



علوم و تحقیقات بذر ایران

سال دوازدهم/ شماره چهارم/ ۱۴۰۴ (۱۴ - ۱)

مقاله پژوهشی

DOI: 10.22124/jms.2026.9711



الگوی پیشرفت چرخه سلولی در نوک ریشه‌چه و ارتباط آن با بنیه بذر در گندم (*Triticum aestivum* L.)

نجمه صالحان^۱، محمد خواجه حسینی^{۲*}، علیرضا سیفی^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۱/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۱/۲۶

چکیده

بنیه بذر نقش تعیین‌کننده‌ای در استقرار و رشد اولیه گندم (*Triticum aestivum* L.) دارد، با این حال سازوکارهای سلولی ایجادکننده تفاوت‌های بنیه در مراحل ابتدایی جوانه‌زنی به‌طور کامل روشن نشده‌اند. در این پژوهش، پیشرفت چرخه سلولی در نوک ریشه‌چه جنینی به‌عنوان شاخصی مرتبط با بنیه بذر، با استفاده از فلوسایتومتری مورد بررسی قرار گرفت. چهار توده بذر گندم با سطوح متفاوت بنیه بررسی و نسبت $4C/2C$ در بازه زمانی ۳ تا ۴۸ ساعت پس از خیساندن اندازه‌گیری شد. در آغاز جذب آب، اغلب هسته‌ها در مرحله $2C$ قرار داشتند، اما در بذرهای با بنیه بالا افزایش زود هنگام و قابل توجهی در سهم هسته‌های $4C$ مشاهده شد. در مقابل، بذرهای با بنیه پایین افزایش $4C$ را با تأخیر و شدت کمتر نشان دادند. این تفاوت‌ها با زمان و یکنواختی ظهور ریشه‌چه مرتبط بود و بیانگر آن است که الگوی پیشرفت چرخه سلولی در نوک ریشه‌چه می‌تواند شاخص مناسبی برای تبیین تفاوت‌های بنیه بذر در گندم باشد.

واژه‌های کلیدی: چرخه سلولی، همانندسازی DNA، ریشه‌چه، بنیه بذر، جوانه‌زنی گندم

۱- دانشجوی دکترا، گروه آگروتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران. Najmeh.salehan@gmail.com

۲- استاد، گروه آگروتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران. agr844@gmail.com

۳- دانشیار، گروه بیوتکنولوژی و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران. arseifi@um.ac.ir

*نویسنده مسئول: agr844@gmail.com

مقدمه

با افزایش جمعیت جهان و رشد تقاضا برای مواد غذایی، تأمین پایدار محصولات زراعی راهبردی به یکی از چالش‌های اساسی امنیت غذایی تبدیل شده است. در این میان، گندم (*Triticum aestivum* L.) به‌عنوان یکی از مهم‌ترین غلات جهان نقش اساسی در تأمین غذای انسان ایفا می‌کند و حدود ۲۰ درصد از کالری و پروتئین مصرفی جهان را فراهم می‌سازد. تولید جهانی این محصول سالانه بیش از ۷۵۰ میلیون تن برآورد شده است (Shewry and Hey, 2015; FAO, 2023). با توجه به پیش‌بینی افزایش جمعیت جهان به حدود ۱۰ میلیارد نفر تا سال ۲۰۵۰ و نیاز به افزایش قابل‌توجه تولید محصولات کشاورزی، بهبود استقرار و عملکرد محصولاتی مانند گندم اهمیت بیشتری یافته است (IPCC, 2019).

با وجود پیشرفت‌های قابل توجه در افزایش عملکرد گندم طی دهه‌های اخیر، استقرار موفق گیاهچه در مزرعه همچنان به‌طور مستقیم تحت تأثیر کیفیت و بنیه بذر قرار دارد. بذره‌ای با بنیه پایین اغلب با جوانه‌زنی کند، ظهور غیریکنواخت گیاهچه و کاهش تراکم بوته در مزرعه همراه هستند که می‌تواند عملکرد نهایی محصول را محدود کند. در مقابل، توده‌های بذری با بنیه بالا معمولاً ظهور سریع‌تر و یکنواخت‌تر گیاهچه را نشان می‌دهند که به استقرار بهتر مزرعه و افزایش پایداری تولید منجر می‌شود (Sabouri et al., 2022).

بنیه بذر به‌عنوان مجموعه‌ای از ویژگی‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی تعریف می‌شود که توانایی بذر را برای جوانه‌زنی سریع، یکنواخت و استقرار موفق گیاهچه در دامنه‌ای از شرایط محیطی تعیین می‌کند (ISTA, 2025). در میان آزمون‌های مختلف ارزیابی بنیه، آزمون ظهور ریشه‌چه (RE)^۱ به‌طور گسترده به‌عنوان شاخصی ساده، سریع و قابل‌اعتماد مورد استفاده قرار می‌گیرد زیرا، هم سرعت و هم یکنواختی مراحل اولیه جوانه‌زنی را منعکس می‌کند (Matthews and Khajeh-Hosseini, 2007). با این حال، تفاوت در میزان RE بین توده‌های بذری، به‌ویژه در مراحل ابتدایی جوانه‌زنی، بیانگر وجود اختلاف در فرآیندهای درونی بذر است که هنوز به‌طور کامل تبیین نشده است. جوانه‌زنی اولیه با فعال‌سازی فرآیندهای سلولی

و ساختاری در جنین همراه است. پس از جذب آب، سلول‌های جنینی از حالت سکون (G_0/G_1) خارج شده و وارد مرحله سنتز DNA (مرحله S) می‌شوند و سپس به مراحل G_2 و تقسیم سلولی پیش می‌روند. شواهد موجود نشان می‌دهد که بذره‌ای دارای بنیه بالا معمولاً آغاز زودتری از همانندسازی DNA و پیشرفت سریع‌تری در چرخه سلولی نسبت به بذرها با بنیه پایین دارند؛ پدیده‌ای که می‌تواند با رشد سریع‌تر و ظهور زود هنگام ریشه‌چه مرتبط باشد (Gendreau et al., 2008; Śliwińska, 2009; Cardoso et al., 2021).

با وجود گزارش‌های متعدد درباره ارتباط فعالیت چرخه سلولی با سرعت جوانه‌زنی، الگوی زمانی همانندسازی DNA در مراحل اولیه جوانه‌زنی و نقش آن در تمایز توده‌های بذری گندم با بنیه‌های متفاوت هنوز به‌طور کامل روشن نشده است. به‌ویژه مشخص نیست که تفاوت‌های مشاهده‌شده در ظهور ریشه‌چه تا چه اندازه با تغییرات اولیه چرخه سلولی در نوک ریشه‌چه جنینی مرتبط هستند. از این رو، در پژوهش حاضر پیشرفت چرخه سلولی در نوک ریشه‌چه جنینی گندم با استفاده از فلوسایتومتری مورد بررسی قرار گرفت. هدف این مطالعه بررسی ارتباط بین تغییرات محتوای DNA هسته‌ای و ظهور ریشه‌چه در توده‌های بذری با بنیه متفاوت بود تا درک دقیق‌تری از سازوکارهای سلولی مرتبط با بنیه بذر در گندم فراهم شود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و انتخاب توده‌های بذری

تمامی آزمایش‌ها در آزمایشگاه‌های بذر و بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد و در بازه زمانی مرداد ۱۴۰۰ تا خرداد ۱۴۰۱ انجام شد.

توده‌های بذری گندم مورد استفاده در این پژوهش از میان مجموعه‌ای از توده‌هایی انتخاب شدند که پیش‌تر از مناطق مختلف استان خراسان جمع‌آوری و توسط Khajeh-Hosseini و همکاران (۲۰۲۲) از نظر ویژگی‌های فیزیولوژیک و بنیه بذر ارزیابی شده بودند. در آن مطالعه، بنیه توده‌ها بر اساس نتایج آزمون ظهور ریشه‌چه (RE) و

^۱Radicle Emergence

روی آنها افزوده شد. سپس کاغذها به صورت رول درآمده و به صورت عمودی در ظروف پلاستیکی استوانه‌ای (قطر ۵ و ارتفاع ۸ سانتی‌متر) قرار گرفتند. رول‌ها در یک سینی پلاستیکی گذاشته شده و برای جلوگیری از تبخیر، با کیسه پلی‌اتیلنی پوشانده شدند. نمونه‌ها در دمای ثابت ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در فواصل زمانی مشخص، بذرها از رول خارج شده، پس از حذف رطوبت سطحی با دستمال کاغذی، وزن‌کشی و مجدداً به شرایط اولیه بازگردانده شدند. رطوبت بذری در هر زمان با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$MC = 100 - [W1(100 - A)/W2] \quad (2)$$

که در آن: A = رطوبت اولیه بذری

W₁ (%) = وزن اولیه بذری

W₂ = وزن بذری در هر زمان نمونه‌برداری

میانگین مقادیر حاصل از چهار تکرار برای هر توده گزارش شد.

اندازه‌گیری محتوای DNA و تحلیل چرخه سلولی

برای بررسی تغییرات محتوای DNA هسته‌ای و پایش پیشرفت چرخه سلولی در طی جوانه‌زنی، از روش فلوسایتومتری استفاده شد. تمرکز اصلی بر مقایسه بذرهای با بنیه بالا و پایین در نوک ریشه‌چه جنینی بود. روش کار بر اساس پروتکل (Doležel et al., 2007) با اصلاحات جزئی انجام گرفت. برای این منظور، چهار تکرار ۲۵ بذری به روش بین کاغذ در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت جوانه‌دار شدند. نمونه‌برداری در زمان‌های ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۸، ۲۴، ۳۰، ۳۶، ۴۲ و ۴۸ ساعت پس از شروع جذب آب انجام شد. در هر زمان، ۱۰ بذری جوانه‌زده که ریشه‌چه آنها ظاهر شده بود انتخاب شد. بخش انتهایی به طول ۱ تا ۱٫۵ میلی‌متر از نوک ریشه‌چه بریده شد تا سلول‌هایی که در حال ورود به مراحل S و G₂ چرخه سلولی هستند، مورد بررسی قرار گیرند. بافت‌ها در بافر استخراج هسته‌ای Galbraith شامل ۳۰ mM MgCl₂، ۴۵ mM Triton (v/v) ۰٫۱، ۲۰ mM MOPS و Na citrate ۲۰ (pH=7.0) X-100 روی یخ خرد شدند (Galbraith et al., 1983; Doležel et al., 2007). سپس سوسپانسیون حاصل از صافی نایلونی ۳۰ میکرومتر عبور داده شد. سپس ۲۰ میکرولیتر از محلول رنگ‌آمیزی DAPI با غلظت ۲

مطابق دستورالعمل‌های انجمن بین‌المللی بذری (ISTA, 2025) تعیین شد. بر این اساس، در پژوهش حاضر چهار توده بذری شامل دو توده با بنیه بالا (A, B) و دو توده با بنیه پایین (C, D) انتخاب شدند تا امکان بررسی رابطه بین وضعیت فیزیولوژیک بذری و الگوی پیشرفت چرخه سلولی طی جوانه‌زنی فراهم شود. توده‌هایی که در مطالعه پیشین دارای درصد و سرعت ظهور ریشه‌چه بالاتری بودند، به عنوان بذرهای با بنیه بالا و توده‌های با ظهور ریشه‌چه کمتر به عنوان بذرهای با بنیه پایین طبقه‌بندی شدند. تمام بذرها در تابستان ۱۳۹۸ در مناطق جوی و قوچان استان خراسان رضوی تولید و پس از برداشت، در پاکت‌های آلومینیومی دربسته و در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش‌ها نگهداری شدند. صفات فیزیولوژیک شامل درصد جوانه‌زنی، درصد گیاهچه نرمال، میانگین زمان جوانه‌زنی (MGT)، درصد ظهور ریشه‌چه و رطوبت بذری طبق روش‌های گزارش شده در (Khajeh-Hosseini et al., 2022) ارزیابی شدند. آزمون جوانه‌زنی با چهار تکرار ۱۰۰ بذری، به روش کاغذ مرطوب و در دمای ثابت ۲۰ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی انجام گرفت.

میانگین زمان جوانه‌زنی بر اساس رابطه Ellis و (Roberts, 1981) محاسبه شد:

$$MGT = \Sigma (n \times d) / \Sigma \quad (1)$$

که در آن n تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز d است.

رطوبت بذری به صورت وزنی و با خشک کردن بذرها در دمای ۱۰۳ ± ۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۷ ساعت، بر اساس قوانین (ISTA, 2025) تعیین شد. ویژگی‌های اساسی هر دسته بذری مورد استفاده در این مطالعه در جدول ۱ در بخش نتایج خلاصه شده است.

تعیین منحنی جذب آب بذری

به منظور شناسایی مراحل مختلف جذب آب و تعیین بازه‌های زمانی مرتبط با فعال‌سازی متابولیسم و چرخه سلولی، منحنی جذب آب برای هر چهار توده بذری تعیین شد. این آزمون بر اساس آزمون جوانه‌زنی به روش بین کاغذ (BP)^۱ و مطابق قواعد (ISTA, 2025) انجام گرفت. برای هر توده، چهار تکرار ۲۵ بذری استفاده شد. وزن اولیه هر تکرار پیش از آغاز آزمایش ثبت گردید. بذرها در میان دو لایه کاغذ جوانه‌زنی مرطوب قرار داده شده و لایه سومی

^۱Between-paper

نتایج

نتایج بررسی صفات فیزیولوژیک بذر (جدول ۱) نشان داد که توده‌های A و B نسبت به توده‌های C و D از بنیه بالاتری برخوردار بودند (جدول ۱). درصد جوانه‌زنی در تمامی توده‌ها بالا و بین ۹۷ تا ۱۰۰ درصد متغیر بود، اما تفاوت قابل توجهی در شاخص‌های بنیه مشاهده شد. میانگین زمان جوانه‌زنی (MGT) در توده‌های با بنیه بالا کوتاه‌تر بود و درصد گیاهچه‌های نرمال در توده A و B به ترتیب ۹۵،۵ و ۸۸،۵ درصد بود، در حالی که این مقدار در توده‌های C و D به ترتیب به ۴۹ و ۲۹،۵ درصد کاهش یافت. این یافته‌ها نشان می‌دهند که اگرچه توانایی کلی جوانه‌زنی در همه توده‌ها بالا است، قدرت بذر (براساس سرعت و یکنواختی ظهور گیاهچه) در توده‌های مختلف متفاوت است.

میکروگرم بر میلی‌لیتر به هر نمونه افزوده شد. نمونه‌ها با استفاده از دستگاه فلوسایتومتر Ploidy Analysis PA (ساخت Partec، آلمان) مجهز به لامپ فرابنفش تحلیل شدند. برای هر نمونه، ۶۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ هسته شمارش شد تا برآورد دقیقی از نسبت $4C/2C$ و وضعیت چرخه سلولی حاصل شود. هیستوگرام‌ها با نرم‌افزار ModFit LT (نسخه ۳،۱) تحلیل شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

مقادیر محتوای DNA از سطح زیر منحنی‌های برازش‌شده استخراج شد. داده‌ها با استفاده از تجزیه واریانس دوطرفه و آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد، با نرم‌افزار SPSS تحلیل شدند. ترسیم نمودارها با نرم‌افزار GraphPad Prism (نسخه ۹) و Microsoft Excel انجام گرفت.

جدول ۱ - ویژگی‌های فیزیولوژیک چهار توده بذر گندم شامل منطقه جمع‌آوری، رقم، وزن هزار دانه، رطوبت اولیه، درصد جوانه‌زنی، درصد گیاهچه نرمال، میانگین زمان جوانه‌زنی و درصد ظهور ریشه‌چه

Table 1 - Physiological characteristics of four wheat seed lots including collection region, cultivar, 1000-seed weight, initial moisture content, germination percentage, normal seedlings percentage, mean germination time (MGT) and radicle emergence (RE)

ظهور ریشه‌چه (%)	میانگین زمان جوانه‌زنی (d)	گیاهچه نرمال (%)	(%) جوانه‌زنی	(%) رطوبت اولیه بذر	وزن هزار دانه (g)	رقم	منطقه جمع‌آوری کد توده
RE (%)	MGT (d)	Normal seedlings (%)	Germination (%)	The initial seed moisture content (%)	1000 seeds weight (g)	Cultivar	Lot code
95.5	2.45	99	100	9.62	44.94	Azar2	A قوچان
88.5	2.07	94	97	8.43	41.90	Ohadi	B قوچان
49.0	3.30	91	98	6.36	48.19	Sirvan	C جوین
29.5	2.98	95	97	7.04	50.02	Pishgam	D جوین

منحنی جذب آب بذر

الگوی جذب آب در هر چهار توده بذر گندم از الگوی کلاسیک سه‌مرحله‌ای شامل فاز جذب سریع (فاز I)، فاز سکون یا وقفه (فاز II) و فاز پس از جوانه‌زنی (فاز III) تبعیت کرد (شکل ۱). با وجود شباهت کلی در روند زمانی جذب آب، تفاوت‌های کمی و کیفی مشخصی میان توده‌ها با بنیه متفاوت مشاهده شد.

رطوبت اولیه بذر در توده‌های با بنیه بالا A و B به ترتیب ۹/۶۲ و ۸/۴۳ درصد و در توده‌های با بنیه پایین C و D اندکی بالاتر بود. در فاز I، تمامی توده‌ها طی ۶

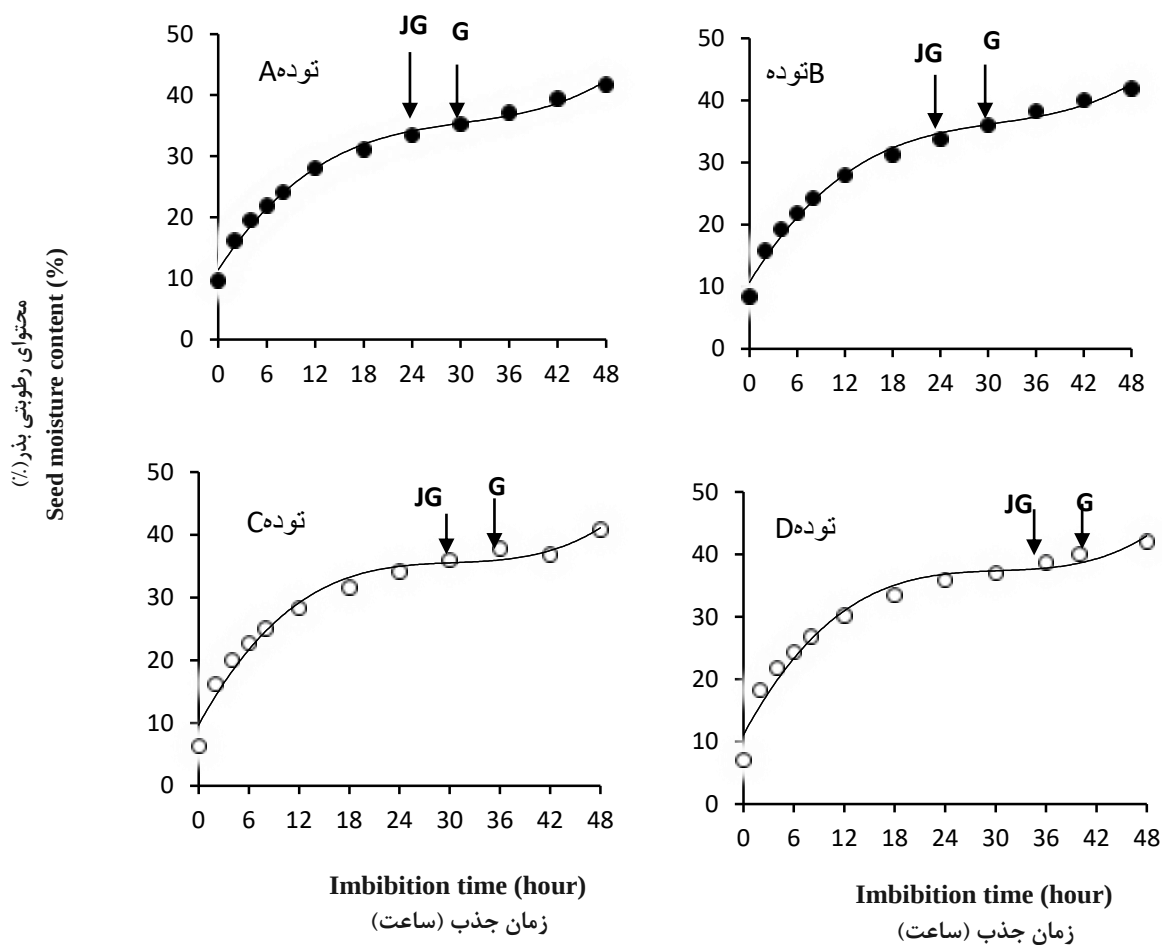
ساعت نخست پس از شروع جذب آب، افزایش سریع رطوبت را نشان دادند. در پایان این فاز، رطوبت بذر در توده‌های A، B، C و D به ترتیب به ۲۱/۸۹، ۲۱/۹۵، ۲۴/۳۹ و ۲۴/۲۲ درصد رسید. توده‌های با بنیه پایین در این مرحله جذب آب بیشتری نسبت به توده‌های با بنیه بالا نشان دادند.

فاز II، که با تثبیت نسبی میزان جذب آب مشخص می‌شود، پس از ۶ ساعت آغاز شد. در توده‌های با بنیه بالا، این فاز تا ۲۴ ساعت ادامه داشت، در حالی که در توده‌های با بنیه پایین، طول فاز II تا حدود ۳۰ ساعت افزایش

اختلاف رطوبت بذر بین دو گروه از نظر آماری بسیار معنی دار است ($P < 0.001$). این نتایج نشان می‌دهد که بذره‌ای با بنیه پایین برای ورود به فاز رشد فعال به میزان آب بیشتری نیاز دارند، در حالی که بذره‌ای با بنیه بالا با رطوبت کمتر وارد مرحله رشد ریشه‌چه می‌شوند. همچنین زمان ظهور اولیه ریشه‌چه و رسیدن به جوانه‌زنی کامل در توده‌های با بنیه بالا زودتر از توده‌های با بنیه پایین مشاهده شد (شکل ۱).

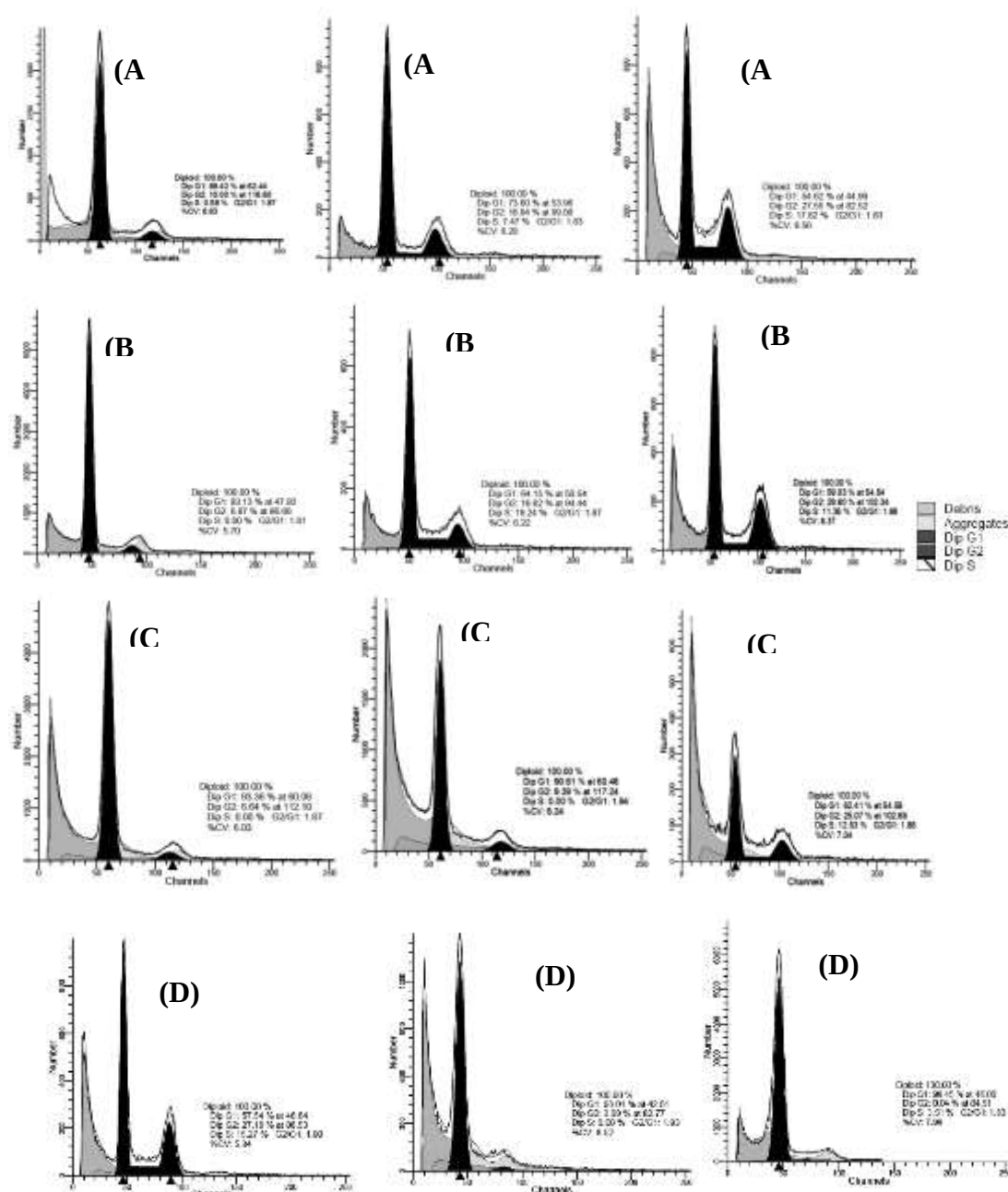
یافت. این تفاوت زمانی نشان‌دهنده تفاوت در سرعت فعال سازی فرایندهای متابولیکی مرتبط با جوانه‌زنی است و بیانگر آن است که این فرایندها در بذره‌ای با بنیه بالا سریع‌تر از بذره‌ای با بنیه پایین آغاز می‌شوند.

فاز III که با افزایش مجدد جذب آب و آغاز رشد فعال ریشه‌چه همراه است، در توده‌های A و B از ساعت ۲۴ و در توده‌های C و D از ساعت ۳۰ آغاز شد. مقایسه آماری این مقادیر با استفاده از آزمون t مستقل نشان داد که



شکل ۱. تغییرات محتوای رطوبت (%) طی ۴۸ ساعت فرایند جذب آب در چهار توده بذر گندم با سطوح مختلف بنیه بذر. نمادهای توپر (●) و توخالی (○) به ترتیب نشان‌دهنده بنیه بالا و پایین هستند. ↓ JG، زمان اولین ظهور قابل مشاهده ریشه‌چه؛ ↓ G، زمان جوانه‌زنی نرمال (خروج ریشه‌چه با طول ≥ 2 میلی‌متر)

Figure. 1. Moisture content (%) during 48 hours of imbibition in four wheat seed lots with different vigour levels. Filled (●) and open (○) symbols represent high and low vigours, respectively. ↓ JG, time of first visible radicle emergence ↓ G, time of normal germination (radicle protrusion ≥ 2 mm).



شکل ۲- هیستوگرام فلوسایتومتري هسته‌های رنگ‌آمیزی‌شده با DAPI در نوک ریشه‌چه توده‌های بذری گندم با سطوح متفاوت بنیه و در زمان‌های مختلف جذب آب. هیستوگرام‌ها در زمان‌های ۳، ۲۴ و ۳۶ ساعت پس از شروع جذب آب ثبت شده‌اند. در زمان ۳ ساعت پس از جذب آب، پروفایل‌های فلوسایتومتري وجود دو پیک متمایز متناظر با محتوای DNA برابر 2C و 4C را نشان می‌دهند، به‌طوری که پیک غالب (2C) G_1 در حوالی کانال ۵۰ و پیک کوچک‌تر (4C) G_2 در حوالی کانال ۱۰۰ قرار دارد. هر پیک نماینده یک تکرار زیستی برای هر توده بذری در هر زمان نمونه‌برداری است. تکرارپذیری زیستی بین نمونه‌ها مناسب بوده و ضریب تغییرات بین تکرارها عموماً کمتر از ۱۰ درصد و در تمامی موارد کمتر از ۱۵ درصد بود.

Figure 2– Flow cytometry histograms of DAPI-stained nuclei from radicle tips of wheat seed lots with different vigor levels at different imbibition times. Histograms were obtained at 3, 24, and 36 h after the onset of imbibition. At 3 h of imbibition, flow cytometry profiles show two distinct peaks corresponding to 2C and 4C DNA contents, with the major G_1 (2C) peak located around channel 50 and the smaller G_2 (4C) peak around channel 100. Each panel represents one biological replicate for each seed lot at each sampling time. Biological replication was consistent, with coefficients of variation among replicates generally below 10% and always <15%.

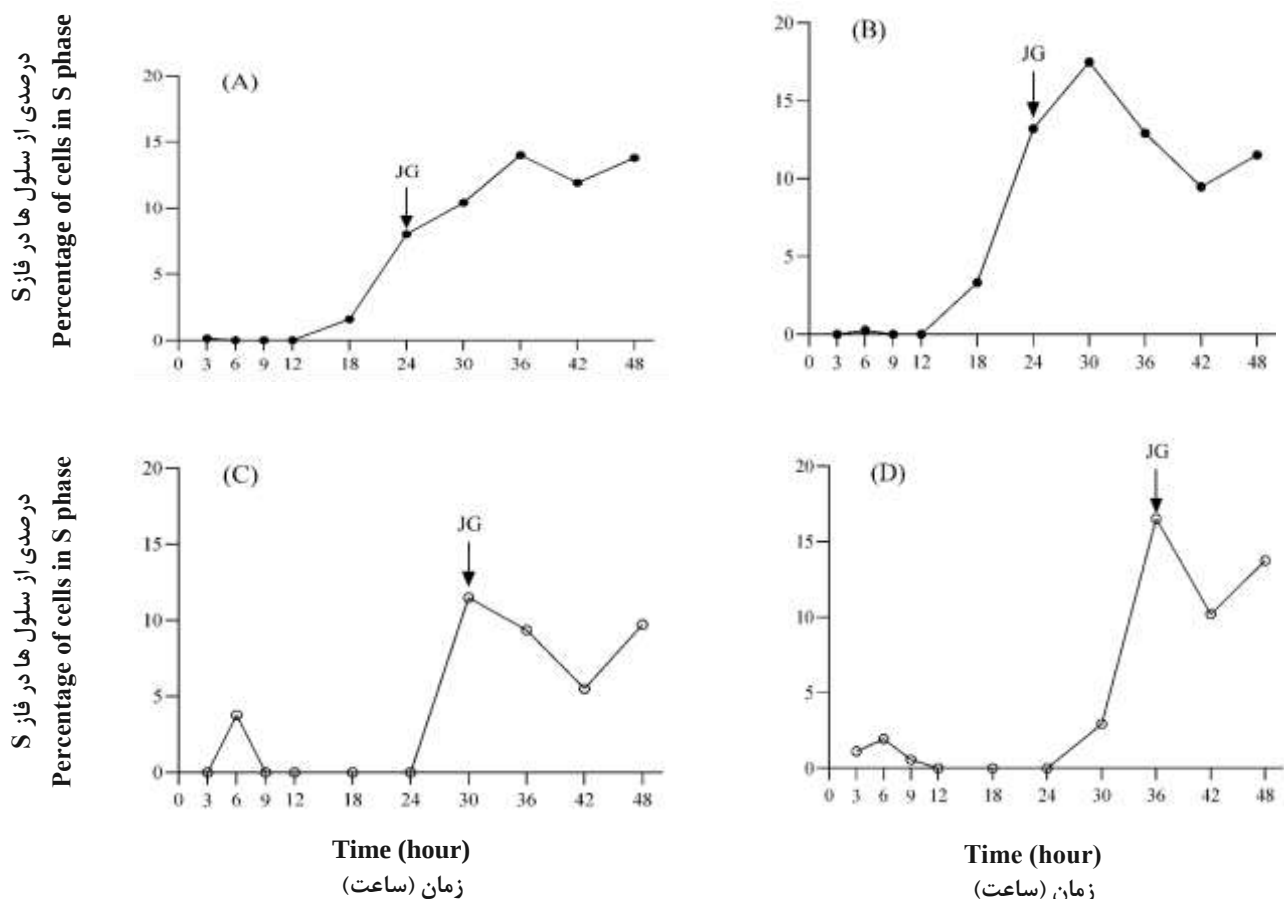
محتوای DNA هسته‌ای و پیشرفت چرخه سلولی

در زمان ۳ ساعت پس از شروع جذب آب، بیش از ۹۳ درصد هسته‌های موجود در محور جنینی تمامی توده‌های بذری در مرحله G_0/G_1 چرخه سلولی (محتوای DNA 2C) قرار داشتند و تنها مقادیر اندکی از هسته‌ها در وضعیت 4C مشاهده شد. نسبت هسته‌های 4C در این زمان بین $1/3 \pm 2/3$ درصد در کم‌بیه‌ترین توده (D) تا $1/1 \pm 6/2$ درصد در توده C متغیر بود و اختلاف معنی‌داری میان توده‌ها مشاهده نشد (شکل ۲).

با ادامه جذب آب، تفاوت‌های واضحی در زمان‌بندی فعال‌سازی چرخه سلولی بین توده‌های با بنیه بالا و پایین ظاهر شد. در توده‌های با بنیه بالا (A و B)، ورود هسته‌ها

به فاز S و افزایش نسبت 4C/2C از ساعت ۱۸ پس از جذب آب آغاز شد و تا ۲۴ ساعت افزایش قابل‌توجهی یافت. در این زمان، نسبت 4C/2C در توده‌های A و B به‌ترتیب به $0/254 \pm 0/34$ و $0/280 \pm 0/43$ رسید و جمعیت مشخصی از هسته‌ها در فاز S (حدود ۱۷ تا ۱۸ درصد) مشاهده شد که هم‌زمان با آغاز ظهور ریشه‌چه بود (شکل ۳).

در مقابل، توده‌ها با بنیه پایین فعال‌سازی چرخه سلولی را با تأخیر نشان دادند. در ساعت ۲۴، نسبت 4C/2C در توده C تنها $0/113 \pm 0/05$ و در توده D حدود $0/036 \pm 0/01$ بود و بخش عمده‌ای از هسته‌ها همچنان در مرحله G_0/G_1 باقی مانده بودند (اشکال ۳ و ۴).



شکل ۳. درصد هسته‌های در فاز S در محورهای جنینی توده‌های مختلف بذر گندم با سطوح بنیه متفاوت طی ۴۸ ساعت فرایند جذب آب. نمادهای توپر (●) و توخالی (○) به‌ترتیب نشان‌دهنده بنیه بالا و پایین هستند. پیکان‌های JG زمان اولین ظهور ریشه‌چه (بیش از ۱ میلی‌متر) را در هر توده بذری نشان می‌دهند

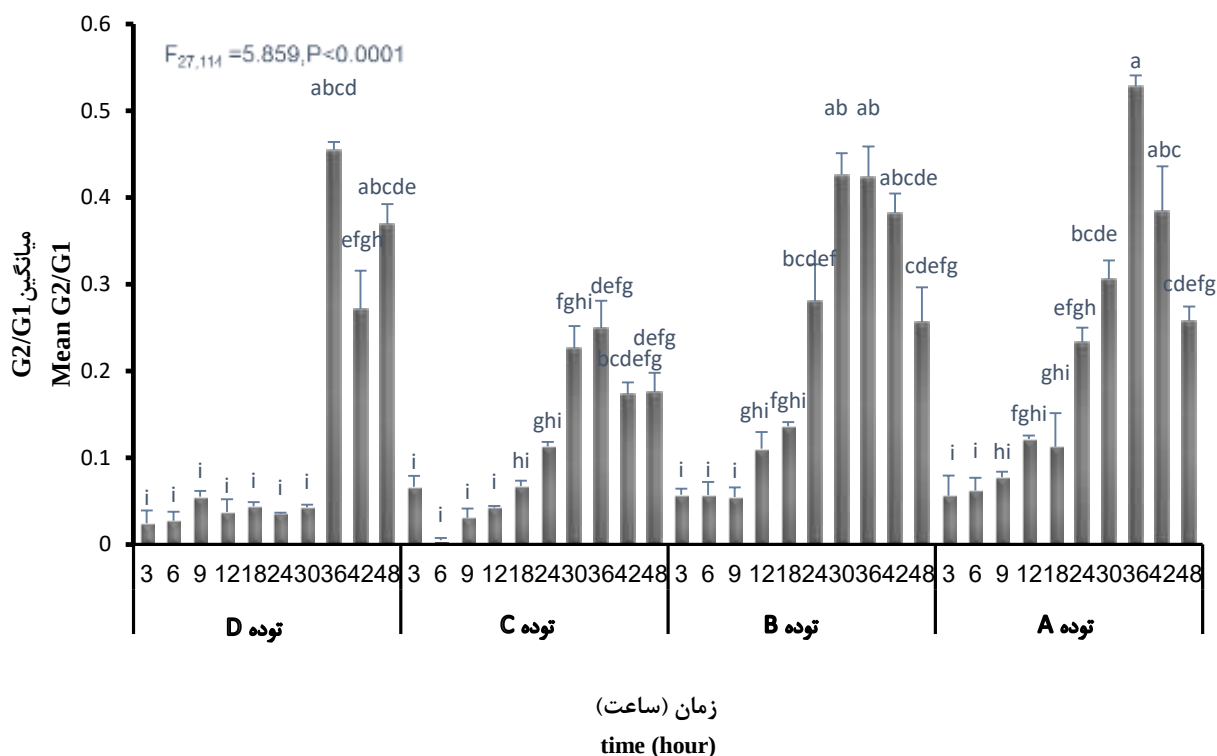
Figure 3. Percentage of nuclei in the S phase in embryonic axes of wheat seed lots with different vigour levels during 48 h of imbibition. Filled (●) and open (○) symbols represent high and low vigours, respectively. Arrows (JG) indicate the time of first radicle emergence (> 1 mm) in each seed lot.

یافت و در بازه ۳۰ تا ۳۶ ساعت به بیشینه خود (حدود ۰/۲۴ تا ۰/۵۱) رسید. در مقابل، توده‌های با بنیه پایین افزایش ضعیف‌تر و ناپایدارتری را نشان دادند و توده D در هیچ‌یک از زمان‌ها به مقادیر مشابه توده‌های با بنیه بالا نرسید.

نتایج آزمون توکی نشان داد که اختلاف نسبت 4C/2C بین توده‌های با بنیه بالا و پایین از ساعت ۱۸ به بعد در اغلب مقایسه‌ها معنی‌دار بود ($P < 0.0001$). همچنین تحلیل واریانس اندازه‌گیری‌های مکرر وجود برهم‌کنش معنی‌دار بین توده بذری و زمان جذب آب را تأیید کرد ($P < 0.0001$, $F = 58.59$).

کاهش سهم هسته‌های مرحله G_0/G_1 نیز تفاوت‌های وابسته به بنیه را تأیید کرد. در توده‌ها با بنیه بالا درصد هسته‌های G_0/G_1 ۲۴ تا ۷۵ درصد به کمتر از ۷۵ درصد کاهش یافت در حالی که، در توده‌ها با بنیه پایین این کاهش تنها پس از ۳۶ ساعت مشاهده شد. نخستین نشانه‌های ورود به فاز S در توده‌های A و B در ساعت ۱۸ ظاهر شد، اما در توده‌های C و D این مرحله با تأخیر و پس از ۲۴ تا ۳۰ ساعت قابل تشخیص بود (شکل ۳).

بررسی تغییرات نسبت 4C/2C در کل دوره ۴۸ ساعته، تفاوت روشنی میان توده‌ها نشان داد (شکل ۴). در توده‌های با بنیه بالا، این نسبت به صورت پيوسته افزایش



شکل ۴. نسبت میانگین G_2/G_1 در توده‌های مختلف بذر گندم طی ۴۸ ساعت جذب آب. اختلاف‌های معنی‌دار در هر زمان نمونه‌برداری با حروف متفاوت در بالای ستون‌ها و بر اساس آزمون توکی ($P < 0.0001$) مشخص شده‌اند.
 Figure 4. Mean G_2/G_1 ratio of different wheat seed lots during 48 h of imbibition, presented as a bar chart. Values are means $\pm$ SE. Significant differences among seed lots at each sampling time are indicated by different letters above the bars according to Tukey's test ($P < 0.0001$)

بوته و در نهایت عملکرد محصول به شمار می‌رود (Powell and Matthews, 2022). در پژوهش حاضر، بذره‌ای با بنیه بالا (A و B) در مقایسه با بذره‌ای با بنیه پایین (C و D) ظهور سریع‌تر و یکنواخت‌تری از ریشه‌چه (بیش از ۲ میلی‌متر) نشان دادند. این نتایج، طبقه‌بندی اولیه بنیه بذر

بذره به عنوان مجموعه‌ای از ویژگی‌ها که توان بالقوه بذر را برای سبزشدن سریع، یکنواخت و استقرار گیاهچه‌های طبیعی در دامنه‌ای گسترده از شرایط مزرعه تعیین می‌کند، یکی از عوامل کلیدی در استقرار مطلوب

را تایید کرده و با گزارش‌های پیشین در گونه‌های مختلف زراعی هم‌خوانی دارد (Matthews and Powell, 2011; Marcos-Filho, 2015).

الگوی جذب آب در مراحل ابتدایی جوانه‌زنی در تمامی توده‌های بذری مورد بررسی از الگوی کلاسیک سه‌مرحله‌ای پیروی کرد: جذب سریع اولیه (فاز I)، فاز تاخیری یا سکون (فاز II) و افزایش مجدد جذب آب هم‌زمان با طول‌شدن ریشه‌چه (فاز III) (Bewley and Black, 1994). با این حال، بذرها با بنیه بالا زودتر وارد فاز III شدند؛ مرحله‌ای که با فعال شدن فرایندهای رشد و از جمله همانندسازی DNA همراه است. در مقابل، بذرها با بنیه پایین مدت‌زمان طولانی‌تری را در فاز II سپری کردند که این تفاوت زمانی نشان‌دهنده کندتر بودن روند آماده‌سازی سلول‌ها برای رشد و جوانه‌زنی در بذرها با بنیه بالا نسبت به توده‌ها با بنیه پایین است. این پدیده احتمالا ناشی از آسیب‌های انباشته‌شده و کندی فرایندهای ترمیمی در توده‌های با بنیه پایین است (Matthews and Khajeh-Hosseini, 2007). همچنین، رطوبت بالاتر ثبت شده در توده‌های با بنیه پایین در پایان فاز I می‌تواند بازتابی از کاهش یکپارچگی غشاها یا پوشش بذری باشد که منجر به جذب آب کنترل‌نشده می‌شود؛ الگویی که پیش‌تر در بذرها پیر یا فرسوده گزارش شده است (Bewley et al., 2012; Rajjou et al., 2013).

ارتباط نزدیک مشاهده‌شده بین عملکرد ظهور ریشه‌چه و طول دوره فاز تاخیری جوانه‌زنی، از این دیدگاه دیرینه حمایت می‌کند که مدت فاز II یکی از تعیین‌کننده‌های فیزیولوژیک اصلی بنیه بذری است. کوتاه‌تر بودن این فاز در بذرها با بنیه بالا، امکان فعال‌سازی سریع‌تر فرایندهای رشدی را فراهم می‌کند.

تحلیل فلوسایتومتری نشان داد که اگرچه در آغاز جذب آب، اغلب هسته‌های جنینی در تمامی توده‌های بذری در فاز G_0/G_1 قرار داشتند، اما توده‌های با بنیه بالا فعال‌سازی چرخه سلولی را به‌طور معناداری زودتر و هم‌زمان‌تر آغاز کردند. این موضوع با ظهور سریع جمعیت فاز S و افزایش سریع نسبت $4C/2C$ از حدود ۱۸ ساعت پس از جذب آب مشخص شد (شکل ۳). در مقابل، توده‌های با بنیه پایین تاخیر قابل‌توجهی در بازفعال‌سازی چرخه سلولی نشان دادند و حتی در ۲۴ ساعت پس از جذب آب نیز تجمع $4C$ محدودی داشتند (شکل‌های ۳ و

۴). این تفاوت‌ها نشان می‌دهد که زمان‌بندی و شدت ورود به فازهای S و G_2 در توده‌های با بنیه بالا به‌مراتب کارآمدتر است.

از دیدگاه فیزیولوژیکی، می‌توان چنین فرض کرد که فعال‌سازی زود هنگام چرخه سلولی در توده‌های با بنیه بالا بازتابی از کارایی بالاتر سامانه‌های ترمیم DNA و بازآرایی کروماتینی در مراحل اولیه جذب آب باشد. شواهد متعددی نشان داده‌اند که بذرها پیش از ورود به همانندسازی DNA، نیازمند ترمیم آسیب‌های ژنومی انباشته‌شده در طی ذخیره‌سازی هستند؛ فرایندی که در توده‌های با بنیه پایین به دلیل شدت بیشتر آسیب یا کاهش ظرفیت ترمیمی، زمان‌برتر است (Osborne et al., 1977; Waterworth et al., 2016). در این چارچوب، ورود زودتر و هم‌زمان‌تر به فاز S در توده‌های با بنیه بالا می‌تواند پیامد تکمیل سریع‌تر مراحل ترمیمی و آمادگی زود هنگام مریستم ریشه‌چه برای رشد پس از جوانه‌زنی باشد (Matthews and Khajeh-Hosseini, 2007; Hosseini et al., 2011).

روابط مشابهی بین فعال‌سازی زود هنگام چرخه سلولی و بنیه بذر در گونه‌هایی مانند سویا، چغندر قند و براسیکا گزارش شده است؛ به‌طوری‌که نسبت $4C/2C$ یا درصد هسته‌های $4C$ در ساعات اولیه پس از جذب آب توانسته است بذرها با بنیه بالا و پایین را به‌خوبی تفکیک کند (Sliwinska and Pedersen, 1999; Forti et al., 2018). هم‌راستایی نتایج پژوهش حاضر با این گزارش‌ها نشان می‌دهد که ارتباط بین پویایی چرخه سلولی و بنیه بذر پدیده‌ای عمومی بوده و محدود به یک گونه خاص نیست. در این میان، نسبت $4C/2C$ می‌تواند به‌عنوان شاخصی یکپارچه از وضعیت متابولیکی، سلامت ژنومی و آمادگی رشدی بذر در نظر گرفته شود (Sliwinska, 2009; Cheshmi and Khajeh-Hosseini, 2020).

مشاهده جمعیت‌های کوچک فاز S در بذرها با بنیه پایین در ساعات اولیه جذب آب (۶ تا ۱۲ ساعت) احتمالا بازتاب فعال‌شدن مسیرهای ترمیم DNA است، نه همانندسازی مرتبط با جوانه‌زنی. این تفسیر با شواهدی که افزایش آسیب DNA و نیاز طولانی‌تر به ترمیم را از ویژگی‌های بذرها با بنیه پایین می‌دانند، هم‌خوانی دارد (Waterworth et al., 2016; Cheshmi and Khajeh-Hosseini, 2020). در مقابل، بذرها با بنیه بالا به نظر می‌رسد مراحل

رشد پس از جوانه زنی است. این یافته‌ها چارچوبی برای تفسیر بنیه بذر فراهم می‌کنند و تحلیل فلوسایتومتری هسته‌های جنینی می‌تواند به عنوان رویکردی امیدوارکننده برای توسعه شاخص‌های سلولی در ارزیابی بنیه بذر مورد توجه قرار گیرد.

با این حال، تبدیل این رویکرد به یک ابزار تشخیصی عملی نیازمند مطالعات تکمیلی شامل بررسی دامنه وسیع‌تری از توده‌ها و نیز ترکیب آن با روش‌های مکمل مانند برچسب‌گذاری همانندسازی DNA و نشانگرهای آسیب و ترمیم DNA است تا بتوان آستانه‌های کمی قابل اعتمادی برای تفکیک سطوح مختلف بنیه بذر تعیین کرد.

تشکر و قدردانی

با کمال احترام از جناب آقای دکتر محمد زارع (استادیار، دانشگاه بجنورد، ایران) برای راهنمایی‌های ایشان در استفاده از دستگاه فلوسایتومتری سپاسگزار می‌کنیم.

ترمیم را سریع‌تر طی کرده و زودتر وارد فاز همانندسازی واقعی DNA شوند.

افزایش زود هنگام نسبت هسته‌های G₂ در توده‌های با بنیه بالا هم‌زمان با ورود سریع‌تر به فاز III نشان می‌دهد که همانندسازی DNA و آمادگی برای تقسیم سلولی در مریستم ریشه‌چه پیش از ظهور قابل مشاهده ریشه‌چه آغاز می‌شود. این یافته‌ها با دیدگاهی هم‌خوان است که آغاز فعالیت‌های چرخه سلولی را در اواخر فاز II و اوایل فاز III می‌داند (Gendreau et al., 2008; Nonogaki et al., 2010). هرچند برخی مطالعات تقسیم سلولی را تنها پس از ظهور ریشه‌چه گزارش کرده‌اند (Bewley, 1997; Tuan et al., 2019). تفاوت در این گزارش‌ها احتمالاً به گونه گیاهی، شرایط آزمایش و سطح بنیه بذر مرتبط است.

در مجموع، نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که تفاوت در بنیه بذر گندم به طور معناداری با زمان‌بندی و الگوی پیشرفت چرخه سلولی در مراحل اولیه جذب آب مرتبط است. ورود زودتر به فاز S و افزایش سریع‌تر نسبت 4C/2C در توده‌های با بنیه بالا، بیانگر کارایی بیشتر فرایندهای ترمیم DNA و آمادگی زود هنگام مریستم ریشه‌چه برای

منابع

- Abati, J., Brzezinski, C.R., Zucareli, C., Foloni, J.S.S. and Henning, F.A. 2018. Growth and yield of wheat in response to seed vigor and sowing densities. *Revista Caatinga*, 31: 891–899. **(Journal)**. DOI: <https://doi.org/10.1590/1983-21252018v31n411rc>
- Bewley, J.D. 1997. Seed germination and dormancy. *The Plant Cell*, 9: 1055–1066. **(Journal)**. DOI: <https://doi.org/10.1105/tpc.9.7.1055>
- Bewley, J.D. and Black, M. 1994. *Seeds: Physiology of Development and Germination* (3rd ed.). Plenum Press, New York. **(Book)**.
- Bewley, J.D., Bradford, K.J., Hilhorst, H.W.M. and Nonogaki, H. 2013. *Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy* (3rd ed.). Springer, New York. **(Book)**.
- Cardoso, C.P., Bazzo, J.H.B., Marinho, J.L. and Zucareli, C. 2021. Effect of seed vigor and sowing densities on the yield and physiological potential of wheat seeds. *Journal of Seed Science*, 43: 1–11. **(Journal)**. DOI: <https://doi.org/10.1590/2317-1545v43241586>
- Cecchetti, D., Pawelek, A., Wyszowska, J., Antoszewski, M. and Szmidt-Jaworska, A. 2022. Treatment of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) seeds with electromagnetic field influences germination and phytohormone balance depending on seed size. *Agronomy*, 12: 1423. **(Journal)**. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy12061423>
- Cheshmi, M. and Khajeh-Hosseini, M. 2020. Single count of radicle emergence, DNA replication during seed germination and vigour in alfalfa seed lots. *Seed Science and Technology*, 48: 367–380. **(Journal)**. DOI: <https://doi.org/10.15258/sst.2020.48.3.05>
- Cheyed, S.H. 2019. Field emergence and seedling vigour of bread wheat as influenced by method and longevity of storage. *Iraqi Journal of Agricultural Sciences*, 50 (6). **(Journal)**. DOI: <https://doi.org/10.36103/ijas.v50i6.837>
- Doležel, J., Greilhuber, J. and Suda, J. 2007. Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. *Nature Protocols*, 2: 2233–2244. **(Journal)**. DOI: <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.310>

- Ellis, R.H. and Roberts, E.H. 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. *Seed Science and Technology*, 9: 373–409. **(Journal)**.
- Fatonah, K., Suliansyah, I. and Rozen, N. 2017. Electrical conductivity for seed vigor test in sorghum (*Sorghum bicolor*). *Cell Biology and Development*, 1 (1): 6–12. **(Journal)**. DOI: <https://doi.org/10.13057/cellbioldev/v010102>
- Forti, V.A., de Carvalho, C., Sliwinska, E. and Cicero, S.M. 2018. Flow cytometry as a tool for analyses of soybean seed vigour. *Seed Science and Technology*, 46: 217–224. **(Journal)**. DOI: <https://doi.org/10.15258/sst.2018.46.2.03>
- França-Neto, J.D.B. and Krzyzanowski, F.C. 2019. Tetrazolium: an important test for physiological seed quality evaluation. *Seed Science*, 41: 359–366. **(Journal)**. DOI: <https://doi.org/10.1590/2317-1545v41n3223104>
- Galbraith, D.W., Harkins, K.R., Maddox, J.M., Ayres, N.M., Sharma, D.P. and Firoozabady, E. 1983. Rapid flow cytometric analysis of the cell cycle in intact plant tissues. *Science*, 220: 1049–1051. **(Journal)**. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.220.4601.1049>
- Gendreau, E., Romaniello, S., Barad, S., Leymarie, J., Benech-Arnold, R. and Corbineau, F. 2008. Regulation of cell cycle activity in the embryo of barley seeds during germination as related to grain hydration. *Journal of Experimental Botany*, 59: 203–212. **(Journal)**. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/erm296>
- ISTA. 2025. *International Rules for Seed Testing*. International Seed Testing Association, Wallisellen, Switzerland. **(Report)**.
- Khajeh-Hosseini, M., Cheshmi, M., Fallahpour, F., Ghasempour, M., Fatemi, M., Mohammadi, M., Mamarabadi, M., Mazaheri, M. and Sanaeinejad, S.H. 2022. Effect of climatic and farm management factors on the quality and nutritional value of produced wheat seeds. *Proceedings of the 33rd ISTA Seed Symposium*, 2–4 November 2022, Athens, Greece. **(Conference)**.
- Lara-Núñez, A., De Jesús, N. and Vázquez-Ramos, J.M. 2008. Maize D4;1 and D5 cyclin proteins in germinating maize: associated kinase activity and regulation by phytohormones. *Physiologia Plantarum*, 132: 79–88. **(Journal)**. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2007.00995.x>
- Matera, T.C., Pereira, L.C., Braccini, A.L., Krzyzanowski, F.C., Scapim, C.A., Piana, S.C. and Suzukawa, A.K. 2019. Accelerated aging test and its relationship to physiological potential of soybean seeds. *Journal of Seed Science*, 41: 301–308. **(Journal)**. DOI: <https://doi.org/10.1590/2317-1545v41n3212746>
- Matthews, S. and Khajeh-Hosseini, M. 2007. Length of the lag period of germination and metabolic repair explain vigour differences in seed lots of maize (*Zea mays*). *Seed Science and Technology*, 35: 200–212. **(Journal)**. DOI: <https://doi.org/10.15258/sst.2007.35.1.18>
- Matthews, S., Beltrami, E., El-Khadem, R., Khajeh-Hosseini, M., Nasehzadeh, M. and Urso, G. 2011. Evidence that time for repair during early germination leads to vigour differences in maize. *Seed Science and Technology*, 39: 501–509. **(Journal)**. DOI: <https://doi.org/10.15258/sst.2011.39.2.19>
- Matthews, S. and Powell, A.A. 2012. Towards automated single counts of radicle emergence to predict seed and seedling vigour. *Seed Testing International*, 142: 44–48. **(Journal)**.
- Nonogaki, H., Bassel, G.W. and Bewley, J.D. 2010. Germination still a mystery. *Plant Science*, 179: 574–581. **(Journal)**. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.02.010>
- Nonogaki, H. 2019. Seed germination and dormancy: The classic story, new puzzles, and evolution. *Journal of Integrative Plant Biology*, 61: 541–563. **(Journal)**. DOI: <https://doi.org/10.1111/jipb.12762>
- Osborne, D.J., Dobrzanska, M. and Sen, S. 1977. Factors determining nucleic acid and protein synthesis in the early hours of germination. *Symposia of the Society for Experimental Biology*, 31: 177–194. **(Journal)**.
- Powell, A.A. 2022. Seed vigour in the 21st century. *Seed Science and Technology*, 50 (Suppl.): 45–73. **(Journal)**. DOI: <https://doi.org/10.15258/sst.2022.50.1.s.04>
- Rajjou, L., Duval, M., Gallardo, K., Catusse, J., Bally, J., Job, C. and Job, D. 2012. Seed germination and vigor. *Annual Review of Plant Biology*, 63: 507–533. **(Journal)**. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105550>
- Sabouri, H., Kazerani, B., Fallahi, H.A., Dehghan, M.A., Alegh, S.M., Dadras, A.R., Katouzi, M. and Mastinu, A. 2022. Association analysis of yellow rust, fusarium head blight, tan spot, powdery

- mildew, and brown rust horizontal resistance genes in wheat. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 118: 101808. **(Journal)**. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2022.101808>
- Shewry, P.R. and Hey, S.J. 2015. The contribution of wheat to human diet and health. *Food and Energy Security*, 4: 178–202. **(Journal)**. DOI: <https://doi.org/10.1002/fes3.64>
- Sliwinska, E. 2009. Nuclear DNA replication and seed quality. *Seed Science Research*, 19: 15–25. **(Journal)**. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0960258508186275>
- Sliwinska, E., Jing, H.-C., Job, C., Job, D., Bergervoet, J.H.W., Bino, R.J. and Groot, S.P.C. 1999. Effect of harvest time and soaking treatment on cell cycle activity in sugar beet seeds. *Seed Science Research*, 9: 91–99. **(Journal)**. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0960258599000100>
- Tuan, P.A., Sun, M., Nguyen, T.-N., Park, S. and Ayele, B.T. 2019. Molecular mechanisms of seed germination. In: *Sprouted Grains*. Elsevier. pp: 1–24. **(Book Chapter)**. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811525-1.00001-4>
- Waterworth, W.M., Footitt, S., Bray, C.M., Finch-Savage, W.E. and West, C.E. 2016. DNA damage checkpoint kinase ATM regulates germination and maintains genome stability in seeds. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113: 9647–9652. **(Journal)**. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1608829113>
- Waterworth, W.M., Bray, C.M. and West, C.E. 2019. Seeds and the art of genome maintenance. *Frontiers in Plant Science*, 10: 706. **(Journal)**. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00706>
- Zhang, S., Zeng, H., Ji, W., Yi, K., Yang, S., Mao, P., Wang, Z., Yu, H. and Li, M. 2022. Non-destructive testing of alfalfa seed vigor based on multispectral imaging technology. *Sensors*, 22: 2760. **(Journal)**. DOI: <https://doi.org/10.3390/s22072760>



The pattern of cell cycle progression in the radicle tip and their association with seed vigour in wheat (*Triticum aestivum* L.)

Najmeh Salehan¹, Mohammad Khajeh-Hosseini^{2*}, AliReza Seifi¹

Received: February 4, 2026

Accepted: April 15, 2026

Abstract

Seed vigour plays a determining role in the establishment and early growth of wheat (*Triticum aestivum* L.); however, the cellular mechanisms responsible for vigour differences during the early stages of germination are not yet fully understood. In this study, cell cycle progression in the embryonic radicle was examined as an indicator related to seed vigor using flow cytometry. Four wheat seed lots with different vigor levels were examined, and the 4C/2C ratio was measured at 3 to 48 hours after imbibition. At the onset of water uptake, most nuclei were in the 2C phase; however, in high-vigor seeds, an early and pronounced increase in the proportion of 4C nuclei was observed. In contrast, low-vigor seeds showed a delayed and less pronounced increase in 4C nuclei. These differences were associated with the timing and uniformity of radicle emergence, indicating that the pattern of cell cycle progression in the radicle tip can serve as a suitable indicator for explaining seed vigor differences in wheat.

Keywords: Cell Cycle; DNA Replication; Radicle; Seed Vigor; Wheat Germination

How to cite this article

Salehan, N., Khajeh-Hosseini, M. and Seifi, A.R. 2026. The pattern of cell cycle progression in the radicle tip and their association with seed vigour in wheat (*Triticum aestivum* L.). Iranian Journal of Seed Science and Research, 12(4): 1-13. (In Persian)(Journal)
DOI: [10.22124/jms.2026.9711](https://doi.org/10.22124/jms.2026.9711)

COPYRIGHTS

Copyrights for this article are retained by the author(s) with publishing rights granted to the Iranian Journal of Seed Science and Research
The content of this article is distributed under Iranian Journal of Seed Science and Research open access policy and the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY4.0) License. For more information, please visit <http://jms.guilan.ac.ir/>

1. Ph.D student, Department of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. Najmeh.salehan@gmail.com
 2. Professor, Department of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. agr844@gmail.com
 3. Associate Professor, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. arseifi@um.ac.ir
- *Corresponding author: agr844@gmail.com