علوم و تحقیقات بذر ایران
سال پنجم/ شماره اول/ ۱۳۹۷ (۹۳ - ۸۳)

DOI: 10.22124/jms.2018.2902

تأثیر پرایمینگ بذر با اکسین بر جوانه‌زنی، صفات فیزیولوژیک و کنترل بیماری رایزوکتونیایی پنبه

الهه لطفعلی نژاد*[۱] سید جواد صانعی[۲]، و سید اسماعیل رضوی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۷/۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۲۵

چکیده

در تحقیق حاضر تأثیر پرایمینگ با غلظت‌های مختلف اسید ایندول- ۳- استیک (IAA) بر جوانه‌زنی بذر و برخی ویژگی-های فیزیولوژیک سه رقم پنبه شامل ساحل، گلستان و ورامین، هم‌چنین کنترل بیماری مرگ گیاهچه ناشی از *Rhizoctonia solani* در دو آزمایش جداگانه مورد مطالعه قرار گرفت. در آزمایش اول، اثر غلظت‌های ۰، ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ میکرومولار IAA بر جوانه‌زدن بذر در تشتک‌های پلاستیکی بررسی گردید. در آزمایش دوم، تأثیر تیمارهای ذکر شده بر کنترل بیماری مرگ گیاهچه بررسی شد. طول ریشه، طول ساقه و وزنِ خشک کل گیاهچه‌ها پس از ۲۸ روز اندازه‌گیری گردید و محتوای کل فنل عصاره الکلی توسط معرف فولین- سیوکالتو تخمین زده شد. نتایج نشان داد که جوانه‌زنی بذر، رشد ریشه، ساقه و وزنِ خشک کل به‌طور معنی‌داری توسط غلظت‌های پایین IAA (۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ میکرومولار) افزایش داشته است. هم‌چنین استعمال غلظت‌های ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ میکرومولار از IAA میزان شاخص بیماری ناشی از *R. solani* را به‌ترتیب ۱۷ درصد و ۳۸ درصد در رقم ساحل و ۱ درصد و ۳۳/۵ درصد در رقم‌های گلستان و ورامین کاهش داد. این غلظت‌ها سبب افزایش محتوای فنل کل گیاهچه شد. اثر پرایمینگ در سه رقم پنبه مورد مطالعه تأثیر معنی‌داری بر تغییر برخی از ویژگی‌های فیزیولوژیک و شاخص بیماری داشت.

واژه‌های کلیدی: پرایمینگ، پنبه، جوانه‌زنی، *رایزوکتونیا*

۱- کارشناس ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۲- اعضای هیأت علمی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
* نویسنده مسئول: elahelotfalinezhad@yahoo.com

مقدمه

پنبه یکی از محصولات مهم تجاری است که به‌طور معمول در مناطق پنبه‌کاری کشور در مرحله جوانه‌زنی و مراحل اولیه رشد با تنش‌های ناشی از عوامل غیرزنده (از قبیل دمای پایین، خشکی و شوری) و زنده (قارچ‌ها، باکتری‌ها و نماتدها) مواجه است. این عوامل با کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی، استقرار نامناسب گیاهچه را به‌همراه دارند. در این شرایط قدرت جوانه‌زنی و سبز شدن بذرهایی با قدرت اولیه پایین، کمتر است که منجر به مشکلاتی در مؤفقیت تولید می‌گردد (Wu *et al.*, 2014).

بیماری مرگ گیاهچه یکی از بیماری‌های مهم پنبه در مناطق مختلف کشت آن می‌باشد که جوانه‌زدن و رشد اولیه گیاهچه را تحت تأثیر قرار می‌دهد و همه ساله خسارت زیادی به مزارع پنبه‌کاری وارد می‌نماید. این بیماری دارای گسترش جهانی است و به‌وسیله مجموعه‌ای از عوامل بیماری‌زا، به‌ویژه عوامل قارچی *Rhizoctonia solani* Kühn، *Fusarium* spp. و *Pythium* spp. به‌وجود می‌آید (Howell *et al*., 2000; Jones *et al*., 2016). با توجه به ماهیت خاک‌زی بودن عوامل مرگ گیاهچه و عدم کاربرد صحیح روش‌های شیمیایی مثل پوشش‌دادن بذر با سموم شیمیایی یا سم‌پاشی مزرعه، استفاده از این روش‌ها نتیجه رضایت‌بخشی به‌همراه ندارد (Howell, 2007). هم‌چنین ایجاد مقاومت قارچ‌ها و باکتری‌ها به سموم مختلف توجه محققان را به بهبود بذر و اجتناب از بیماری جلب کرده است (Al-Mishhadani *et al*., 2015).

پرایمینگ یکی از روش‌های بهبود بذر می‌باشد که می‌تواند سبب افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی، سبز شدن و افزایش دامنه جوانه‌زدن بذرها در شرایط محیطی تنش‌زا از قبیل شوری، دما، خشکی و بیمارگرهای قارچی و باکتریایی شود (Sarlach *et al*., 2013). به‌منظور افزایش مؤلفه‌های رشد و کنترل بیمارگرهای خاک‌زی روش‌های مختلف تیمار بذر با عوامل زیستی مثل قارچ‌ها و باکتری‌ها و مواد شیمیایی ازجمله هورمون‌های گیاهی پیشنهاد شده است. در مقاومت القا شده سیستمیک (Induced systemic resistance= ISR) سازوکارهای دفاع گیاهان به‌وسیله پیش‌تیمار آن‌ها با عوامل زیستی یا شیمیایی تحریک می‌شوند. در این حالت، مقاومت تحریک شده به قسمت‌های سالم گیاه منتقل می‌گردد و در نتیجه مقاومت نسبت به دامنه وسیعی از عوامل بیماری‌زا به‌وجود می‌آید. بنابراین پیش‌تیمار گیاهان با عوامل غیربیماری‌زا (القاکننده زنده) یا ترکیبات شیمیایی (القاکننده‌های غیرزنده) می‌تواند مقاومت گیاهان را به حمله بعدی نه تنها در محل تیمار بلکه در بافت‌های مجزا از محل اولیه آلودگی افزایش دهد (Al-Wakeel *et al*., 2013).

کاهش رشد ریشه تحت تنش‌های مختلف در ارتباط با کاهش سطح هورمون‌های گیاهی از جمله آکسین‌ها، جیبرلین‌ها، اسید جاسمونیک و اسید سالیسیلیک همراه است (Egamberdieva, 2009; Alqarawi *et al*., 2014). اسید ایندول استیک (Indole-3-acetic acid= IAA) فراوان‌ترین آکسین طبیعی است که قابلیت آن در رابطه با تنظیم بسیاری از جنبه‌های رشد و نمو گیاه از جمله تمایز بافت‌های آوندی، رشد طولی، جوانه‌زنی بذر و غده، تحریک ایجاد ریشه‌های جانبی، بیوسنتز متابولیت‌های مختلف و مقاومت به شرایط تنش، به‌خوبی شناخته شده است (Woodward and Bartel, 2005; Javid *et al*., 2011; Ramalingam and In-Jung, 2013). هم‌چنین به‌نظر می‌رسد قابلیت یک گونه گیاهی برای سازگاری با شرایط تنش به همراهی آن‌ها با برخی از میکروارگانیسم‌های تولیدکننده هورمون‌های گیاهی بستگی دارد (Vanneste and Friml, 2009).

تعدادی از مطالعات تأثیر استعمال خارجی هورمون‌های گیاهی مانند آکسین‌ها (Afzal *et al*., 2005)، سیتوکینین‌ها (Khan *et al*., 2011) و جیبرلین‌ها (Al-Mishhadani *et al*., 2015; Egamberdieva *et al*., 2015) را بر دریافت بهینه مواد غذایی از خاک و افزایش سیستم ریشه پیشنهاد کرده‌اند. هم‌چنین، تعدادی از گزارش‌ها بر کاهش میزان آلودگی ناشی از بیمارگرهای قارچی و باکتریایی پس از کاربرد خارجی IAA روی گیاه اشاره دارند (Ludwig-Müller, 2011; Pusztahelyi *et al*., 2015). IAA میزان آلودگی گیاهان گوجه‌فرنگی به *F. oxysporum* f.sp. *radicis* را با افزایش مقاومت میزبان، کاهش می‌دهد (Sharaf and Farrag, 2004). هم‌چنین تیمار گیاهان جو با IAA در کاهش علائم ناشی از *Fusarium culmorum* و افزایش محصول مؤثر بوده است (Petti *et al*., 2012).

استان گلستان با تولید ۱۳/۹ درصد، رتبه سوم تولید پنبه را در کشور داراست (Anonymous, 2015). لذا با توجه به استراتژیک بودن کشت پنبه در استان گلستان و نظر به اهمیت بیماری مرگ گیاهچه پنبه با عامل *R. solani* در این منطقه، به‌کارگیری پرایمینگ بذر پنبه با آکسین به‌منظور افزایش جوانه‌زدن بذر و کنترل بیماری مرگ گیاهچه پنبه مدنظر قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

محل و زمان: این تحقیق در سال ۱۳۹۴ در گلخانه دانشکده تولید گیاهی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد.

جدایه *R. solani*: جدایه بیماری‌زای *R. solani* AG4 از کلکسیون قارچ‌های گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه تهران تهیه گردید. این جدایه از پنبه ساحل در منطقه کردکوی (استان گلستان) جداسازی گردید. جدایه مذکور روی محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار (Potato dextrose agar =PDA) و دمای ۷-۵ درجه سلسیوس نگه‌داری شد.

تهیه زادمایه و خاک آلوده به *R. solani*: ابتدا ماسه و آرد ذرت به نسبت ۹ به ۱ مخلوط و به ازای ۱۰۰ گرم از مخلوط به‌دست آمده ۱۰ میلی‌لیتر آب به آن اضافه شد، سپس ظروف حاوی مخلوط فوق در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار ۱ اتمسفر به‌مدت ۲۰ دقیقه ضدعفونی شدند. بعد از خنک شدن، ۳ قطعه ۵ میلی‌متری از حاشیه محیط ۴ روزه بیمارگر به مخلوط حاصل اضافه گردید و ظروف در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۴ هفته نگه‌داری شدند. زادمایه به‌دست آمده با خاک سترون شده به نسبت ۱/۵ درصد وزنی مخلوط گردید (Bienkowski *et al.*, 2010). برای گلدان‌های شاهد از مخلوط آرد ذرت و ماسه سترون فاقد عامل بیماری استفاده شد.

پرایمینگ بذر توسط IAA: بذر پنبه رقم ساحل، گلستان و ورامین از مؤسسه تحقیقات پنبه کشور تهیه شد. بذرهای کرکدار ابتدا توسط هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به‌مدت ۴ دقیقه ضدعفونی شدند و پس از سه مرتبه شست‌وشو توسط آب مقطر سترون، در غلظت‌های صفر (شاهد)، ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ میکرومولار از IAA (Merck, 64271 Darmastadt, Germany, Catalogue Number 1.00353.0010) به مدت ۱۲ ساعت قرار گرفتند. به‌منظور بررسی تأثیر IAA بر جوانه‌زنی، وضعیت جوانه‌زدن بذرها در تشتک‌های پتری (هر تشتک حاوی ۲۰ بذر) با بستر کاغذ صافی مرطوب بررسی شد. بذرها به‌مدت ۸ روز در انکوباتور با دمای ۲۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند. در پایان مدت زمان مورد نظر، تعداد گیاهچه‌ها شمارش شدند (Egamberdieva *et al.*, 2015). در بررسی گلخانه، کشت بذرها در گلدان‌های حاوی خاک واجد و فاقد *R. solani* صورت گرفت. گلدان‌ها در گلخانه با دمای مناسب رشد قارچ و گیاه (دمای روزانه و شبانه به‌ترتیب ۲۹ و ۱۷ درجه سلسیوس) تا ظهور علائم نگه‌داری شدند.

ارزیابی بیماری: پس از ۲۸ روز از کاشت بذرها در گلدان (اواسط دوره رویشی)، طول ساقه، ریشه، وزنِ خشک گیاه و درصد شاخص بیماری محاسبه گردید. به‌منظور محاسبه وزن خشک گیاه، بوته‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۲ درجه سلسیوس خشک شدند و وزن آن‌ها به‌وسیله ترازو با دقت یک‌هزارم اندازه‌گیری شد. درجه‌بندی بوته‌ها از نظر مرگ گیاهچه بر اساس درصد تغییر رنگ ریشه و ساقه و مقیاس ۳-۰ (۰= بدون آلودگی، ۱- زخم‌های سطحی روی ساقه، ۲- زخم‌های فرورفته روی ساقه و پژمردگی، ۳- مرگ کامل گیاهچه) صورت گرفت (Dennis and Webester, 1971).

اندازه‌گیری فنل کل: غلظت فنل کل در یک گرم از بافت مورد نظر به‌روش مالنسیک و همکاران (Malencic *et al.*, 2007) بر اساس تغییر رنگ عصاره فنلی توسط معرف فولین- سیوکالتو و کربنات سدیم ۲۰ درصد انجام شد. در این رابطه، پس از مخلوط شدن ۰/۱ تا ۰/۴ میلی‌لیتر از عصاره الکلی استخراج شده با ۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر معرف فولین- سیوکالتو، مقدار جذب نمونه‌ها پس از یک ساعت در طول موج ۷۲۵ نانومتر اندازه‌گیری گردید. برای تهیه منحنی استاندارد از اسید گالیک استفاده شد و فنل کل برحسب میلی‌گرم اسید گالیک در یک گرم برگ خشک به‌دست آمد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: این مطالعه در چهار تکرار به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید و داده‌های به‌دست آمده تجزیه واریانس (ANOVA) شده و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال $p<0.01$ انجام شد. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده

از نرم‌افزار R 3.3.1 صورت گرفت و ترسیم شکل‌ها توسط نرم‌افزار Excell 2007 انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده برای تیمارها و ارقام مختلف پنبه در رابطه با پرایمینگ IAA نشان می‌دهد که اثر پرایمینگ در سه رقم پنبه مورد مطالعه بر تغییر برخی از ویژگی‌های فیزیولوژیک و شاخص بیماری تأثیر داشته است ($p\leq0.05$، جدول ۱). IAA اثر معنی‌داری بر طول ریشه، طول ساقه، وزنِ خشک کل و میزان فنل کل گیاه داشت ($p\leq0.05$)، اما اثر رقم بر طول ریشه و ساقه معنی‌دار نبوده است ($p\leq0.05$، جدول ۱). مقایسه میانگین طول ریشه، طول ساقه و وزنِ خشک کل گیاه در هر سه رقم مورد بررسی نشان می‌دهد که غلظت ۰/۰۰۱ میکرومولار آکسین موجب افزایش صفت‌های مذکور در حضور و عدم حضور قارچ بیمارگر می‌گردد (جدول ۲). این غلظت هم‌چنین کاهش مرگ گیاهچه پنبه در هر سه رقم را به‌همراه داشته است (شکل ۱). غلظت‌های مختلف IAA (میکرومولار) شاخص مرگ گیاهچه در گیاهان رشد کرده در خاک آلوده را تغییر می-دادند. هم‌چنین استعمال غلظت‌های ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ میکرومولار از IAA میزان شاخص بیماری ناشی از *R. solani* را به‌ترتیب ۱۷ درصد و ۳۸ درصد در رقم ساحل و ۱ درصد و ۳۳/۵ درصد در رقم‌های گلستان و ورامین کاهش داد (شکل ۱). در این رابطه، اثر رقم × غلظت IAA معنی‌دار بود ($p\leq0.05$). در حالی که غلظت-های ۰/۱ و ۰/۰۱ از IAA تأثیر معنی‌داری بر شاخص مرگ گیاهچه در رقم ورامین و گلستان نداشته است، اما این غلظت‌ها سبب کاهش شاخص بیماری در رقم ساحل می‌شد. غلظت ۰/۰۰۱ از IAA میزان شاخص بیماری مرگ گیاهچه را در هر سه رقم کاهش می‌داد (شکل ۱). فنل کل (میکروگرم/ گرم ریشه) در گیاهان پنبه شاهد (غلظت IAA =۰) در پایین‌ترین میزان بوده است و با تیمار غلظت‌های مختلف IAA (میکرومولار) در هر سه رقم پنبه افزایش می‌یافت. این افزایش نیز در غلظت ۰/۰۰۱ =IAA در بیشترین میزان خود در هر سه رقم بوده است ($p\leq 0.05$، شکل ۲). به‌منظور بررسی ارتباط بین فنل کل و شاخص بیماری، متغیرهای مذکور در هر رقم برازش داده شدند. مدل‌های مربوط به میزان فنل کل و شاخص بیماری برای هر رقم نشان داد که ارتباطی منفی بین دو متغیر مذکور وجود دارد (شکل ۳). پس از برازش مدل‌های مختلف، معادله $Y=0.036X^2 - 5.051X + 308.4$ با بیشترین ضریب همبستگی ($R2=0.746$، $p\leq0.01$) برای توصیف ارتباط بین میزان کل فنل در گیاه و میزان آلودگی به‌دست آمد. این معادله نشان می‌دهد که تغییر میزان فنل کل در گیاه بر روند پیشرفت بیماری تأثیر می‌گذارد. بنابراین می‌تواند جهت پیش‌بینی میزان بیماری در رابطه با تأثیر تیمارهای مختلف بر میزان فنل کل گیاه استفاده شود.

اثر پرایمینگ بر جوانه‌زنی معنی‌دار بود، اما اختلافی در مورد جوانه‌زدن بین سه رقم پنبه مورد مطالعه مشاهده نشد اثر غلظت‌های مختلف IAA (میکرومولار) بر جوانه-زنی بذر متفاوت بود و بیشترین تأثیر در غلظت ۰/۰۰۱ مشاهده گردید (شکل ۴).

شرایط نامساعد محیطی شامل تنش‌های ناشی از عوامل زنده یا غیرزنده از جوانه‌زنی و رشد گیاهان به‌طور قابل‌توجهی ممانعت می‌کنند و نقش به‌سزایی در کاهش محصول دارند، بنابراین راه‌کارهای غلبه بر این مشکلات از اهمیت زیادی برخوردار است (Bianco and Defez, 2009; Arif *et al*., 2012). پرایمینگ با عوامل زنده یا ترکیبات شیمیایی باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی در تنش‌های خشکی، شوری، دمای پایین و تنش ناشی از بیمارگرها می‌شود و گیاهچه‌های حاصل از بذرهای تیمار شده این گیاهان با سرعت بیشتری استقرار می‌یابند (Vanneste and Friml, 2009; Yan, 2016). در این رابطه، آغشته نمودن بذر پنبه (Egamberdieva *et al*., 2015) و گندم (Egamberdieva, 2009; Egamberdieva and Kucharova, 2009) با IAA افزایش جوانه‌زنی بذر و تحمل به شوری را به‌همراه داشته است. هم‌چنین تحریک جوانه‌زدن و رشد ریشه با کاربرد IAA در *Arabidopsis thaliana* مشاهده شد (Fu and Harberd, 2003). باکتری *Klebsiella oxyto* Rs-5 نیز با تولید IAA افزایش رشد پنبه و تحمل به شوری را به-همراه داشته است. باکتری مذکور میزان جوانه‌زدن بذر پنبه را نیز افزایش می‌داد و در بهبود شاخص‌های فیزیولوژیک از جمله میزان کلروفیل a، قندهای محلول و پرولین نقش داشت (Yu and Zheng, 2006; Wu *et al*., 2014). نتایج این مطالعه نیز تأثیر پرایمینگ با IAA

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس صفت اندازه‌گیری شده برای تیمارها و ارقام مختلف پنبه

Table 1. The results of variance analysis characteristic measured for treatments and different cultivars of cotton

تیمار Treatment	میانگین مربعات Mean of Squares				
	طول ریشه (میلی‌متر) Root Length (mm)	طول ساقه (میلی‌متر) Stem Length (mm)	وزن خشک کل (گرم/ گیاه) The total of dry weight (gr/plant)	شاخص بیماری Disease Index	فنل (میکروگرم/ گرم ریشه) Phenol (µg / g root)
IAA	764.7 **[a]	200.61 **	7.997 **	1063 **	13802 **
بیمارگر Pathogen	217.0 **	82.35 **	1.307 **	49665 **	1
رقم Cultivar	61.8	4.60	0.261 *	154 *	1261 **
IAA × Pathogen بیمارگر × IAA	159.2 **	23.31 *	0.305 **	1063 **	25
IAA × Cultivar رقم× IAA	27.6 *	176.25 **	0.518 **	34 *	1770 **
Pathogen × Cultivar رقم × بیمارگر	33.1 *	39.18 **	0.227 *	154 *	85
IAA ×Pathogen × Cultivar رقم × بیمارگر× IAA	22.4 *	20.20 *	0.069 *	34 *	13*
ضریب تغییراتCV	8.99	5.81	5.60	22.01	5.37

a **= سطح احتمال $p\leq0.01$ و *= سطح احتمال $p\leq0.05$.

a** = probability level $p\leq0.01$ and *= probability level $p\leq0.05$.

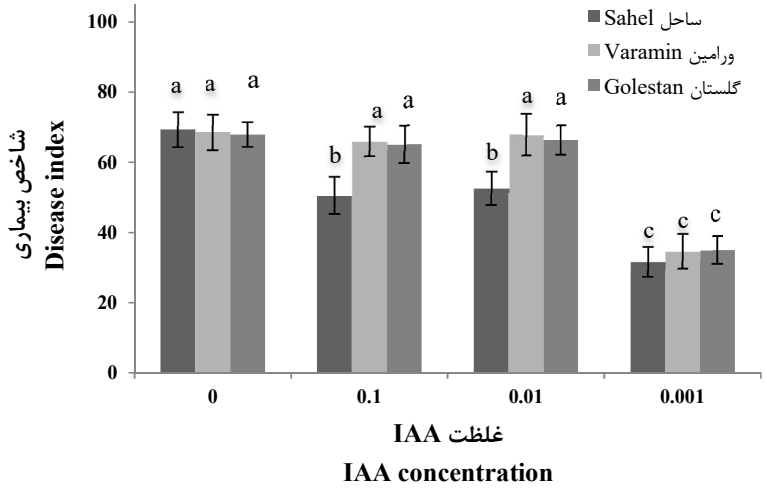
جدول ۲- مقایسه میانگین تأثیر غلظت‌های مختلف IAA بر صفات رشدی پنبه

Table 2. Mean comparison the effect different concentrations of IAA on cotton growth

بیمارگر/ غلظت IAA (میکرومولار) Disease / Concentration of IAA (Micromolar)	رقم ساحل Sahel cultivar			رقم ورامین Varamin cultivar			رقم گلستان Golestan cultivar		
	طول ریشه (میلی‌متر) Root Length (mm)	طول ساقه (میلی‌متر) Stem Length (mm)	وزن خشک کل (گرم به ازای گیاه) The total of dry weight (gr per plant)	طول ریشه (میلی‌متر) Root Length (mm)	طول ساقه (میلی‌متر) Stem Length (mm)	وزن خشک کل (گرم به ازای گیاه) The total of dry weight (gr per plant)	طول ریشه (میلی‌متر) Root Length (mm)	طول ساقه (میلی‌متر) Stem Length (mm)	وزن خشک کل (گرم به ازای گیاه) The total of dry weight (gr per plant)
واجد *R. solani* With *R. solani*									
0	37.67 hij*	50 abcd	3.57 jk	33.33 j	38.66 hi	3.36 k	36.33 hij	39 hi	3.83 ij
0.1	41 efghi	35 ij	4.37 efg	39.67 fghij	47 cdef	3.9 hij	36 ij	42 gh	4 ghi
0.01	49.67 cd	44.33 fg	4.33 efg	51 c	51.33 abc	4.07 fghi	46.67 cde	47.67 bcdef	4.23 efghi
0.001	51.67 bc	52.67 a	5.97 a	59 a	46 defg	5.37 b	50.33 c	45.33 efg	5 bc
فاقد *R. solani* Without *R. solani*									
0	52.33 abc	51.33 abc	4 ghi	45.67 cdefg	44 fg	4.2 efghi	46.33 cdef	45.67 defg	4.36 efg
0.1	43 defgh	32 j	4.16 efghi	38 hij	48.33 abcdef	4.43 ef	39 ghij	47.67 bcdef	4.53 de
0.01	48 cd	47.33 bcdef	4.3 efgh	50.33 c	45 efg	4.53 de	51.67 bc	49 abcde	4.46 ef
0.001	53 ab	51.67 ab	6 a	52.33 abc	51 abc	5.3 bc	49.33 cd	51.67 ab	4.93 cd

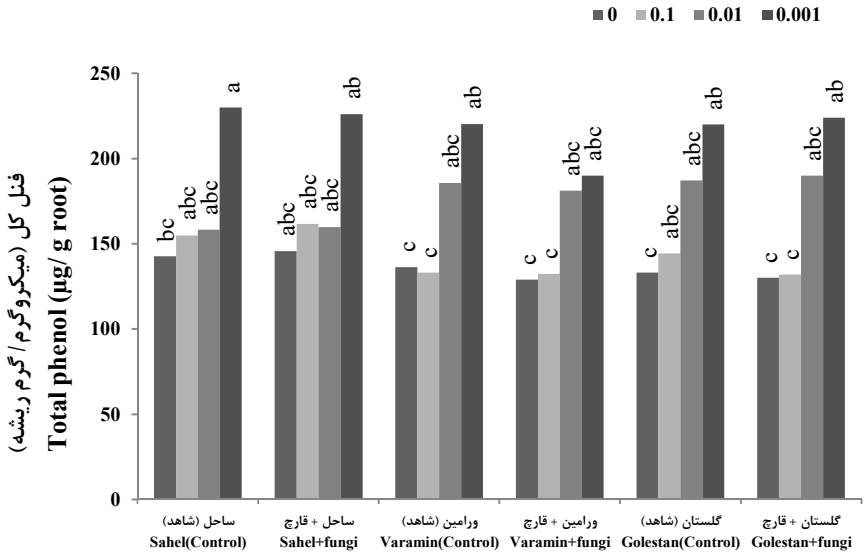
* ستون‌های مربوط به سه رقم دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند (آزمون LSD، $p\leq0.05$).

* Columns related to three cultivars with the same letter do not differ at $p< 0.05$ according to a LSD difference test.



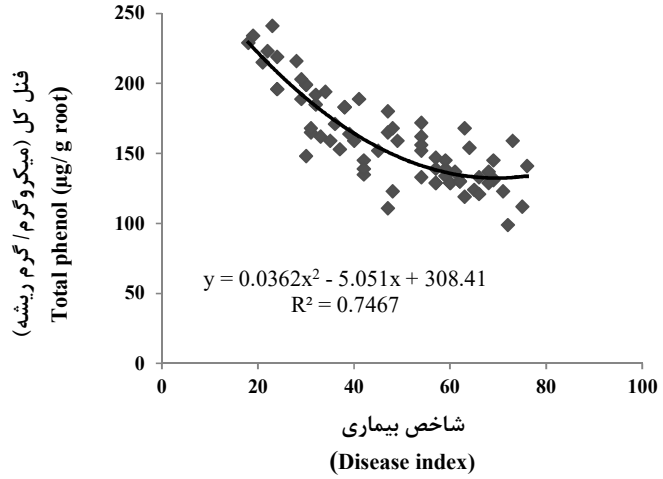
شکل ۱- کنترل مرگ گیاهچه پنبه توسط *Rhizoctonia solani* با استفاده از غلظت‌های مختلف IAA (میکرومولار). گیاهان به‌مدت ۲۸ روز در خاک آلوده به بیمارگر رشد کرده‌اند. ستون‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند (آزمون LSD، p≤0.05)

Figure 1. Control of cotton damping-off by *Rhizoctonia solani* using different concentrations of IAA (µM). Plants have grown in soil contaminated with the pathogen during 28 days. Columns with the same letter do not differ at p< 0.05 according to a LSD difference test.



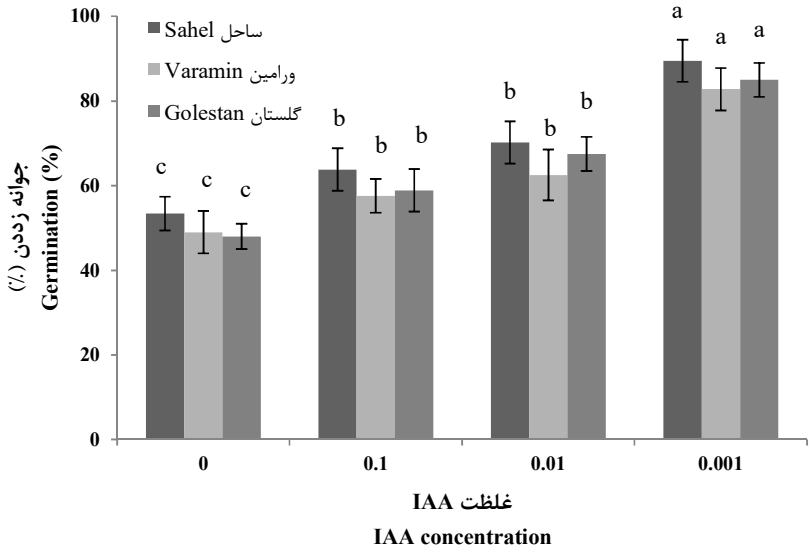
شکل ۲- تأثیر غلظت‌های مختلف IAA (۰، ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ میکرومولار) بر میزان فنل کل (میکروگرم/ گرم ریشه). ستون‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند (آزمون LSD، p≤0.05)

Figure 2. The effect of different concentrations of IAA (0, 0.1, 0.01 and 0.001 µM) on total phenol (µg / g root). Columns with the same letter do not differ at p< 0.05 according to a LSD difference test.



شکل ۳- ارتباط بین فنل کل (میکروگرم/ گرم ریشه) و شاخص بیماری مرگ گیاهچه پنبه با *Rhizoctonia solani*

Figure 3. The relationship between total phenol (µg / g root) and disease Index of damping-off by *Rhizoctonia solani*.



شکل ۴- تأثیر غلظت‌های مختلف IAA (میکرومولار) بر درصد جوانه‌زدن بذر پس از ۵ روز. ستون‌ها میانگین ۴ تشتک پتری (هر یک ۲۰ بذر) می‌باشد. ستون‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند (آزمون LSD، $p \leq 0.05$)

Figure 4. The effect of different concentrations of IAA (µM) on the percentage of seed germination after 5 days. Columns are mean of 4 petri dishes (each 20 seed). Columns with the same letter do not differ at $p < 0.05$ according to a LSD difference test.

را بر جوانه‌زنی گیاه به‌طور مثبت نشان داد. در این رابطه، روند افزایش جوانه‌زنی با افزایش غلظت IAA در سه رقم پنبه مورد مطالعه یکسان بود و اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p\leq 0.05$).

میزان هورمون‌های گیاهی در گیاه ممکن است توسط میکروارگانیسم‌های همراه ریشه تحت‌تأثیر قرار گیرد (Bano *et al*., 2013; Turan *et al*., 2014). باکتری‌های تولیدکننده هورمون‌های گیاهی با ترشح IAA به منطقه ریزوسفر، رشد ریشه را تحریک می‌کنند و با افزایش رشد ریشه، جذب مواد معدنی ضروری را افزایش می‌دهند. گیاهچه‌های ذرت تلقیح شده با استرین‌های *Azospirillium lipoferum* میزان IAA و جیبرلین بیشتری نسبت به گیاهان شاهد داشتند (Lucangeli and Bottini, 1997). تلقیح نخود با *Bradyrhizobium japonicum* نیز افزایش IAA در گیاه و تحریک رشد ریشه را به‌همراه داشت (Bano *et al*., 2013). کاربرد خارجی IAA (Afzal *et al*., 2005) علاوه بر دریافت بهینه مواد غذایی از خاک و افزایش سیستم ریشه، قابلیت تحمل تنش‌های محیطی گیاهان را نیز افزایش می‌دهد (Egamberdieva, 2009). در این بررسی، مقایسه رشد گیاهان در بذرهای تیمار شده با IAA بیانگر افزایش معنی‌دار طول ریشه، طول ساقه و وزنِ خشک کل در هر سه رقم پنبه مورد مطالعه بوده است (جدول ۲).

مطالعات متعدد تأثیر قارچ‌های بیمارگر گیاهی را بر مراحل مختلف فیزیولوژیک گیاه نشان داده است (Saharan and Nehra, 2011; Gkarmiri *et al*., 2015). تغییر سطوح تنظیم‌کننده‌های رشد در این برهم‌کنش‌ها جوانه‌زنی بذر و رشد گیاه را با ممانعت از فتوسنتز و سنتز پروتئین تحت‌تأثیر قرار می‌دهد (Zhao, 2010; Alqarawi *et al*., 2014). در این مطالعه، تنش ناشی از *R. solani* (عامل مرگ گیاهچه) با کاهش رشد ریشه و قسمت‌های هوایی گیاهچه همراه بوده است (جدول ۲).

طبق برخی از مطالعات، IAA با بهبود رشد گیاه و افزایش ترکیبات دفاعی، روند ایجاد بیماری را کاهش می‌دهد (Woodward and Bartel, 2005; Bianco and Defez, 2009; Ramalingam and In-Jung, 2013; Egamberdieva *et al*., 2015). کاهش میزان آلودگی ناشی از بیمارگرهای قارچی و باکتریایی پس از کاربرد خارجی IAA روی گیاه مشاهده شده است (Ludwig-Müller, 2011; Pusztahelyi *et al*., 2015). IAA میزان آلودگی گیاهان گوجه‌فرنگی به *F. oxysporum* f.sp. *radicis* را با افزایش مقاومت میزبان کاهش می‌دهد (Sharaf and Farrag, 2004). هم‌چنین تیمار گیاهان جو با IAA در کاهش علائم ناشی از *Fusarium culmorum* و افزایش محصول مؤثر بود (Petti *et al*., 2012). افزایش IAA در گیاه نیز به‌عنوان یکی از سازوکارهای *Pseudomonas fluorescens* جهت کنترل سوختگی فوزاریومی پیشنهاد شده است (Petti *et al*., 2012).

به‌طور کلی نتایج این مطالعه تأثیر پرایمینگ بذر با IAA را بر افزایش ترکیبات دفاعی گیاه (فنل کل) نشان می‌دهد. ارتباط افزایش این ترکیبات با شاخص بیماری بیانگر سازوکار احتمالی تأثیر IAA بر بیماری مرگ گیاهچه در پنبه می‌باشد. کاهش تنش ناشی از بیمارگر افزایش جوانه‌زنی و ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه را به‌همراه دارد.

سپاسگزاری

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند تا بدین وسیله از زحمات جناب آقای دکتر قربانعلی روشنی جهت هماهنگی برای تهیه بذرها تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

Afzal, I., Basra, Sh. and Iqbal, A. 2005. The effect of seed soaking with plant growth regulators on seedling vigor of wheat under salinity stress. Journal of Stress Physiology and Biochemistry, 1: 6-14. **(Journal)**

Al-Mishhadani, I. I., Ismail, E. N., Jaddoa, K. A., Majeed, D. M. and Mohammed, O. A. 2015. Estimation of the interaction effect between salinity and growth regulators on salt tolerance of two bread wheat cultivars. International Journal of Applied Agricultural Sciences, 1: 95-101. **(Journal)**

Alqarawi, A. A., Abd Allah, E. F., Hashem, A., Al HuqailAsma, A., Abdulaziz, A. and Al Sahli, A. A. 2014. Impact of abiotic salt stress on some metabolic activities of *Ephedra alata* Decne. Journal of Food, Agriculture and Environment, 12: 620-625. **(Journal)**

Al-Wakeel, S. A. M., Moubasher, H., Gabr, M. M. and Madany, M. M. Y. 2013. Induced systemic resistance: an innovative control method to manage branched broomrape (*Orobanche ramosa* L.) in tomato. IUFS Journal of Biology, 72: 9-21. **(Journal)**

Arif, M., Tarigjan, M., Marvet, K. B. and Khan, M. A. 2012. Seed priming improves emergence and yeild of soybean. Pakistan Journal of Botany, 40: 1169-1177. **(Journal)**

Anonyumous. 2015. Jahad of Agriculture in the mirror of statistics. Ministry of Agricultural Jahad press, Tehran, Iran. (In Persian)**(Book)**

Bano, Q., Ilyas, N., Bano, A., Zafar, N., Akram, A. and Hassan, F. 2013. Effect of *Azospirillum* inoculation on maize (*Zea mays* L.) under drought stress. Pakistan Journal of Botany, 45 (S1): 13-20. **(Journal)**

Bianco, C. and Defez, R. 2009. *Medicago truncatula* improves salt tolerance when nodulated by anindole-3-acetic acid overproducing *Sinorhizobium meliloti* strain. Journal of Experimental Botany, 60: 3097-3107. **(Journal)**

Bienkowski, D., Stewart, A., Falloon, R. E., Braithwaite, M. and Loguerci, L. L. 2010. A disease assay for *Rhizoctonia solani* on potato (*Solanum tuberosum*). New Zealand Plant Protection, 63: 133-137. **(Journal)**

Dennis, C. and Webester, J. 1971. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma* (I. production of non-volatile antibiotics). Transactions of the British Mycological Society, 57: 25-39. **(Journal)**

Egamberdieva, D. 2009. Alleviation of salt stress by plant growth regulators and IAA producing bacteria in wheat. Acta Physiologiae Plantarum, 31: 861-864. **(Journal)**

Egamberdieva, D. and Kucharova, Z. 2009. Selection for root colonizing bacteria stimulating wheat growth in saline soils. Biology and Fertility of Soils, 45: 561-573. **(Journal)**

Egamberdieva, D., Jabborova, D. and Hashem, A. 2015. *Pseudomonas* induces salinity tolerance in cotton (*Gossypium hirsutum*) and resistance to *Fusarium* root rot through the modulation of indole-3-acetic acid. Saudi Journal of Biological Sciences, 22: 773-779. **(Journal)**

Fu, X. and Harberd, N. P. 2003 Auxin promotes *Arabidopsis* root growth by modulating gibberellin response. Nature, 421: 740-743. **(Journal)**

Gkarmiri, K., Finlay, R. D., Alstrom, S., Thomas, E., Cubeta, M. A. and Hogberg, N. 2015. Transcriptomic changes in the plant pathogenic fungus *Rhizoctonia solani* AG-3 in response to the antagonistic bacteria *Serratia proteamaculans* and *Serratia plymuthica*. BMC Genomics, 16: 630-641. **(Journal)**

Howell, C. R. 2007. Effect of seed quality and combination fungicide–*Trichoderma* spp. seed treatments on pre- and post-emergence damping off in cotton. Phytopathology, 97: 66-71. **(Journal)**

Howell, C. R., Hanson, L. E., Stipanovic, R. D. and Puckhaber, L. S. 2000. Induction of terpenoid synthesis in cotton roots and control of *Rhizoctonia solani* by seed treatment with *Trichoderma virens*. Phytopathology, 90: 248-252. **(Journal)**

Javid, M. G., Sorooshzadeh, A., Moradi, F. and Allahdadi, I. 2011. The role of phytohormones in alleviating salt stress in crop plants. Australian Journal of Crop Science, 5: 726-734. **(Journal)**

Jones, W. M., Smith, W. S. and Starr, J. L. 2016. Resistance to *Rhizoctonia solani* and *Pythium ultimum* in Upland Cotton (*Gossypium hirsutum* L.). Crop Science, 56: 1784-1791. **(Journal)**

Khan, A. L., Hamayun, M., Yoon-Ha, K., Kang, S. M., Lee, J. H. and Lee, I. N. 2011. Gibberellins producing endophytic *Aspergillus fumigatus* sp. LH02 influenced endogenous phytohormonal levels, isoflavonoids production and plant growth in salinity stress. Process Biochemistry, 46: 440-447. **(Journal)**

.Lucangeli, C. and Bottini, R. 1997. Effects of *Azospirillum* spp. on endogenous gibberellin content and growth maize (*Zea mays* L.) treated with uniconazole. Symbiosis, 23: 63-71. **(Journal)**

Ludwig-Müller, J. 2011. Auxin conjugates: their role for plant development and in the evolution of land plants. Journal of Experimental Botany, 62: 1757-1773. **(Journal)**

Malencic, D., Popovic, M. and Miladinovic, J. 2007. Phenolic content and antioxidant properties of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) Seeds. Molecules**,** 12(3): 576-581. **(Journal)**

Petti, S., Reiber, K., Ali, S. S., Berney, M. and Doohan, F. M. 2012. Auxin as a player in the biocontrol of Fusarium head blight disease of barley and its potential as a disease control agent. BMC Plant Biology, 12: 224-234. **(Journal)**

Pusztahelyi, T., Holb, I. J. and Pocsi, I. 2015. Secondary metabolites in fungus-plant interactions. Frontiers in Plant Science, 6: 1-23. **(Journal)**

Ramalingam, R. and In-Jung, L. 2013. Ameliorative effects of spermine against osmotic stress through antioxidants and abscisic acid changes in soybean pods and seeds. Acta Physiologiae Plantarum, 35: 263-269. **(Journal)**

Saharan, B. S. and Nehra, V. 2011. Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A Critical Review. Life Sciences and Medicine Research, 21: 1-30. **(Journal)**

Sarlach, R. S., Sharma, A. and Bains, N. S. 2013. Seed priming in wheat: Effect on seed germination, yield parameters and grain yield. Progressive Research, 8: 109-112. **(Journal)**

Sharaf, E. F. and Farrag, A. A. 2004. Induced resistance in tomato plants by IAA against *Fusarium oxysporum lycopersici*. Polish Journal of Microbiology, 53: 111-116. **(Journal)**

Turan, M., Ekinci, M., Yildirim, E., Gnes, A., Karagz, K., Kotan, R. and Dursun, A. 2014. Plant growth-promoting rhizobacteria improved growth, nutrient, and hormone content of cabbage (*Brassica oleracea*) seedlings. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 38: 327-333. **(Journal)**

Vanneste, S. and Friml, J. 2009. Auxin: A trigger for change in plant development. Cell, 136: 1005-1016. **(Journal)**

Woodward, A. W. and Bartel, B. 2005. Auxin: regulation, action and interaction. Annals of Botany, 95: 707-735. **(Journal)**

Wu, Z., Peng, Y., Guo, L. and Li, C. 2014. Root colonization of encapsulated *Klebsiella oxytoca* Rs-5 on cotton plants and its promoting growth performance under salinity stress. European Journal of Soil Biology, 60: 81-87. **(Journal)**

Yan, M. 2016. Hydro-priming increases seed germination and early seedling growth in two cultivars of Napa cabbage (*Brassica rapa* subsp. *pekinensis*) grown under salt stress. Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 91: 421-426. **(Journal)**

Yu, T. and Zheng, X. 2006. Salicylic acid enhances biocontrol efficacy of the antagonist *Cryptococcus laurentii*in apple fruit. Journal of Plant Growth Regulation, 25: 166-174. **(Journal)**

Zhao, Y. 2010. Auxin biosynthesis and its role in plant development. Annual Review of Plant Biology, 61: 49-64. **(Journal)**

Effect of seed priming on the germination traits, physiological characteristics and control of cotton *Rhizoctonia* disease

Elahe Lotfali Nezhad*[1], Seyed Javad Sanei[2], Seyed Esmaeil Razavi[3]

Received: September 25, 2016 Accepted: February 13, 2017

Abstract

The effects of priming with different concentrations of indole-3-acetic acid (IAA) on physiological characteristics of three cotton cultivars (Sahel, Golestan and Varamin) as well as their effects on controlling of damping-off caused by *Rhizoctonia solani* were investigated in two separate experiments. To determine the effects of IAA on seed germination, IAA was used at 0, 0.1, 0.01 and 0.001 µM in plastic petri dishes. In the second experiment seeds treated with 0, 0.1, 0.01, and 0.001 µM IAA grown in infested soil with *R. solani* inoculum. Shoot and root growth and fresh weight were evaluated 28 days after sowing and the total phenolic content of the root extract was determined by the Folin–Ciocalteu method. The results showed that seed germination, growth of shoots, roots and fresh weight increased significantly by the application of a low concentration of IAA (0.01 and 0.001 µM). The application of 0.01 and 0.001 µM of IAA also reduced disease index caused by *R. solani*, 17% and 38% in Sahel and 1% and 33.5% in Golestan and Varamin, respectively. The concentrations enhanced total phenolic content in defence system. Primed seeds showed a significant effect on some physiological characteristics and disease index in three different cultivars.

Key words: Priming, Cotton, Germination, *Rhizoctonia*

How to cite this article

Lotfali Nezhad, E., Sanei, S. J. and Razavi, S. E. 2018. Effect of seed priming on the germination traits, physiological characteristics and control of cotton *Rhizoctonia* disease. Iranian Journal of Seed Science and Research, 5(1): 83-93. (In Persian)**(Journal)**

DOI: 10.22124/jms.2018.2902

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. MSc. of Plant Pathology, Department of Plant Protection, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
2. Faculty members, Department of Plant Protection, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

*Corresponding author: elahelotfalinezhad@yahoo.com