعد از بیرون آوردن از انبار انجام شد. طی دوره انبارداری از ۳۰ تا ۱۳۰ روز شاخص‌های جوانه‌زنی، گیاهچه‌ای و نیز فعالیت آنزیم پراکسیداز روندی کاهشی داشتند، در طی همین دوره نشت الکترولیت‌ها، محتوای قند محلول و محتوای مالون‌دی‌آلدهید بذر افزایش یافت. در دوره‌های انبارداری ۳۱، ۵۳ روز و در سطح شرایط ملایم، بیوپرایمینگ با T_{۴۰}، P.F(۲) و CHA0 توانستند این شاخص‌ها را نسبت به بذر پرایم نشده افزایش دهند. در دوره‌های انبارداری ۹۳ و ۱۳۰ روز تیمار T_{۴۰} جوانه‌زنی را نسبت به سایر تیمارها بهبود داد. بر مبنای نتایج آزمایش حاضر استفاده از تیمارهای زیستی در بهبود جوانه‌زنی و حفظ کیفیت نسبی بذرهای کتان طی انبارداری پیشنهاد می‌شود.

واژگان کلیدی: انبارداری، بیوپرایمینگ، جوانه‌زنی، زوال، کتان.

مقدمه:

غشاء، تغییر ساختمان مولکولی اسیدهای نوکلئیک، کاهش فعالیت‌های آنزیمی، کاهش‌دهنده کیفیت بذر و محدودکننده جوانه‌زنی می‌باشد. در طی دوره انبارداری عوامل متعددی بر کیفیت فیزیولوژیک بذر تأثیر دارند که از مهم‌ترین آنها می‌توان درجه حرارت و رطوبت نسبی محیط انبار را نام برد. با پیشرفت فرایند زوال و کاهش فعالیت آنزیم‌های پالاینده

کتان با نام علمی *Linum usitatissimum* L. گیاهی است علفی، یکساله که میزان روغن آن ۳۰-۵۰ درصد است (ایران-نژاد و حسینی، ۱۳۸۴). مشابه سایر گیاهان روغنی فرایند زوال در بذرهای روغنی نسبت به سایر بذر دیگر از اهمیت خاصی برخوردار است. زوال بذر یکی از عوامل کاهش یکپارچگی

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: amoradi@yu.ac.ir

اسید، سالیسیلیک اسید و اسید آسکوربیک بر بهبود خصوصیات جوانه‌زنی بذرهای زوال‌یافته کلزا با رطوبت‌های ۵، ۹، ۱۳ و ۱۷ درصد و دماهای ۵، ۱۵، ۲۵، ۳۵ و ۴۵ درجه سلسیوس به مدت سه ماه انبارداری نتیجه گرفتند که تیمارهای هورمونی توانستند به میزان زیادی اثرات زوال را بهبود دهند.

اگر چه تحقیقاتی درباره اثرات بیوپرایمینگ در بهبود جوانه‌زنی بذر گیاهان مختلف انجام شده است (Pacome 2013، Noumavo et al, 2015، Rudolph et al, 2015) ولی تاکنون مطالعه‌ای در ارتباط با اثرات بیوپرایمینگ در کنترل زوال و یا بهبود اثرات زوال بذر کتان انجام نشده است. این در حالی است که افزایش بنیه بذر کتان و حفظ آن با استفاده از روش‌های پرایمینگ در شرایط انبارداری مختلف می‌تواند به کشاورز جهت نگهداری بذر در مدت زمان‌های مختلف با فراهم بودن مکان‌های مناسب برای داشتن یک بذر با کیفیت بالا کمک کند. لذا این تحقیق با هدف بررسی تأثیر تیمارهای بیوپرایمینگ در کنترل زوال و بهبود کیفیت بذرهای زوال‌یافته کتان انجام شد.

مواد و روش‌ها :

این پژوهش در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج در سال ۹۴ به صورت سه‌عاملی در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. برای این مطالعه از بذرهای کتان رقم نورمن استفاده شد. عامل اول شامل طول دوره انبارداری (۳۱، ۵۳، ۹۳ و ۱۳۰ روز)، عامل دوم شرایط انبارداری در دو ترکیب رطوبتی- دمایی (دمای ۱۵ °C، محتوای رطوبت بذر ۱۷ درصد (شرایط ملایم) و دمای ۳۵ °C، محتوای رطوبت بذر ۹ درصد (شرایط سخت)) و عامل سوم پنج سطح پرایمینگ شامل پرایمینگ با جدایه‌های T_{۳۶} و T_{۴۰} قارچ *Trichoderma. harzianum* و جدایه‌های CHA0 و P.F(۲) باکتری *Pseudomonas fluorescens* و یک سطح بذور پرایم نشده (شاهد) بودند.

تلقیح بذرهای با سوسپانسیون باکتریایی و قارچی قبل شروع از انبارداری (تلقیح قبل از انبارداری) و یا بعد از بیرون آوردن از انبار (تلقیح بعد از انبارداری) انجام شد. بدین منظور ابتدا بذور استریل‌شده به مدت یک ساعت در دمای اتاق (۲۵-۲۰

اکسیژن فعال، میزان رادیکال‌های آزاد افزایش یافته و منجر به خسارت به اسیدهای چرب غیر اشباع غشاهای سلولی شده، در نهایت، به اختلال در عملکرد غشا، افزایش ویسکوزیته غشا، افزایش نفوذپذیری و نشت مواد از بذر طی آبیگری می‌شوند (Priestley, 1986). همراه با زوال بذر تنفس به تدریج ضعیف‌تر می‌شود و سرانجام منجر به تلفات بذر می‌گردد (محمدی و همکاران، ۱۳۸۷).

کیفیت بالای بذر نتیجه انجام صحیح عملیات تولید و تأمین شرایط مناسب نگهداری و زنده‌مانی در انبارها می‌باشد. پرایمینگ بذر تکنیکی است که در طی آن اجازه داده می‌شود بذرهای مقداری آب جذب کنند به طوری که مراحل اولیه جوانه‌زنی انجام شود اما ریشه‌چه خارج نشود (et al, 2004 Basra). بیوپرایمینگ به عنوان یکی از روش‌های پرایمینگ با ادغام دو جنبه زیستی (تلقیح بذر با موجودات زنده مفید) و فیزیولوژیکی (آبنوشی بذر) باعث بهبود کیفیت بذر می‌شود (Reddy, 2013). در تحقیقی بر روی بذر ذرت گزارش شد که تلقیح بذرهای با سویه‌های باکتری سودوموناس فلوروسنت باعث افزایش درصد جوانه‌زنی و بنیه بذر و تلقیح با باکتری آزوسپیریلیوم لیپوفروم اثر مثبت بر طول گیاهچه، وزن خشک گیاهچه داشت (Pacome Noumavo et al, 2013). افزایش طول گیاهچه و وزن خشک گیاهچه، درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه گیاهچه در تلقیح بذرهای ذرت با باکتری‌های *Paenibacillus Lysinibacillus sphaericus* و *Stenotrophomonas sp alvei* نیز گزارش شده است (Rudolph et al., 2015).

هورمون‌های گیاهی مانند ایندول-۳-استیک اسید (IAA)، سیتوکنین و جیبرلین‌ها که توسط باکتری‌های محرک رشد گیاه تولید می‌شوند باعث تحریک جوانه‌زنی، رشد و تولید مثل و محافظت گیاهان در مقابل تنش‌های مختلف می‌شوند (et al., Ma 2011). استفاده از هورمون جیبرلین که از هورمون‌های گیاهی محسوب می‌شود، می‌تواند خسارت فرسوده‌شدن بذر را کاهش دهد و پتانسیل رشد جنینی را در بذرهای فرسوده شده افزایش دهد. عالیوند و همکاران (۱۳۹۲) در بررسی جیبریلیک

$$GR = \frac{Ni}{\sum Ti}$$

Ni: تعداد بذره‌های جوانه‌زده در روز، Ti: روز از زمان شروع آزمایش

رابطه ۳: شاخص بنیه طولی گیاهچه (Reddy and Khan, 2001):

= شاخص بنیه گیاهچه طولی

۱۰۰ / (طول گیاهچه (سانتی‌متر) × جوانه‌زنی استاندارد)

در هر مرحله نمونه‌برداری به منظور اندازه‌گیری نشت

الکترولیت‌ها از بذر، ابتدا ۱۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۲۴

ساعت در دمای ۲۰ °C نگهداری شد. سپس چهار نمونه ۲۵

بذری به دقت وزن شده و درون لیوان‌های پلاستیکی حاوی

۱۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۰°C

قرار داده شدند. پس از طی این مدت زمان میزان هدایت

الکتریکی آب درون هر لیوان حاوی بذر و لیوان آب مقطر

بدون بذر (به عنوان شاهد) برحسب میکروزیمنس بر سانتی‌متر

به وسیله دستگاه اندازه‌گیری هدایت الکتریکی اندازه‌گیری شد

و با تقسیم آن بر وزن توده بذر، میزان نشت الکترولیت‌ها بر

حسب میکروزیمنس بر سانتی‌متر بر گرم وزن بذر محاسبه

و گزارش شد (Hampton and Tekrony, 1995).

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز ابتدا پروتئین

محلول بذر به روش Kar and Mishra (۱۹۷۶) استخراج شد.

سپس برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز از روش

Upadhyaya و همکاران (۱۹۸۵) استفاده شد. مخلوط واکنش

شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار با pH = ۷ حاوی

یک میلی‌لیتر گایاکول یک درصد، یک میلی‌لیتر H₂O₂ یک

درصد و ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره پروتئینی استخراج شده بود.

فعالیت آنزیم پراکسیداز به صورت افزایش در جذب گایاکول

اکسید شده طی یک دقیقه در طول موج ۴۲۰ نانومتر محاسبه

شد (۲۶۶ m M⁻¹ cm⁻¹ = ضریب خاموشی). برای اندازه‌گیری

محتوای قند محلول از روش Irigoyen و همکاران (۱۹۹۲)

استفاده شد. بدین منظور ابتدا ۰/۵ گرم از بذر وزن شده و در

هاون کاملاً ساییده شد، سپس ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد به

آن اضافه و به لوله آزمایش درب‌دار منتقل شد و به مدت ۳۰

ثانیه ورتکس (به شدت تکان داده) شد. سپس مایع روئی جدا

درجه سلسیوس)، در ۲۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون قارچی یا باکتریایی (برای تلقیح قبل از انبارداری) فرو برده شدند. برای تعیین غلظت سوسپانسیون اسپور قارچ از لام گلبول شمار (هموسیتر) استفاده شد و غلظت سوسپانسیون باکتریایی برای دستیابی به تراکم مایه تلقیح ۱۰^۸ واحد تشکیل‌دهنده کلونی بر میلی‌لیتر که میزان جذب آن در طول موج ۶۰۰ نانومتر روی ۰/۵ تنظیم و تهیه شد.

برای ایجاد محتوای رطوبت بذر از روش Hampton and

Tekrony (۱۹۹۵) استفاده شد. بذره‌های تلقیح شده یا تلقیح

نشده با سوسپانسیون قارچی و باکتریایی را درون پاکت‌های

فویل آلومینیوم قرار داده و سپس مقدار رطوبت‌های مورد نظر

براساس وزن بذرها برای هر یک از محتوای رطوبت بذر ۹ یا

۱۷ درصد آب به پاکت‌ها اضافه و برای اطمینان از عدم تبادل

رطوبت با بیرون، درب آن‌ها را بسته و به مدت ۲۴ ساعت در

دمای ۱۵ °C قرار داده تا بذرها هم رطوبت گردیدند (ISTA, 2010).

پس از ۲۴ ساعت پاکت‌ها را جهت انبارداری به

دستگاه انکوباتور با دماهای ۱۵ °C یا ۳۵°C منتقل شدند.

نمونه‌برداری در فواصل تقریباً ۳۰ روزه انجام شده و آزمون

جوانه‌زنی استاندارد به مدت ۷ روز در دمای متناوب ۲۰-۳۰

درجه سلسیوس به روش روی کاغذ (TP)، در پنج تکرار ۳۰

بذری انجام شد (ISTA, 2010). بدین منظور تعداد بذور

جوانه‌زده به صورت روزانه شمارش شد. در پایان آزمایش، از

هر پتری‌دیش ۱۰ گیاهچه به تصادف انتخاب و طول و وزن

گیاهچه و وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری شد. در نهایت درصد

جوانه‌زنی و شاخص‌های مرتبط با گیاهچه‌ای محاسبه گردید.

صفات ارزیابی شده شامل درصد جوانه‌زنی (رابطه ۱)، سرعت

جوانه‌زنی (رابطه ۲)، شاخص بنیه گیاهچه (رابطه ۳)، وزن

خشک گیاهچه، نشت الکترولیت‌ها از بذر، محتوای پروتئین

محلول بذر فعالیت آنزیم پراکسیداز، محتوای قندهای محلول و

محتوای مالون دی‌آلدئید بذر بودند.

رابطه ۱: (Reddy and Khan, 2001):

$$\times 100 = \frac{\text{تعداد بذره‌های جوانه زده}}{\text{تعداد کل بذرها}} = \text{درصد جوانه زنی (GP)}$$

رابطه ۲: سرعت جوانه‌زنی (Verma et al, 2005):

=محتوای مالون دی آلدئید بذر

$$\left(\frac{A_{532} \text{ nm} / 155}{0.2} \right) - \left(\frac{A_{600} \text{ nm} / 155}{0.2} \right)$$

در این رابطه A_{532} : جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر، ۶۰۰
A: جذب در طول موج ۶۰۰ نانومتر، ۰/۲: گرم وزن بذر، ۱۵۵:
ضریب خاموشی می‌باشد.

تجزیه داده‌ها با نرم‌افزار آماری SAS و رسم نمودارها با
نرم‌افزار Excel انجام شد. مقایسه میانگین اثرات اصلی با
آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد و در صورت
معنی دار بودن اثرات متقابل، برش‌دهی برهمکنش اثر
بیوپرایمینگ و شرایط انبارداری در هر دوره انبارداری انجام و
میانگین‌ها با استفاده از رویه‌ی L.S.means در سطح ۵ درصد
مقایسه شدند.

نتایج و بحث:

نتایج تجزیه واریانس اثرات ساده، برهمکنش دوگانه و سه گانه
طول دوره انبارداری، شرایط انبارداری و بیوپرایمینگ بذر برای
صفات درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، وزن خشک
گیاهچه، شاخص بنیه طولی گیاهچه (جدول ۱) و نشت
الکترولیت‌ها (جدول ۲) در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار
شد. برش‌دهی اثر تیمارهای بیوپرایمینگ و شرایط انبارداری در
هر دوره انبارداری انجام شد. نتایج حاصل از برش‌دهی نشان
داد که برهمکنش اثر تیمارهای بیوپرایمینگ و شرایط انبارداری
در هر چهار دوره انبارداری (۳۱، ۵۳، ۹۳ و ۱۳۰ روز) در سطح
احتمال یک درصد معنی‌دار شد (نتایج برش‌دهی نشان داده
نشده است).

مقایسه میانگین برهمکنش اثر تیمارهای بیوپرایمینگ و
شرایط انبارداری برای صفت درصد جوانه‌زنی نشان داد که در
طی ۳۱ روز انبارداری و در سطح شرایط ملایم (دمای °C ۱۵،
محتوای رطوبت بذر ۱۷ درصد) تلقیح بذرها با سویه‌های T۳۶
و T۴۰ و سویه‌های P.F(۲) و CHA0 قبل و بعد از انبارداری
جوانه‌زنی بیشتری نسبت به عدم تلقیح نشان دادند، حداکثر
جوانه‌زنی با مقدار ۸۱/۶۶ درصد در تلقیح بعد از انبارداری با
تیمار T۴۰ مشاهده شد. در همین دوره انبارداری و در سطح
شرایط سخت (دمای °C ۳۵، محتوای رطوبت بذر ۹ درصد)

و به لوله درب‌دار به حجم ۲۰ میلی‌لیتر منتقل شد. سپس دو
مرتب و هر بار ۵ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد به بخش جامد
باقی‌مانده اضافه و کاملاً شستشو و دوباره ورتکس گردید.
سپس بخش مایع روئی به لوله آزمایش منتقل شد. در نهایت
۱۵ میلی‌لیتر از عصاره به دست آمده در دمای پایین با ۳۵۰۰
دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و فاز مایع بالایی به دقت جدا و
به دمای °C ۴ منتقل گردید. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره الکلی
برداشته و داخل لوله‌های آزمایشی ریخته شد که درون حمام آب
یخ قرار گرفته بودند. سپس سه میلی‌لیتر آتزون تازه تهیه شده به
آن اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد
و بعد از خارج کردن نمونه‌ها آن‌ها را در یخ قرار داده تا سرد
شوند. پس از خنک شدن نمونه‌ها میزان جذب نمونه‌ها در طول
موج ۶۲۵ نانومتر با اسپکتروفتومتر قرائت گردید.

به منظور اندازه‌گیری محتوای مالون‌دی‌آلدئید (MDA)
بذر، ابتدا نمونه‌های منجمد و یا تازه به میزان ۰/۲ گرم در ۳
میلی‌لیتر TCA (تری‌کلرواستیک‌اسید) ۰/۱ درصد عصاره‌گیری
شدند و در لوله‌های آزمایش درب‌دار به حجم ۱۰ سی‌سی
ریخته و سپس در دمای ۴ درجه به مدت ۳۰ دقیقه و با دور
۱۳۰۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. بعد از خارج کردن نمونه‌ها از
دستگاه به یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون صاف شده یک
میلی‌لیتر TBA (تیوباری‌توریک‌اسید) ۰/۵ درصد که در آن
TCA ۲۰ درصد حل شده بود، اضافه شد و در حمام آب
گرم °C ۱۰۰ به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت. پس از گذشت ۳۰
دقیقه، لوله‌ها از محلول آب گرم خارج شده و بلافاصله در
حمام یخ قرار داده تا سرد شود و در صورت نیاز دوباره
نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شد تا محلول کاملاً
شفاف گردید. سپس میزان مالون‌دی‌آلدئید نمونه‌ها با
اندازه‌گیری جذب در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر با
دستگاه اسپکتروفتومتر و با استفاده از ضریب خاموشی
($155 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) محاسبه شد (Heath and Packer, 1986).
سپس مطابق فرمول زیر برای محاسبه MDA طول موج ۵۳۲ از
۶۰۰ کم شد. محتوای MDA بر اساس میکرومول بر گرم وزن
بذر گزارش شد.

رابطه ۴:

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر طول دوره انبارداری، شرایط انبارداری و بیوپرایمینگ برای برخی شاخص‌های جوانه‌زنی بذور کتان رقم نورمن

میانگین مربعات					
منابع تغییر	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	وزن خشک گیاهچه	شاخص بنیه گیاهچه طولی
طول دوره انبارداری (A)	۳	۱۱۶۹۳/۵۵**	۲۱/۶۷**	۰/۰۰۰۳۰**	۱۸/۶۹**
شرایط انبارداری (B)	۱	۴۳۴۴۳/۹۰**	۶۹/۲۹**	۰/۰۰۱۰**	۴۱/۴۵**
بیوپرایمینگ (C)	۱۲	۳۹۰/۰۱**	۰/۶۳**	۰/۰۰۰۰۲۷**	۰/۷۶**
A×B	۳	۵۵۷۳/۷۲**	۱۲/۴۶**	۰/۰۰۰۱۴۲**	۱۴/۵۱**
A×C	۳۶	۳۰۹/۹۵**	۰/۵۲**	۰/۰۰۰۰۱۴**	۰/۴۴**
B×C	۱۲	۵۱۹/۶۲**	۰/۵۶**	۰/۰۰۰۰۲۲**	۰/۵۵**
A×B×C	۳۶	۱۶۶/۹۴**	۰/۵۱**	۰/۰۰۰۰۱۳**	۰/۴۱**
خطا	۳۱۲	۱۵/۷۸	۰/۰۲۵	۰/۰۰۰۰۰۰۳۹	۰/۰۱۷
ضریب تغییرات	-	۲۷/۰۸	۱۲/۴۵	۲۷/۴۶	۱۱/۹۸

**نشانهگر معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد

می‌شود. در تحقیق Siadat و همکاران (۲۰۱۱) پرایمینگ هورمونی بذور ذرت با اسید جیبرلیک اثر مثبتی بر جوانه‌زنی بذور زوال یافته داشت و موجب بهبود خصوصیات جوانه‌زنی شد.

مقایسه میانگین برهمکنش بیوپرایمینگ و شرایط انبارداری (جدول ۲) نشان داد که پس از ۳۱ روز نگهداری بذرها در شرایط ملایم، اغلب تیمارهای بیوپرایمینگ سرعت جوانه‌زنی بالاتری نسبت به تیمار پرایم نشده نشان دادند، به طوری که سرعت جوانه‌زنی بذرها در تلقیح با سویه P.F(۲) قبل از انبارداری دو برابر بذرها تلقیح نشده بود. در این دوره انبارداری و در سطح شرایط سخت حداکثر سرعت جوانه‌زنی در بذرها پرایم شده با T۴۰ و T۳۶ و در تلقیح بعد از انبارداری مشاهده شد.

پس از ۵۳ روز انبارداری و در سطح شرایط ملایم حداکثر سرعت جوانه‌زنی در تلقیح بذرها با سویه‌های T۴۰ و T۳۶ و CHA0 بعد از انبارداری بدست آمد. در طی این دوره انبارداری فرایند زوال با کاهش سرعت جوانه‌زنی بذرها در تیمارهای پرایم نشده در شرایط ملایم به خوبی دیده شد و تلقیح بذرها با سویه T۴۰ قبل از انبارداری توانست طی ۱۳۰ روز انبارداری این کاهش سرعت را تا حدی کنترل کند.

بیوپرایمینگ با T۴۰ و T۳۶ در تلقیح بعد از انبارداری و P.F(۲) در تلقیح قبل از انبارداری بیشترین جوانه‌زنی را در مقایسه با سایر تیمارهای بیوپرایمینگ داشتند (جدول ۲). در انتهای زمان دوم انبارداری (۵۳ روز)، پرایم کردن بذرها با سویه‌های CHA0، T۳۶ و T۴۰ بعد از انبارداری بیشترین جوانه‌زنی را در سطح شرایط ملایم نشان دادند. حداکثر جوانه‌زنی پس از ۹۳ و ۱۳۰ روز انبارداری بذرها در تلقیح بذر با سویه T۴۰ قارچ تریکودرما در تلقیح قبل از انبارداری در شرایط ملایم مشاهده شد. بذرها انبارشده در شرایط سخت پس از ۳۱ روز به طور قابلیت حیات خود را از دست دادند و هیچ گونه جوانه‌زنی از خود نشان ندادند. مطالعات انجام شده توسط Basra و همکاران (۲۰۰۳) بر روی بذر پنبه نشان داد که درصد جوانه‌زنی بذور در دمای بالا و رطوبت بالا نسبت به شاهد (بذر در شرایط استاندارد جوانه‌زنی) کاهش یافت که از دلایل آن به پراکسیداسیون چربی‌ها، خسارت به غشاهای سلولی، آسیب به فرایند سنتز RNA، تخریب DNA، رسوب و غیر فعال کردن آنزیم‌ها اشاره کردند (Lehner et al., 2008). به نظر می‌رسد بیوپرایمینگ با فعال کردن برخی هورمون‌ها از جمله اکسین و جیبرلین سبب بهبود خصوصیات جوانه‌زنی بذرها زوال‌یافته

جدول ۲- مقایسه میانگین برهمکنش اثر بیوپرایمینگ و شرایط انبارداری در طی دوره انبارداری ۳۱ و ۵۳ روز برای مولفه‌های جوانه‌زنی بذر کتان رقم نورمن

طول دوره انبارداری	شرایط انبارداری	بیوپرایمینگ+زمان تلقیح	جوانه‌زنی (درصد)	سرعت جوانه‌زنی (بذر در روز)	وزن خشک گیاهیچه (گرم)	شاخص بنیه گیاهیچه	
۳۱ روز	شرایط ملایم	پرایم نشده	۳۸/۳۳ ^e	۶/۶۲ ^{de}	۰/۰۰۲ ^h	۱/۵۴ ^f	
		تلقیح قبل از انبارداری	T۳۶	۵۴/۱۶ ^d	۶/۳۱ ^e	۰/۰۰۹ ^{cd}	۶/۲۳ ^e
		CHA0	۷۴/۱۶ ^{ab}	۷/۸۱ ^{cd}	۰/۰۱۱ ^b	۸/۸۰ ^{bc}	
		P.F(۲)	۵۹/۱۶ ^d	۹/۰۳ ^{bc}	۰/۰۰۸ ^{de}	۶/۹۹ ^{de}	
	شرایط سخت	پرایم نشده	۷۷/۵ ^{ab}	۱۳/۸۳ ^a	۰/۰۰۶ ^{fg}	۱۲/۵۱ ^a	
		تلقیح قبل از انبارداری	T۳۶	۵۸/۳۳ ^d	۸/۴۳ ^{bc}	۰/۰۰۹ ^c	۹/۳۱ ^{bc}
		CHA0	۸۱/۶۶ ^a	۸/۲۹ ^{bc}	۰/۰۰۷ ^{ef}	۹/۲۹ ^{bc}	
		P.F(۲)	۶۳/۳۳ ^{cd}	۸/۷ ^{bc}	۰/۰۰۶ ^{fg}	۷/۸۰ ^{cd}	
	شرایط ملایم	پرایم نشده	۷۰/۸۳ ^{bc}	۹/۴۵ ^b	۰/۰۱۳ ^a	۱۰/۱۹ ^b	
		تلقیح بعد از انبارداری	T۳۶	۵۸/۳۳ ^d	۸/۴۳ ^{bc}	۰/۰۰۹ ^c	۹/۳۱ ^{bc}
		CHA0	۸۱/۶۶ ^a	۸/۲۹ ^{bc}	۰/۰۰۷ ^{ef}	۹/۲۹ ^{bc}	
		P.F(۲)	۶۳/۳۳ ^{cd}	۸/۷ ^{bc}	۰/۰۰۶ ^{fg}	۷/۸۰ ^{cd}	
۵۳ روز	شرایط ملایم	پرایم نشده	۵/۸۳ ^h	۰/۵۱ ⁱ	۰/۰۰۱ ⁱ	۰/۰۵۲ ^g	
		تلقیح قبل از انبارداری	T۴۰	۱/۶۶ ⁱ	۰/۱۷ ^{ji}	۰/۰۰۰۵ ⁱ	۰/۰۱۴ ^g
		CHA0	۰/۸۳ ⁱ	۰/۰۸ ^{ji}	۰/۰۰۰۲ ⁱ	۰/۰۰۶ ^g	
		P.F(۲)	۱۰ ^h	۰/۸ ^h	۰/۰۰۱ ⁱ	۰/۰۷۷ ^g	
	شرایط سخت	پرایم نشده	۱۲/۵ ^{fg}	۱/۵۶ ^g	۰/۰۰۵ ^g	۰/۹۸ ^f	
		تلقیح بعد از انبارداری	T۳۶	۱۸/۳۳ ^f	۲/۸۹ ^f	۰/۰۰۵ ^g	۱/۱۲ ^f
		CHA0	۱۷/۵ ^d	۱/۴۷ ^{de}	۰/۰۰۲ ^d	۰/۰۲۴ ^{de}	
		P.F(۲)	۱۱/۶۶ ^e	۱/۳۰ ^e	۰/۰۰۲ ^d	۰/۱۹ ^e	
	شرایط ملایم	پرایم نشده	۴۳/۳۳ ^c	۴/۹۶ ^c	۰/۰۰۸ ^{ab}	۲/۸۱ ^b	
		تلقیح قبل از انبارداری	T۴۰	۲۷/۵ ^c	۳/۹۸ ^d	۰/۰۰۷ ^b	۱/۳۱ ^c
		CHA0	۱۸/۳۳ ^d	۲/۴۷ ^{de}	۰/۰۰۵ ^c	۰/۶۷ ^{cd}	
		P.F(۲)	۴۵/۸۳ ^{ab}	۶/۴۱ ^b	۰/۰۰۹ ^a	۴/۶۹ ^a	
شرایط سخت	پرایم نشده	۴۵ ^b	۸/۳ ^a	۰/۰۰۹ ^a	۴/۸۰ ^a		
	تلقیح بعد از انبارداری	T۴۰	۷۷/۵ ^a	۶/۵۱ ^b	۰/۰۰۵ ^c	۴/۰۹ ^a	
	CHA0	۲۰ ^d	۲/۳۶ ^d	۰/۰۰۴ ^c	۰/۷ ^{cd}		
	P.F(۲)	۲۰ ^d	۲/۳۶ ^d	۰/۰۰۴ ^c	۰/۷ ^{cd}		

مقایسه میانگین با آزمون L.s.means انجام شده و در هر دوره انبارداری ستون‌های با حروف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی داری با هم ندارند.

ادامه جدول-۲

طول دوره انبارداری	شرایط انبارداری	بیوپرایمینگ+زمان تلقیح	جوانه‌زنی (درصد)	سرعت جوانه‌زنی (بذر در روز)	وزن خشک گیاهچه (گرم)	شاخص بنیه گیاهچه
۹۳ روز	شرایط ملایم	پرایم نشده	۵/۸۳ ^{de}	۰/۶۶ ^c	۰/۰۰۱ ^{cd}	۰/۰۸۸ ^{cd}
		تلقیح قبل از انبارداری	T۳۶	۰ ^e	۰ ^e	۰ ^d
		T۴۰	۲۹/۱۶ ^a	۴/۰۳ ^{aa}	۰/۰۰۷ ^a	۲/۱۲ ^a
		CHA0	۱۹/۱۶ ^b	۱/۹۴ ^b	۰/۰۰۲ ^{bc}	۰/۶۲ ^b
	شرایط سخت	پرایم نشده	۳/۳۳ ^e	۰/۲۳ ^d	۰/۰۰۰۵ ^e	۰/۰۱۱ ^d
		تلقیح بعد از انبارداری	T۳۶	۰ ^e	۰ ^e	۰ ^d
		T۴۰	۳/۳۳ ^e	۰/۳ ^d	۰/۰۰۰۷ ^{de}	۰/۰۱۱ ^d
		CHA0	۹/۱۶ ^{cd}	۰/۷۴ ^c	۰/۰۰۲ ^b	۰/۱۱۱ ^c
	شرایط ملایم	پرایم نشده	۳/۳۳ ^e	۰/۶۷ ^c	۰/۰۰۲ ^{bc}	۰/۱ ^c
		تلقیح قبل از انبارداری	P.F(۲)	۱۰ ^c	۰/۶۷ ^c	۰ ^d
		T۳۶	۳/۳۳ ^e	۰ ^e	۰ ^e	۰ ^d
		T۴۰	۳/۳۳ ^e	۰ ^e	۰ ^e	۰ ^d
شرایط سخت	پرایم نشده	۳/۳۳ ^e	۰ ^e	۰ ^e	۰ ^d	
	تلقیح بعد از انبارداری	P.F(۲)	۱۰ ^c	۰/۶۷ ^c	۰ ^d	
	T۳۶	۳/۳۳ ^e	۰ ^e	۰ ^e	۰ ^d	
	T۴۰	۳/۳۳ ^e	۰ ^e	۰ ^e	۰ ^d	
۱۳۰ روز	شرایط ملایم	پرایم نشده	۱/۶۶ ^{bc}	۰/۱۶ ^b	۰/۰۰۰۵ ^b	۰/۰۲۷ ^b
		تلقیح قبل از انبارداری	T۳۶	۰ ^e	۰ ^e	۰ ^d
		T۴۰	۲۲/۵ ^a	۱/۹۴ ^a	۰/۰۰۲ ^a	۰/۴۸ ^a
		CHA0	۱/۶۶ ^{bc}	۰/۱۰ ^b	۰ ^e	۰ ^d
	شرایط سخت	پرایم نشده	۰/۸۳ ^{bc}	۰/۰۶ ^b	۰/۰۰۲ ^b	۰/۰۱۱ ^d
		تلقیح بعد از انبارداری	P.F(۲)	۰ ^e	۰ ^e	۰ ^d
		T۳۶	۰ ^e	۰ ^e	۰ ^e	۰ ^d
		T۴۰	۰ ^e	۰ ^e	۰ ^e	۰ ^d
	شرایط ملایم	پرایم نشده	۲/۵ ^{bc}	۰/۲۲ ^b	۰/۰۰۰۲ ^b	۰/۰۰۰۶ ^b
		تلقیح قبل از انبارداری	CHA0	۲/۵ ^b	۰/۲۲ ^b	۰/۰۰۰۲ ^b
		T۳۶	۲/۵ ^b	۰/۱۷ ^b	۰/۰۰۰۲ ^b	۰/۰۰۰۹ ^b
		T۴۰	۲/۵ ^b	۰/۱۷ ^b	۰/۰۰۰۲ ^b	۰/۰۰۰۹ ^b
شرایط سخت	پرایم نشده	۲/۵ ^b	۰ ^e	۰ ^e	۰ ^d	
	تلقیح بعد از انبارداری	P.F(۲)	۰ ^e	۰ ^e	۰ ^d	
	T۳۶	۲/۵ ^b	۰ ^e	۰ ^e	۰ ^d	
	T۴۰	۲/۵ ^b	۰ ^e	۰ ^e	۰ ^d	

مقایسه میانگین با آزمون L.s.means انجام شده و در هر دوره انبارداری ستون‌های با حروف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

باعث تحریک آنزیم‌های مؤثر در جوانه‌زنی (آلفا-آمیلاز) شده که می‌تواند سبب تجزیه نشاسته شود و کاهش پویایی ذخایر بذر را جبران کند. غلامی تیله‌بنی و همکاران (۱۳۹۱) در پژوهشی با عنوان تأثیر پرایمینگ و زوال بذر بر تغییرات خصوصیات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه برنج به این نتیجه رسیدند با افزایش فرآیند زوال، وزن خشک گیاهچه برنج کاهش یافت، اما میزان این کاهش برای بذرهای هیدروپرایمینگ شده کمتر بود. مقایسه میانگین برهمکنش بیوپرایمینگ و شرایط انبارداری برای صفت شاخص بنیه گیاهچه (جدول ۲) نشان داد که در طول ۳۱ روز انبارداری و در سطح شرایط ملایم تیمار بذور با P.F(۲) در هر دو حالت تلقیح بیشترین مقدار بنیه طولی را نشان داد. در همین دوره و در سطح شرایط سخت تأثیر تیمارهای بیوپرایمینگ بر روی بذرهای زوال‌یافته کمتر بود و افزایش بنیه طولی در پرایم کردن بذرها با تیمارهای قارچی در حالت تلقیح بعد از انبارداری مشاهده شد. در انتهای ۵۳، ۹۳ و ۱۳۰ روز انبارداری، در سطح شرایط ملایم تیمار T_{۴۰} در تلقیح قبل از انبارداری بیشترین مقدار بنیه را نسبت به سایر تیمارها داشتند. کاهش شاخص بنیه طولی گیاهچه ناشی از کاهش اجزا آن یعنی درصد جوانه‌زنی و طول گیاهچه است که هر دو در شرایط زوال کاهش یافتند. Basra و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که با افزایش طول دوره پیری زودرس طول گیاهچه و وزن تر آن کاهش می‌یابد. گزارش شده است که بیوپرایمینگ با سویه‌های باکتریایی می‌تواند از طریق ترشح هورمون‌های رشدی مانند اکسین طول گیاهچه و در نتیجه شاخص بنیه بذر را بهبود دهد (Rudolph et al, 2015).

اثر متقابل سه‌گانه زمان انبارداری، شرایط انبارداری و بیوپرایمینگ برای صفت نشت الکترولیت‌ها در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). در مقایسه با صفات جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای روند تغییرات نشت الکترولیت‌ها با طول دوره انبارداری و زوال بذر روندی مخالف نشان داد. در همه دوره‌های انبارداری بیشترین نشت الکترولیت در بذور پرایم‌نشده مشاهده شد. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که پس

پرایمینگ می‌تواند اثر زوال را تا حدودی برطرف کند، در این رابطه بلدی (۱۳۹۳) در تحقیقات خود بر روی بهبود بذور زوال‌یافته کتان با استفاده از پرایمینگ، گزارش کردند که پرایم کردن بذرهای پیرشده با اسکوربیک اسید و اسموپرایمینگ، سرعت جوانه‌زنی را نسبت به بذرهای پرایم نشده افزایش داد.

نتایج مقایسه میانگین صفت وزن خشک گیاهچه نشان داد که پس از ۳۱ روز انبارداری و در سطح شرایط ملایم وزن خشک گیاهچه در تلقیح بذرها با سویه‌های قارچ و باکتری افزایش یافت، در این شرایط حداکثر وزن خشک گیاهچه در پرایم کردن بذرها با سویه P.F(۲) بعد از انبارداری به دست آمد. در همین دوره، در سطح شرایط سخت تیمارهای قارچی T_{۳۶} و T_{۴۰} در تلقیح بعد از انبارداری بیشترین تأثیر را در افزایش وزن خشک گیاهچه داشتند. در زمان دوم انبارداری و در سطح شرایط ملایم نیز تیمارهای بیوپرایمینگ مشابه دوره قبل باعث افزایش وزن خشک گیاهچه شدند. پس از ۹۳ و ۱۳۰ روز انبارداری، تلقیح بذرها با سویه‌های T_{۴۰} قبل از انبارداری در سطح شرایط ملایم، حداکثر وزن خشک را نشان دادند (شکل ۳). این تیمار توانست تا حدودی سرعت زوال را کنترل کند. به نظر می‌رسد کاهش وزن خشک گیاهچه با افزایش دوره انبارداری، می‌تواند به علت کاهش میزان پویایی ذخایر بذر یا کاهش تبدیل ذخایر پویا باشد (Soltani et al, 2001). مطابق گزارش‌های موجود با زوال بذر در گندم میزان فعالیت آلفا و بتا آمیلاز که از آنزیم‌های هیدرولیتیک در فرآیند جوانه‌زنی است، کاهش می‌یابد که می‌تواند روی جزء اول رشد هتروتروفیک (پویایی ذخایر بذر) مؤثر باشد. Krishnan و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که فرسودگی بذر باعث افزایش تنفس در گیاهچه‌های گندم شد و همچنین میزان DNA سنتتاز و سنتز پروتئین نیز در اثر فرسودگی بذر کاهش یافت که می‌تواند بر روی جزء دوم هتروتروفیک (کاهش تبدیل ذخایر بذر) مؤثر باشد. به نظر می‌رسد بیوپرایمینگ بذر با باکتری‌های محرک رشد در طی انبارداری باعث تولید هورمون جیبرلین شده که این هورمون علاوه بر تقسیم سلولی

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر طول دوره انبارداری، شرایط انبارداری و بیوپرایمینگ برای شاخص نشت الکترولیت بذر کتان

میانگین مربعات		
منابع تغییر	درجه آزادی	نشت الکترولیت‌ها
زمان انبارداری (A)	۳	۲۱۰۴۴/۰۳**
شرایط انبارداری (B)	۱	۱۲۳۶۸/۳۴**
بیوپرایمینگ (C)	۴	۷۸۴۵/۷۲**
A×B	۳	۱۱۲۸/۹۴**
A×C	۱۲	۱۴۶۱/۱۶**
B×C	۴	۲۳۳۶/۸۳**
A×B×C	۱۲	۱۴۰۴/۱۹**
خطا	۱۲۰	۷۲/۳۸
ضریب تغییرات	-	۶/۴۷

** نشانگر معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد

جدول ۴- مقایسه میانگین برهمکنش اثر تیمارهای بیوپرایمینگ و شرایط انبارداری در طی دوره انبارداری (۳۰، ۵۳، ۹۳ و ۱۳۰ روز) برای شاخص نشت الکترولیت (میکروزیمنس بر سانتی متر بر گرم) بذر کتان رقم نورمن

شرایط انبارداری	بیوپرایمینگ	طول دوره انبارداری			
		روز ۳۱	روز ۵۳	روز ۹۳	روز ۱۳۰
شرایط ملایم	پرایم نشده	۱۲۱/۲۴ ^b	۱۳۹/۰۶ ^{bc}	۱۵۵/۱۵ ^b	۱۷۶/۱۸ ^c
	T۳۶	۱۰۷/۱۷ ^c	۱۱۱/۵۵ ^c	۱۲۸/۶۸ ^{cd}	۱۲۰/۳۲ ^{fg}
	T۴۰	۹۹/۵۷ ^{cd}	۱۱۰ ^c	۱۲۴/۴۲ ^{cd}	۱۳۰/۶۸ ^f
	CHA0	۸۵/۳۸ ^e	۱۱۱/۹۸ ^c	۱۲۸/۲۸ ^{cd}	۱۴۶/۹۱ ^e
	P.F(۲)	۸۳/۲۷ ^e	۹۴/۴۵ ^d	۱۲۶/۶۲ ^{cd}	۱۱۶/۳۰ ^g
شرایط سخت	پرایم نشده	۱۳۸/۰۴ ^a	۱۵۹/۴۳ ^a	۱۷۷/۲۳ ^a	۲۰۳/۳۳ ^a
	T۳۶	۱۱۰/۲۱ ^c	۱۰۷/۲۳ ^{cd}	۹۷/۰۶ ^e	۱۵۶/۱۸ ^{de}
	T۴۰	۹۰/۶۱ ^d	۱۱۱/۳۱ ^c	۱۱۸/۹۶ ^d	۱۵۶/۸۳ ^{de}
	CHA0	۱۰۸/۲۷ ^c	۱۴۴/۷۱ ^b	۱۴۰/۴۲ ^c	۱۹۰/۸۷ ^b
	P.F(۲)	۸۹/۰۱ ^{de}	۱۵۲/۷۰ ^{ab}	۱۲۸/۹۵ ^{cd}	۱۵۹/۱۱ ^d

مقایسه میانگین‌ها با آزمون L.s.means انجام شده و در هر دوره انبارداری ستون‌های با حروف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی داری با هم ندارند.

پس از ۵۳ روز انبارداری بذرها در سطح شرایط ملایم، کمترین میزان نشت مواد از بذرها با مقدار ۹۴/۴۵ میکروزیمنس بر سانتی‌متر بر گرم بذر در پرایم کردن بذرها با سویه P.F(۲) مشاهده شد و در همین دوره در شرایط سخت کمترین

از ۳۱ روز انبارداری در سطح شرایط ملایم کمترین مقدار نشت مواد از بذرها در تلقیح بذرها با سویه‌های CHA0 و P.F(۲) مشاهده شد (جدول ۴). در همین دوره در سطح شرایط سخت، سویه‌های T۴۰ و P.F(۲) حداقل مقدار نشت را داشتند.

جدول ۵- تجزیه واریانس اثر طول دوره انبارداری، شرایط انبارداری و بیوپرایمینگ برای برخی شاخص‌های بیوشیمیایی بذور کتان

میانگین مربعات				
منابع تغییر	درجه آزادی	فعالیت پراکسیداز	محتوای قند محلول	محتوای مالون دی آلدئید
زمان انبارداری (A)	۳	۰/۳۵۶۲**	۱۰۰/۶۸**	۰/۲۱۵۶**
شرایط انبارداری (B)	۱	۰/۰۶۲۳*	۱۱/۱۶ ^{ns}	۰/۰۰۷۷**
بیوپرایمینگ (C)	۶	۰/۱۷۰۷**	۱۱۷/۴۱**	۰/۰۰۳۳**
A×B	۳	۰/۲۱۴۰**	۱۶/۷۰**	۰/۰۰۱۴**
A×C	۱۸	۰/۲۱۸۴**	۲۵/۰۲**	۰/۰۰۲۲**
B×C	۶	۰/۰۶۴۷**	۹۲/۸۶**	۰/۰۰۱۵*
A×B×C	۱۸	۰/۱۷۰۱**	۱۹/۴۳**	۰/۰۰۲۰**
خطا	۱۲۲	۰/۰۰۹۲	۳/۲۰	۰/۰۰۰۶
ضریب تغییرات	-	۱۶/۸۱	۱۲/۲۴	۱۹/۵۰

**و* به ترتیب نشانگر معنی‌داری در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد

اثر تیمارهای بیوپرایمینگ و شرایط انبارداری برای هر دو رقم طی دوره انبارداری (۳۱، ۵۳، ۹۳ و ۱۳۰ روز) در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. مقایسه میانگین حاصل از برش‌دهی (جدول ۶) نشان داد که پس از ۳۱ روز انبارداری و در سطح شرایط ملایم بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در تلقیح بذرها با سویه T۳۶ قبل از انبارداری و کمترین میزان فعالیت آنزیم در همین سطح در پرایمینگ بذرها با تیمار CHA0 بعد از انبارداری به‌دست آمد، در همین دوره انبارداری و در سطح شرایط سخت، تلقیح با باکتری CHA0 بعد از انبارداری حداکثر فعالیت آنزیم را نشان داد. در دوره دوم انبارداری (۵۳ روز) در هر دو سطح زوال بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار پرایم نشده مشاهده شد و کمترین میزان فعالیت آنزیم در سطح شرایط ملایم در پرایمینگ بذرها با CHA0 قبل از انبارداری و در سطح شرایط سخت در تیمار T۳۹ در تلقیح قبل از انبارداری و (۲) P.F در تلقیح بعد از انبارداری مشاهده شد. پس از ۹۳ روز انبارداری در سطح شرایط ملایم حداکثر فعالیت آنزیم در پرایم‌کردن بذرها با تیمار T۳۶ قبل از انبارداری و حداقل در تیمار CHA0 در تلقیح قبل از انبارداری بود. در همین دوره در سطح شرایط سخت، تیمار T۴۰ در تلقیح قبل از انبارداری و (۲) P.F در تلقیح بعد از انبارداری بیشترین فعالیت

نشت مواد در پرایم‌کردن بذرها با سویه‌های T۳۶ و T۴۰ قارچ تریکودرما به‌دست دادند و بین تیمارهای بیوپرایمینگ در سطح شرایط ملایم تفاوت معنی‌داری دیده نشد. سرعت میزان نشت مواد در تیمارهای پرایم نشده در دوره‌های اول و دوم کمتر از دوره‌های سوم و چهارم بود و افزایش سرعت نشت به طور چشمگیر در دوره سوم و چهارم قابل مشاهده بود. مطالعات انجام شده توسط طهماسبی و همکاران (۱۳۹۴) نشان داد که در طول دوره انبارداری افزایش میزان اسیدهای چرب آزاد منجر به افزایش هیدروپراکسیدها در بذرها زوال‌یافته آفتابگردان شده و در نتیجه منجر به تخریب غشاهای سلولی شد که شاهد افزایش هدایت الکتریکی در بذرها آفتابگردان بود. بهبود توانایی جوانه‌زنی بذور پرایم شده تا حدودی می‌تواند به دلیل اثرات ترمیمی این تیمارها برای غشاهای صدمه دیده باشد که از نشت مواد به بیرون بذر جلوگیری نموده و با کنترل آبیگری به فرایندهای جوانه‌زنی کمک می‌نماید.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش سه گانه طول دوره انبارداری، شرایط انبارداری و بیوپرایمینگ بذر برای فعالیت آنزیم پراکسیداز، محتوای قند محلول و غلظت مالون‌دی‌آلدئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۵). نتایج حاصل از برش‌دهی نشان داد که برهمکنش

باشند. روند معکوس تغییرات جوانه‌زنی و نیز محتوای قند محلول با افزایش طول دوره انبارداری می‌تواند شاهدی بر این ادعا باشد. چرا که تیمارهایی که محتوای قند محلول بالاتری داشتند معمولاً جوانه‌زنی پایین‌تری از خود نشان دادند. غلامی تپله بنی و همکاران (۱۳۸۹) در پژوهشی با عنوان بررسی رشد هتروتروفیک گیاهچه برنج و تغییرات غلت پرولین و قندهای محلول تحت سطوح فرسودگی بذر به این نتیجه رسیدند که با افزایش زوال بذربرنج، مقدار قند محلول افزایش یافت.

روند تغییرات محتوای مالون دی‌آلدهید (MDA) با زمان انبارداری و شدت زوال از الگوی مشابه با محتوای قند تبعیت کرد. مقدار این صفت در طی انبارداری با شیب بسیار زیادی در بذرها افزایش یافت. مقایسه میانگین حاصل از برش‌دهی نشان داد که پس از ۳۱ روز انبارداری، در سطح شرایط ملایم و شدید به ترتیب بیشترین محتوای مالون دی‌آلدهید در تلقیح بذرها با T_{40} و $P.F(2)$ قبل از انبارداری به دست آمد. در پایان دوره دوم انبارداری و در سطح شرایط ملایم افزایش در MDA در تیمارهای بیوپرایمینگ به خوبی مشاهده شد و کمترین مقدار MDA در همین دوره در سطح شرایط سخت در پرایم‌کردن بذرها بعد از انبارداری با تیمارهای باکتریایی به دست آمد (جدول ۶). در دوره سوم انبارداری کاهش در مقدار MDA در تیمارهای بیوپرایمینگ در هر دو سطح زوال اتفاق افتاد و حداقل مقدار MDA در تیمار T_{36} و CHA0 در تلقیح قبل از انبارداری در سطح شرایط ملایم مشاهده شد. مقدار این شاخص در پایان دوره چهارم انبارداری به بیش از دو برابر دوره سوم افزایش پیدا کرد. در این دوره کمترین مقدار MDA در پرایمینگ بذرها با T_{40} و CHA0 قبل از انبارداری در سطح شرایط ملایم مشاهده شد و در سطح شرایط سخت تیمارهای باکتریایی در دو حالت تلقیح کاهش مقدار مالون دی‌آلدهید را نشان دادند. به نظر می‌رسد شرایط زوال بذر سبب پراکسیداسیون لیپیدها و در نتیجه افزایش میزان MDA شده است و تیمارهای باکتریایی با کنترل سرعت پراکسیداسیون از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت تا حدودی توانستند مقدار مالون دی‌آلدهید را کاهش دهند.

آنزیمی را نشان دادند. روند مشابهی در دوره انبارداری ۱۲۰ روز مشاهده شد. هماهنگ با فعالیت جوانه‌زنی، بیشتر بودن فعالیت این آنزیم در بذرها بیوپرایم‌شده در مقایسه با بذور پرایم نشده می‌تواند حاکی از نقش مثبت پراکسیداز در کنترل زوال بذر و نیز بهبود جوانه‌زنی باشد. Bernal و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند که در بذور ذرت فعالیت آنزیم پراکسیداز در بذور پیر شده پایین‌تر بود. مقایسه میانگین برهمکنش اثر بیوپرایمینگ و شرایط انبارداری (جدول ۶) برای صفت محتوای قند محلول بذر نشان داد که پس از ۳۱ روز انبارداری در شرایط ملایم (محتوای رطوبت ۱۷ درصد و دمای ۱۵ درجه سلسیوس) حداکثر محتوای قند محلول در تلقیح قبل از انبارداری بذرها با سویه‌های T_{40} و $P.F(2)$ به دست آمد و در شرایط سخت (محتوای رطوبت ۹ درصد و دمای ۳۵ درجه سلسیوس) حداکثر مقدار این ترکیب در تیمارهای $P.F(2)$ و T_{36} در تلقیح قبل از انبارداری به دست آمد. حداکثر مقدار قند محلول در پایان ۵۳ روز انبارداری در شرایط ملایم به ترتیب در تیمارهای تلقیح قبل از انبارداری با CHA0 و T_{40} و در شرایط سخت به ترتیب در CHA0 و T_{40} و $P.F(2)$ به دست آمد. در دوره سوم نگهداری بذرها، در سطح شرایط ملایم و شدید به ترتیب T_{40} و CHA0 بیشترین مقدار قند را داشتند. در ۱۳۰ روز پس از شروع انبارداری تلقیح بذرها با $P.F(2)$ قبل از انبارداری بیشترین میزان محتوای قند محلول را داشتند و تلقیح بعد از انبارداری محتوای قند محلول را نسبت به بذور تیمار نشده کاهش داد.

به نظر می‌رسد افزایش قندهای محلول (عمدتاً الیگوساکاریدها) ناشی از تیمارهای بیوپرایمینگ می‌تواند در شرایط مواجهه با تنش مانع از تغییر فاز سیالیت غشاء و در نتیجه از هم گسیختن ساختمان دو لایه غشاء فسفولیپیدی طی زوال شوند (Bernal- Lugo and Leopld, 1992). این در حالی است افزایش قندهای محلول از نوع مونو و دی ساکاریدها طی انبارداری و در طی زوال بذر می‌تواند نشان‌دهنده وضعیت نامطلوب بذر و افزایش تنفس بذر و نیز تجزیه ذخایر بذری

جدول 6- مقایسه میانگین برهمکنش اثر بیوپرایمینگ و شرایط انبارداری در دوره انبارداری برای برخی مولفه‌های بیوشیمیایی بذر کتان رقم نورمن.

طول دوره انبارداری	شرایط انبارداری	بیوپرایمینگ	فعالیت آنزیم پراکسیداز (میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر بذر)	محتوای قند محلول (میلی گرم بر گرم وزن تر بذر)	محتوای مالون دی آلدئید (میکرومول بر گرم وزن تر بذر)	
31 روز	شرایط ملایم	پرایم نشده	6/76 ^{cd}	10/75 ^{cd}	0/0017 ^{cd}	
		T36	10/93 ^a	11/72 ^{a-c}	0/0020 ^{cd}	
		T40	1/55 ^{de}	16/63 ^{ab}	0/0151 ^{cd}	
		CHA0	7/25 ^{b-d}	10/30 ^{cd}	0/0030 ^{cd}	
		P.F(2)	0/75 ^{ef}	12/47 ^{a-c}	0/0081 ^b	
		تلقیح قبل از انبارداری				
	شرایط سخت	T36				
		T40				
		CHA0	0/30 ^f	8/83 ^{de}	0/0035 ^{cd}	
		P.F(2)	5/75 ^{cd}	6/62 ^{ef}	0/0039 ^{cd}	
		پرایم نشده	3/25 ^{a-c}	8/89 ^{de}	0/0039 ^{cd}	
		T36	2/50 ^{b-d}	17/90 ^a	0/0027 ^{cd}	
53 روز	شرایط ملایم	T40	0/75 ^{ef}	14/18 ^{b-d}	0/0039 ^{cd}	
		CHA0	3/25 ^{a-c}	8/5 ^{de}	0/0045 ^{cd}	
		P.F(2)	1/25 ^{b-d}	13/75 ^{a-c}	0/0141 ^a	
		تلقیح بعد از انبارداری				
		T36				
		T40				
	شرایط سخت	CHA0	3/75 ^{ab}	8/49 ^f	0/0023 ^{cd}	
		P.F(2)	0/50 ^f	6/69 ^{ef}	0/0049 ^{bc}	
		پرایم نشده	4/76 ^a	12/56 ^{de}	0/0038 ^{c-e}	
		T36	2/25 ^c	12/33 ^{e-h}	0/0051 ^{cd}	
		T40	3/50 ^{ab}	17/85 ^a	0/0068 ^{a-c}	
		CHA0	0/50 ^e	16/43 ^{ab}	0/0061 ^{b-d}	
53 روز	شرایط ملایم	P.F(2)	1 ^{cd}	6/86 ⁱ	0/0069 ^{b-d}	
		T36				
		T40				
		CHA0	0/75 ^{de}	13/01 ^{c-g}	0/0070 ^{a-c}	
		P.F(2)	2/50 ^c	11/85 ^{f-h}	0/0095 ^{a-c}	
		پرایم نشده	2/75 ^{a-c}	12/95 ^{c-g}	0/0080 ^{a-c}	
	شرایط سخت	T36	0/50 ^e	10/55 ^{gh}	0/0075 ^{a-e}	
		T40	0/75 ^c	15/26 ^{a-e}	0/0106 ^a	
		CHA0	1/50 ^{bc}	15/96 ^{a-c}	0/0056 ^{b-d}	
		P.F(2)	3 ^{cd}	15/54 ^{a-d}	0/0099 ^{ab}	
		T36				
		T40				
شرایط سخت	CHA0	1/25 ^{cd}	9/86 ^{hi}	0/0024 ^{cd}		
	P.F(2)	0/50 ^e	13/73 ^{b-f}	0/0061 ^{b-d}		

مقایسه میانگین‌ها با آزمون L.s.means انجام شده و در هر دوره انبارداری ستون‌های با حروف مشترک در سطح احتمال 5 درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

جدول ۶- ادامه

طول دوره انبارداری	شرایط انبارداری	بیوپرایمینگ	فعالیت آنزیم پراکسیداز (میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر بذر)	محتوای قند محلول (میلی گرم بر گرم وزن تر بذر)	محتوای مالون دی‌آلدئید (میکرومول بر گرم وزن تر بذر)	
۹۳ روز	شرایط ملایم	پرایم نشده	۳/۲۵ ^{ab}	۱۴/۵۳ ^{fg}	۰/۰۲۲ ^{ab}	
		T۳۶	۴/۲۶ ^a	۱۴/۹۷ ^{ef}	۰/۰۱۱ ^d	
		T۴۰	۳/۲۵ ^a	۱۹/۶۹ ^b	۰/۰۲۲ ^{ab}	
		CHA0	۰/۵۰ ^c	۱۷/۱۲ ^{cd}	۰/۰۱۳ ^{cd}	
		P.F(۲)	۳/۹۸ ^{ab}	۱۲/۰۷ ^g	۰/۰۲۰ ^{a-c}	
		T۳۶	.	.	.	
	شرایط سخت	T۴۰	.	.	.	
		CHA0	۳/۵۰ ^{ab}	۱۶/۴۸ ^{c-e}	۰/۰۲۲ ^{ab}	
		P.F(۲)	۱/۵۰ ^{bc}	۹/۵۱ ^h	۰/۰۲۲ ^{ab}	
		پرایم نشده	۱/۷۵ ^{a-c}	۱۷/۱۷ ^{cd}	۰/۰۲۴ ^a	
		T۳۶	۳/۷۵ ^{bc}	۱۵/۰۶ ^{d-f}	۰/۰۲۱ ^{ab}	
		T۴۰	۴/۷۶ ^{ab}	۱۷/۶۵ ^{bc}	۰/۰۱۵ ^{b-d}	
۱۳۰ روز	شرایط ملایم	از انبارداری قبل	۱/۷۵ ^{a-c}	۲۶/۲۰ ^a	۰/۰۰۹ ^d	
		از انبارداری	P.F(۲)	۱ ^{bc}	۱۵/۹۰ ^{c-e}	۰/۰۱۰ ^d
		T۳۶	.	.	.	
		T۴۰	.	.	.	
		CHA0	۳/۲۱ ^{bc}	۹/۱۸ ^{hi}	۰/۰۰۸ ^d	
		P.F(۲)	۴/۲۵ ^{ab}	۷/۳۳ ^{ei}	۰/۰۰۸ ^d	
	شرایط سخت	پرایم نشده	۰/۲۵ ^c	۱۷ ^e	۰/۰۵۸ ^{b-d}	
		T۳۶	۱ ^{bc}	۱۹/۷۹ ^b	۰/۰۶۳ ^{bc}	
		T۴۰	۱/۷۵ ^{bc}	۱۹/۸۲ ^b	۰/۰۴۲ ^{c-e}	
		CHA0	۱/۵ ^{bc}	۱۸/۵۸ ^{bc}	۰/۰۳۸ ^{de}	
		P.F(۲)	۲/۵ ^c	۱۵/۸۳ ^d	۰/۰۷۱ ^{ab}	
		T۳۶	.	.	.	
شرایط ملایم	T۴۰	.	.	.		
	CHA0	۰/۵ ^{cd}	۱۹/۶۰ ^b	۰/۰۵۹ ^{b-d}		
	P.F(۲)	۰/۲۵ ^c	۱۸/۴۸ ^{bc}	۰/۰۵۴ ^{b-d}		
	پرایم نشده	۰/۵ ^c	۲۰/۷۲ ^{ab}	۰/۰۶۳ ^{bc}		
	T۳۶	۰/۵ ^c	۱۹/۳۰ ^b	۰/۰۷۵ ^a		
	T۴۰	۹/۵ ^a	۱۴/۴۳ ^{de}	۰/۰۵۵ ^{b-d}		
شرایط سخت	از انبارداری	CHA0	۱/۵ ^{bc}	۱۶/۶۴ ^{cd}	۰/۰۴۳ ^{c-e}	
	از انبارداری	P.F(۲)	۴/۲۶ ^b	۲۲/۵۶ ^a	۰/۰۲۶ ^{ef}	
	T۳۶	.	.	.		
	T۴۰	.	.	.		
	CHA0	۰/۵ ^{cd}	۷/۳۸ ^f	۰/۰۳۳ ^{de}		
	P.F(۲)	۱ ^{bc}	۷/۵۸ ^f	۰/۰۴۸ ^{b-c}		

مقایسه میانگین‌ها با آزمون L.s.means انجام شده و در هر دوره انبارداری ستون‌های با حروف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

نشت الکترولیت، محتوای قند محلول و محتوای مالون دی آلدئید با زمان انبارداری و سطح زوال افزایشی بود. تیمارهای بیوپرایمینگ با قارچ *Trichoderma harzianum* و باکتری *Pseudomonas fluorescens* توانستند حدود ۴۰ درصد اثرات منفی زوال بذر طی ۳۱ و ۵۳ روز انبارداری نامناسب را کاهش دهند. به طور کلی، میزان تأثیرگذاری سویه‌های T36 و T40 تریکودرما در حالت تلقیح قبل از انبارداری و سویه‌های CHA0 و P.F (2) سودوموناس در حالت تلقیح بعد از انبارداری بیشتر بود. نتایج کلی پژوهش حاضر نشان‌دهنده این موضوع است، که پرایمینگ بذرها با تیمارهای زیستی می‌تواند روشی برای کنترل سرعت فرایند زوال بذرها طی دوره انبارداری و بهبود اثرات آن پس از انبارداری باشد.

روند معکوس تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز و محتوای MDA با افزایش طول دوره انبارداری و بیوپرایمینگ می‌تواند شاهدی بر این ادعا باشد. طهماسبی و همکاران (۱۳۹۴) گزارش کردند با افزایش فرایند زوال در بذرهاى آفتابگردان، مقدار مالون‌دی‌آلدئید افزایش یافت.

نتیجه‌گیری:

بررسی شاخص‌های جوانه‌زنی بذر کتان (رقم نورمن) نشان داد که در طی دوره انبارداری شاخص‌های جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای این گیاه دچار افت شده و به ترتیب پس از ۵۳ و ۹۳ روز انبارداری در شرایط ملایم (دمای °C ۱۵، محتوای رطوبت بذر ۱۷ درصد) و شرایط سخت (دمای °C ۳۵، محتوای رطوبت بذر ۹ درصد) به صفر رسید. روند تغییرات شاخص‌های میزان

منابع:

- ایران نژاد، ح. و حسینی مزینانی، م. (۱۳۸۴) بررسی اثر تاریخ کاشت بر عملکرد دانه سه رقم کتان روغنی در ورامین، مجله علوم کشاورزی ۱۱: ۱۱۹-۱۱۱.
- بلدی، س. (۱۳۹۳) بررسی طول عمر و ظرایب حیات بذور دو رقم کتان روغنی (*Linum usitatissimum* L.) و یک رقم بالنگو (*Lallemantia royleana*) در شرایط انبارداری متفاوت و اثر پرایمینگ در ترمیم زوال ناشی از آن. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه یاسوج، ایران.
- طهماسبی، ب.، قاردی‌فر، ف.، صادقی‌پور، ح. ر. و گالشی، س. (۱۳۹۴) تأثیر زوال تسریع‌شده بر پارامترهای جوانه‌زنی، اسیدهای چرب و هیدروکسیدهای لیپیدی بذرهاى آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.)، مجله فرایند و کارکرد گیاهی ۴: ۸۳-۷۴.
- عالیوند، ر.، توکل افشاری، ر. و شریف زاده، ف. (۱۳۹۲) بررسی روند جوانه‌زنی بذر کلزا، مجله علوم گیاهان زراعی ایران ۴۴: ۸۳-۶۹.
- غلامی تیله بنی، ح.، بابائیان، م. موسوی نیک، س. م. و احمدیان، ا. (۱۳۸۹) بررسی رشد هتروتروفیک گیاهچه برنج و تغییرات غلت پرولین و قندهای محلول تحت سطوح فرسودگی بذر. پنجمین همایش ملی ایده‌های نو در کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خوراسگان (اصفهان).
- محمدی، ه.، سلطانی، ا. و صادقی پور، ح. ر. (۱۳۸۷) تأثیر زوال بذر بر رشد رویشی سویا، مجله علوم کشاورزی گرگان ۱۱۸: ۱۱۵-۱۱۲.
- Basra, S. M., Ahmad, N. Khaw, M. Iqbal, M. N. and Cheema, M. N. (2003) Assessment of cotton seed deterioration during accelerated aging. *Seed Science and Technology* 31: 531-540.
- Basra, S. M., Ashraf, A. M. Iqbal, N. Khaliq, A. and Ahmad, R. (2004) Physiological and biochemical aspects of pre-sowing heat stress on cotton seed. *Seed Science and Technology* 32:765- 774.
- Bernal- Lugo, I and Leopld, A.C. (1992) Changes in Soluble Carbohydrates during seed storage. *Plant Physiology* 98: 1207-1210.
- Bernal, L., A. Camacho and Carballo, A. (2000) Effect of seed aging on the enzymic antioxidant system of maize cultivars. In: *The Biology of Seeds* (ed. Black, M., Bradford, K. J. and Vazquez-Ramos, J.) Pp. 157-160. CABI publishing, UK.
- Hampton, J. G and Tekrony, D.M. (1995) Handbook of vigor test methods. (ed. Zurich: ISTA) Pp117.
- Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125:189-198.

- ISTA. (2010) International rules for seed testing. The International seed testing Association (ISTA).
- Irigoyen, J. J., Emerich, D. W. and Sanchesdiaz, M. (1992) Water stress induces changes in concentration of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa plant. *Physiological Plantarum* 84: 55-60.
- Kar, M. and Mishra, D. (1976) Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology* 57:315-319.
- Krishnan, P., Nagarajan, S. and Moharir, A. V. (2003) Thermodynamic characterization of seed deterioration during storage under accelerated aging conditions. *Biosystems Engineering* 89: 425-433.
- Lehner, A., Mamadou, N., Poels, P., Come, D., Bailly, C. and Corbineau, F. (2008) Changes in soluble carbohydrates, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in the embryo during ageing in wheat grains. *Journal of Cereal Science* 47:555-565.
- Ma, Y., Prasad, M. N. V., Rajkumar, M. and Freitas, H. 2011 Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. *Biotechnology Advances*, 29: 248-258.
- Pacome Noumavo A., Emeric, K., Yedeou Didagbe, O., Adolphe, Marcellin, A., Rachidatou, S., Emma Gachomo, W., Simeon Kotchoni, O. and Lamine, B. M (2013) ination and Seedling Development. *American Journal of Plant Sciences* 4: 1013-1021.
- Priestley, D. A. (1986) Seed ageing. Cornell University Press, Ithaca, New York.
- Reddy, P. P. (2013) Recent advances in crop protection. Springer, Pp 259.
- Reddy, Y. T. N and Khan, M. M. 2001 Effect of osmopriming on germination, seedling growth and vigour of khirni (*Mimusops hexandra*) seeds. *Seed Research* 29: 24-27.
- Rudolph, N., Labuschagne, N. and Aveling, T.A.S. (2015) The effect of plant growth promoting rhizobacteria on seed germination and seedling growth of maize. *Seed Science and Technology* 43: 1-12.
- Siadat, A., Moosavi, S. A. M, Sharafi Zadeh, Fotouhi, F. and Zirezadeh, M. 2011 Effects of halo and phytohormone seed priming on germination and seedling growth of maize under different duration of accelerated ageing treatment. *African Journal of Agricultural Research* 6: 6453-6462.
- Soltani, A., Zeinali, E., Galeshi, S. and Latifi, N. (2001) Genetic variation for and interrelationships among seed vigor traits in wheat from the Caspian Sea coast of Iran. *Seed Science and Technology*, 29:653-662.
- Upadhyaya, A., Sankhla Davis, N. and Smith, B. N. (1985) Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. *Plant Physiology* 121: 453-461.
- Verma, S. K., Bjpai, G. C. Tewari, S. K. and Singh, J. 2005. Seedling index and yield as influenced by seed size in pigeon pea. *Legume Research* 28: 143-145.

