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

DOI: 10.22124/jms.2018.2913

تأثیر تنش‌های خشکی و شوری بر خصوصیات جوانه‌زنی بذر، رشد و محتوای پرولین گیاهچه مینا چمنی (*Bellis perennis* L. "Bellissima Mixture")

حسن بیات[1*]، محمد حسین امینی‌فرد[1]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۴/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۶/۱۴

چکیده

جوانه‌زنی و سبز شدن بذر به شدت تحت تأثیر تنش‌های محیطی از جمله شوری و خشکی قرار می‌گیرد. به منظور بررسی اثر تنش‌های خشکی و شوری بر جوانه‌زنی بذور گیاه مینا چمنی (*Bellis perennis* L. "Bellissima Mixture")، دو آزمایش مجزا در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش‌های خشکی و شوری شامل هفت سطح پتانسیل اسمزی صفر، ۲-، ۴-، ۶-، ۸-، ۱۰- و ۱۲- بار بود که به ترتیب با استفاده از محلول پلی‌اتیلن‌گلیکول و کلرید سدیم اعمال شد. نتایج نشان داد که با افزایش سطوح تنش خشکی و شوری، درصد جوانه‌زنی کاهش پیدا کرد به طوری‌که در سطح خشکی و شوری ۱۲- بار، درصد جوانه‌زنی به ترتیب به صفر و ۵۰ درصد کاهش یافت. تنش‌های خشکی و شوری به ترتیب از سطوح ۲- و ۸- بار به بالا سرعت جوانه‌زنی را به طور معنی‌داری در مقایسه با بذور شاهد کاهش دادند. همچنین تنش‌های خشکی و شوری باعث کاهش معنی‌دار طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و وزن خشک ریشه‌چه، ساقه‌چه و کل شدند. مقادیر طول ساقه‌چه با افزایش سطح تنش شوری به ۱۰- و ۱۲- بار، به ترتیب ۴۲ و ۶۷ درصد در مقایسه با بذور شاهد کاهش یافتند. محتوای پرولین تحت تأثیر تنش‌های خشکی و شوری افزایش یافت ولی مقادیر پرولین در تنش خشکی در مقایسه با تنش شوری بیشتر بود. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تحمل به شوری گیاه مینا چمنی در مرحله جوانه‌زنی در مقایسه با تنش خشکی بیشتر است.

واژه‌های کلیدی: پلی‌اتیلن‌گلیکول، درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، کلرید سدیم

۱- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران
*نویسنده مسئول: hassanbayat@birjand.ac.ir

مقدمه

گیاه مینا چمنی با نام علمی *Bellis perennis* L. متعلق به تیره Asteraceae بوده و مبدأ آن اروپا است. این گیاه علفی، چندساله، مقاوم به سرما و با ارتفاع حدود ۲۰ سانتی‌متر است. گل‌های آن به رنگ‌های سفید، قرمز، صورتی و ارغوانی، و قطر گل‌ها بین ۲/۵ تا ۷/۵ سانتی‌متر است. مینا چمنی خاصیت دارویی نیز دارد و از این گیاه به عنوان تصفیه کننده خون، ملین ملایم، ضد التهاب، آرام-بخش، مقوی، معرق، خلط‌آور و در درمان رماتیسم کاربرد دارد. ازدیاد این گیاه از طریق بذر و تقسیم بوته انجام می‌شود. بذر آن در خرداد ماه در خزانه کشت شده و در ماه مهر یا آبان در زمین اصلی نشاکاری می‌شود و گلدهی آن تا بهار سال آینده ادامه خواهد داشت (Dole and Wilkins, 2005).

رشد گیاهان در بسیاری از مناطق دنیا تحت تأثیر تنش‌های زیستی و غیرزیستی است. جوانه‌زنی یکی از مراحل حساس در چرخه رشدی گیاهان محسوب می‌شود، زیرا جوانه‌زنی نقش عمده‌ای در تعیین تراکم نهایی گیاه دارد (Ulfat *et al.,* 2007). جوانه‌زنی و سبز شدن بذر به شدت تحت تأثیر تنش‌های محیطی از جمله شوری و خشکی قرار می‌گیرد، به طوری‌که استقرار ضعیف گیاه یکی از مشکلات اصلی در مناطق خشک و شور می‌باشد (Dolatabadian *et al.,* 2008). خشکی بر جنبه‌های مختلف رشد گیاه تأثیر گذاشته و موجب کاهش و به تأخیر انداختن جوانه‌زنی، کاهش رشد اندام‌های هوایی و کاهش تولید ماده خشک می‌گردد. کاهش پتانسیل اسمزی و پتانسیل کل آب، همواره با از بین رفتن آماس، بسته شدن روزنه‌ها، کاهش رشد و تنش آبی همراه است. در صورتی‌که تنش آبی، شدید باشد، موجب کاهش شدید فتوسنتز و مختل شدن فرایندهای فیزیولوژیکی، توقف رشد و سرانجام مرگ گیاه می‌گردد (Farooq *et al.,* 2009). آب یکی از عوامل اصلی فعال‌کننده جوانه‌زنی است و قابلیت دسترسی به آب با کاهش پتانسیل اسمزی خاک کاهش می‌یابد. پتانسیل اسمزی، تأثیر مستقیمی بر سرعت جذب آب و در نتیجه سرعت جوانه‌زنی گیاه دارد (Bagheri *et al.,* 2011).

علاوه بر تنش خشکی، تنش شوری نیز به عنوان یکی از تنش‌های غیرزیستی مهم محسوب می‌شود که نقش مهمی در کاهش کیفیت و تولید محصولات زراعی و باغی دارد (Omidi, 2010). کاهش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه در شرایط شوری به دلیل پتانسیل اسمزی پایین و ممانعت از جذب آب، سمیت یون‌های سدیم یا کلر و یا عدم تعادل عناصر غذایی می‌باشد (Greenway and Munns, 1980; Nafees *et al.,* 2010). پاسخ گیاهان به تنش شوری شباهت زیادی به پاسخ آن‌ها به تنش خشکی دارد. کاهش رشد گیاه در تنش‌های کوتاه‌مدت، بیشتر به علت تنش اسمزی بوده، ولی در بلند مدت به علت ورود نمک زیاد به داخل گیاه، تنش‌های دیگری نظیر سمیت و عدم تعادل یونی به تنش اسمزی اضافه می‌گردد (Munns, 2002). در اکثر تحقیقاتی که بر روی جوانه‌زنی گیاهان انجام شده است با افزایش شوری و خشکی، درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و وزن گیاهچه کاهش می‌یابد (Tamartash *et al.,* 2010; Tavili *et al.,* 2015). در مطالعه‌ای بر روی چهار لاین برنج در واکنش به سطوح مختلف شوری گزارش شد که درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه تحت تأثیر کلرید سدیم ۱۵۰ میلی‌مولار در مقایسه با تیمار شاهد کاهش یافت (Jamil and Rha, 2007). تمرتاش و همکاران (Tamartash *et al.,* 2010) در بررسی خود در ارتباط با تأثیر تنش شوری بر ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر شبدر برسیم به این نتیجه رسیدند که با افزایش تنش شوری، درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه کاهش یافت. زیره‌زاد و همکاران (Zirehzad *et al.,* 2009) با بررسی تنش شوری و خشکی بر جوانه‌زنی آویشن اظهار داشتند که تنش شوری و خشکی به طور معنی‌داری سبب کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، ضریب آلومتری و وزن ریشه‌چه و ساقه‌چه گردید. شرفی (Sharafi, 2007) در آزمایشی با بررسی تأثیر سطوح مختلف شوری و خشکی (صفر، ۰/۳-، ۰/۶-، ۰/۹- و ۱/۲- مگاپاسکال) بر جوانه‌زنی ماریتیغال نشان داد که کلیه صفات مورد بررسی از جمله رشد گیاهچه و یکنواختی جوانه‌زنی تحت تأثیر تنش‌های شوری و خشکی قرار گرفتند. علاوه بر پاسخ‌های رشدی به تنش‌های خشکی و شوری، تنظیم اسمزی نیز در پاسخ به تنش در داخل سلول‌ها و بافت‌های گیاه اتفاق می‌افتد. تنظیم اسمزی یکی از مکانیسم‌های تحمل است که در آن گیاهان متابولیت‌های با وزن مولکولی کم مانند قندها، اسیدهای

ارگانیک و آمینو اسیدها را تجمع می‌دهند تا پتانسیل اسمزی سلول برای حفظ آب و نگهداری فشار تورژسانس کاهش یابد (Manaa *et al.,* 2014). پرولین جزء اسمولیت‌های اولیه مهم مشارکت کننده در تنظیم اسمزی گیاهان است و سلول‌ها را از طریق تثبیت پروتئین‌ها و غشاهای سلولی محافظت می‌کند (Wang and Han, 2009). بر اساس بررسی‌های انجام شده تاکنون تحقیق جامعی که تأثیر سطوح مختلف تنش‌های شوری و خشکی بر خصوصیات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های مینا چمنی را مورد بررسی قرار دهد، وجود ندارد. بنابراین تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی و شوری بر جوانه‌زنی بذر، رشد و محتوای پرولین گیاهچه مینا چمنی انجام شده است.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از بذور اصلاح شده گل مینا چمنی رقم (*Bellis perennis L.* "Bellissima Mixture") استفاده شد. این بذور از شرکت باغ فرید تهران (وارد کننده بذر گیاهان زینتی از شرکت Pan American Seed آمریکا) در سال ۱۳۹۵ تهیه شد. به منظور بررسی اثر تنش‌های خشکی و شوری بر جوانه‌زنی بذر گیاه مینا چمنی دو آزمایش مجزا در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند در سال ۱۳۹۵ انجام شد. تیمارهای تنش خشکی شامل هفت سطح پتانسیل اسمزی صفر، ۲-، ۴-، ۶-، ۸-، ۱۰- و ۱۲- بار بود که با استفاده از محلول پلی‌اتیلن‌گلیکول (PEG) ۶۰۰۰ و به ترتیب با غلظت‌های صفر، ۱۱۹/۵۷، ۱۷۸/۳۴، ۲۲۳/۶۶، ۲۶۱/۹۴، ۲۹۵/۷۱ و ۳۲۶/۲۶ گرم در لیتر آب در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد محیط اعمال شد. تیمارهای تنش شوری نیز مشابه سطوح خشکی بود که شامل هفت سطح فشار اسمزی صفر، ۲-، ۴-، ۶-، ۸-، ۱۰- و ۱۲- بار بود که با استفاده از کلرید سدیم (NaCl) و به ترتیب با غلظت‌های صفر، ۲/۶۲، ۵/۲۵، ۷/۸۷، ۱۰/۵۰، ۱۳/۵۰ و ۱۵/۷۰ گرم در لیتر آب اعمال گردید. قبل از کاشت، بذور با محلول هیپوکلریت سدیم دو درصد به مدت یک دقیقه ضدعفونی و سپس با آب مقطر شسته شدند. محیط کشت، پتری‌هایی با قطر نه و ضخامت ۱/۵ سانتی‌متر بود و در هر کدام ۲۵ عدد بذر بر روی کاغذ صافی قرار داده شد و سپس به ژرمیناتورهای تنظیم شده با دمای ثابت ۲۴ درجه سانتی‌گراد با طول روز ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی منتقل شدند (Muller *et al.,* 2010). بذرهایی که حداقل دارای دو میلی‌متر طول ریشه‌چه بودند به عنوان بذر جوانه‌زده در نظر گرفته شدند. طول ریشه‌چه و ساقه‌چه (انتخاب شش گیاهچه به طور تصادفی از داخل هر پتری) در پایان آزمایش با استفاده از خط‌کش با دقت ۰/۰۰۱ اندازه‌گیری و نسبت آن‌ها محاسبه شد. سپس ریشه‌چه‌ها وساقه‌چه‌ها در داخل آون با دمای ۷۰ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند و وزن خشک آن‌ها محاسبه شد (Pace *et al.,* 1999). شمارش بذور جوانه‌زده به صورت روزانه و به مدت ۲۰ روز انجام شد. در پایان آزمایش درصد جوانه‌زنی بذور محاسبه شد. سرعت جوانه‌زنی نیز از طریق رابطه زیر محاسبه شد (Bajji *et al.,* 2002):

$$GR = \sum Ni / Di$$

که در این معادله GR سرعت جوانه‌زنی، Ni تعداد بذر جوانه‌زده در هر روز و Di روز شمارش بذر می‌باشد.

میانگین زمان جوانه‌زنی بر اساس رابطه زیر محاسبه شد (Ruan, 2002):

$$MGT = \Sigma (D \times N) / \Sigma N$$

که در این رابطه MGT میانگین زمان جوانه‌زنی، N تعداد بذرهایی که در روز D ام جوانه زدند و D تعداد روزهایی که از آغاز زمان جوانه‌زنی گذشته است. شاخص بنیه بذر نیز از حاصل ضرب درصد جوانه‌زنی نهایی در طول گیاهچه محاسبه شد (Elias and Copeland, 2001).

به منظور اندازه‌گیری پرولین، ۰/۱گرم ساقه‌چه را در هاون چینی همراه با ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳/۳ درصد ابتدا به خوبی سائیده و در مرحله بعد دو میلی‌لیتر از معرف نین‌هیدرین و دو میلی‌لیتر اسید استیک گلایسیال (خالص) به هر یک از لوله‌های محتوی عصاره و یا استاندارد افزوده شد. قبلاً معرف نین‌هیدرین با مخلوط نمودن ۱/۲۵ گرم نین‌هیدرین به اضافه ۲۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک شش مولار و همچنین ۳۰ میلی‌لیتر اسیداستیک خالص و سپس حل نمودن آن‌ها در حمام آب گرم آماده شد. لوله‌ها به مدت یک ساعت در حمام آب جوش (بن ماری) در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و سپس به منظور خنک شدن به داخل مخلوط آب و یخ منتقل شدند. در این مرحله و در زیر هود، شش میلی‌لیتر تولوئن به هر یک از لوله‌های

آزمایش افزوده و به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه شدیداً تکان داده شدند. استاندارهای پرولین در مقادیر ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ میگروگرم در میلی‌لیتر تهیه گردید و نمونه‌های حاصل و استانداردها در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (Bates *et al*., 1973). با استفاده از رسم منحنی استاندارد، مقدار پرولین بر حسب میکروگرم بر گرم وزن تر محاسبه شد.

داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار آماری JMP 8 مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها نیز بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

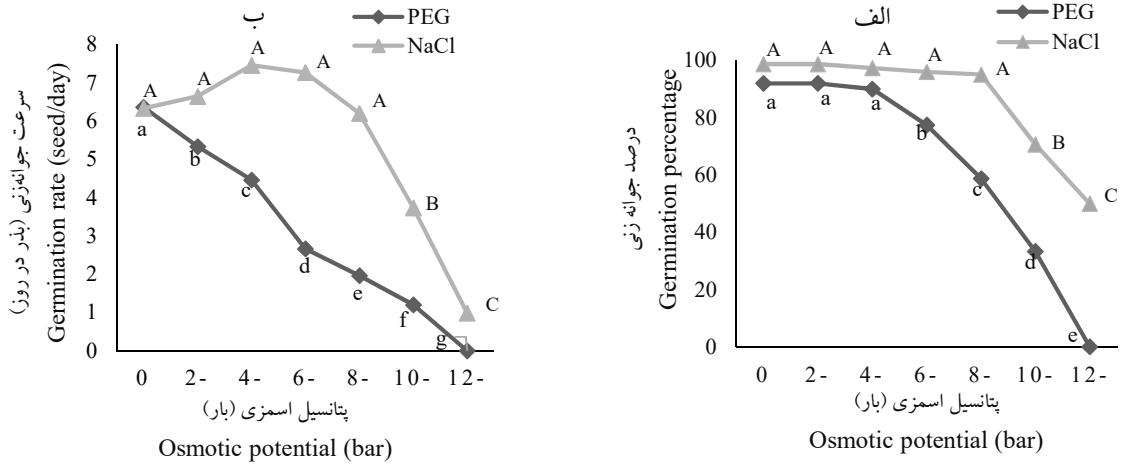
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش خشکی و شوری بر همه صفات مورد بررسی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جداول ۱ و ۲).

درصد و سرعت جوانه‌زنی و میانگین زمان جوانه‌زنی

بر اساس نتایج حاصله از مقایسه میانگین، تأثیر تنش‌های خشکی و شوری بر درصد جوانه‌زنی به ترتیب تا سطوح ۴- و ۸- بار با بذور شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت، اما با افزایش سطوح تنش خشکی و شوری، درصد جوانه‌زنی روند کاهشی پیدا کرد به‌طوری‌که در سطح خشکی و شوری ۱۲- بار، درصد جوانه‌زنی به ترتیب به صفر و ۵۰ درصد کاهش یافت (شکل ۱ الف). افزایش تنش شوری تا سطح ۶- بار باعث افزایش اندک ولی غیرمعنی‌دار سرعت جوانه‌زنی در مقایسه با بذور شاهد شد ولی با افزایش سطح شوری، سرعت جوانه‌زنی روند نزولی پیدا کرد، به‌طوری‌که در سطح ۱۲- بار، سرعت جوانه‌زنی در مقایسه با بذور شاهد ۸۴ درصد کاهش یافت (شکل ۱ ب). اما همه سطوح تنش خشکی (۲- تا ۱۲- بار) میزان سرعت جوانه‌زنی را در مقایسه با بذور شاهد کاهش دادند، به‌طوری‌که سرعت جوانه‌زنی در سطح ۱۲- بار به صفر بذر در روز کاهش یافت (شکل ۱ ب). سطوح مختلف تنش خشکی سبب افزایش معنی‌دار میانگین زمان جوانه‌زنی در مقایسه با بذور شاهد شدند (جدول ۳) ولی بین مقادیر میانگین زمان جوانه‌زنی بذور شاهد تا سطح تنش شوری ۸- بار تفاوت معنی داری مشاهده نشد اما با افزایش سطح تنش به ۱۲- بار، میانگین زمان جوانه‌زنی به طور معنی‌داری افزایش یافت (۱/۳ برابر افزایش در مقایسه با بذور شاهد)(جدول ۴). حسینی و رضوانی مقدم (Hosseini and Rezvani Moghadam, 2006) اظهار کردند که با افزایش سطح تنش خشکی، درصد و سرعت جوانه‌زنی بذرهای اسفرزه به طور خطی کاهش یافت به‌طوری‌که کمترین مقدار آن که برابر صفر بود از پتانسیل ۱۲- بار به دست آمد. امیری و همکاران (Amiri *et al*., 2011) گزارش کردند که تنش خشکی باعث کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی و افزایش میانگین زمان جوانه‌زنی بذرهای گیاهان دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis*) و مارگریت (*Chrysanthemum superbum*) شد. آل-ابراهیم و همکاران (Alebrahim *et al.,* 2004) در بررسی اثر تنش شوری بر گیاه آویشن نیز نتایج مشابهی را بیان نمودند. پتانسیل کم‌آب، به‌ویژه در ابتدای فرآیند جوانه‌زنی، باعث اختلال در جذب آب توسط بذر شده و جوانه‌زنی گیاه را به تأخیر می‌اندازد (Serrano *et al.,* 1999; Bagheri *et al.,* 2011). اگر جذب آب توسط بذر دچار اختلال گردد و یا جذب آب به کندی صورت گیرد، فعالیت‌های متابولیکی جوانه‌زنی در داخل بذر به آرامی صورت خواهد گرفت، در نتیجه مدت زمان خروج ریشه‌چه از بذر افزایش و از این رو سرعت جوانه‌زنی نیز کاهش می‌یابد (Marchner, 1995). اثر بازدارنده تنش شوری بر جوانه‌زنی بذر از طریق افزایش فشار اسمزی و بالطبع کاهش جذب آب توسط بذر و همچنین از طریق اثرات سمی یون‌های سدیم و کلر می‌باشد (Ungar, 1995; Tobe *et al.,* 2004; Zeinali *et al.,* 2002; Manaa *et al.,* 2014). علت کم شدن درصد جوانه‌زنی در تنش شوری، فشار اسمزی محلول است که باعث به هم خوردن تعادل یونی می‌شود و در نتیجه روی کنش‌ها و واکنش‌های زیستی بذر تأثیر می‌گذارد؛ در نتیجه، فعالیت آنزیم‌های موجود در بذر و یا آنزیم‌هایی که جهت رشد ساخته می‌شوند، متوقف شده، لذا انرژی لازم برای جوانه-زنی و سایر فعالیت‌های رشد فراهم نمی‌شود (Bajji *et al.,* 2002).

براساس نتایج حسینی و رضوانی مقدم (Hosseini and Rezvani Moghadam, 2006) سرعت جوانه‌زنی بذور اسفرزه تحت تأثیر تنش شوری قرار گرفت و با افزایش سطوح تنش مقدار آن کاهش یافت. منصوری

شوازی و همکاران (Mansoori Shavazi *et al.,* 2010) در بررسی اثر تنش شوری و خشکی بر گونه آسمانی گچ-دوست بیان کردند که سرعت جوانه‌زنی با افزایش میزان تنش خشکی تا سطح ۷- بار تغییر قابل توجهی نداشت و در سطوح بالاتر تنش (۱۱- و ۱۸- بار) از سرعت جوانه‌زنی کاسته شد و همچنین با افزایش سطح شوری، سرعت جوانه‌زنی روند کاهشی داشت، به طوری که کمترین آن در سطح ۳۶- بار (عدم جوانه‌زنی) بود. بهبود سرعت جوانه‌زنی بذر می‌تواند باعث استقرار بهتر گیاهچه به‌ویژه در شرایط تنش شوری و خشکی شود (He *et al.,* 2003).



شکل ۱- تأثیر سطوح مختلف تنش‌های خشکی و شوری بر درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر مینا چمنی (*Bellis perennis* L.)

Figure 1. Effects of different levels of salinity and drought stresses on germination percentage and germination rate of seeds of common daisy (*Bellis perennis* L.)

طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه

با افزایش سطح تنش خشکی، طول ریشه‌چه و ساقه-چه و نسبت آن‌ها به طور نزولی کاهش یافت، به‌طوری‌که در سطح ۱۲- بار، مقادیر طول ریشه‌چه و ساقه‌چه به ترتیب از ۳/۳۳ و ۱۰/۰۶ به صفر سانتی‌متر کاهش یافتند (جدول ۳). تأثیر همه سطوح تنش شوری نیز بر طول ریشه‌چه کاهشی و معنی‌دار بود، به طوری‌که در سطح ۱۲- بار، طول ریشه‌چه ۸۹ درصد در مقایسه با تیمار شاهد کاهش یافت اما طول ساقه‌چه تا سطح ۸- بار تحت تأثیر معنی‌دار تنش شوری قرار نگرفت ولی با افزایش سطح تنش شوری به ۱۰- و ۱۲- بار، مقادیر طول ساقه‌چه ۴۲ و ۶۷ درصد در مقایسه با بذور شاهد کاهش یافتند (جدول ۴). با افزایش سطح تنش شوری، نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه کاهش پیدا کرد، به طوری‌که در سطح ۱۲- بار، مقدار آن ۶۷ درصد در مقایسه با تیمار شاهد کاهش یافت (جدول ۴). کاهش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در گیاهان آویشن (Alebrahim *et al.,* 2004)، خارمریم (Yazdani Biuki *et al.,* 2010) و گلرنگ (Ashrafi and Razmjoo, 2015) با افزایش سطوح تنش شوری و خشکی گزارش شده است. یکی از علل کاهش طول ساقه‌چه در شرایط تنش خشکی کاهش یا عدم انتقال مواد غذایی از بافت‌های ذخیره‌ای بذر به جنین ذکر شده است (Trautwein *et al.,* 1997). علاوه بر این کاهش جذب آب توسط بذر در شرایط تنش خشکی باعث کاهش ترشح هورمون‌ها و آنزیم‌ها و در نتیجه اختلال در رشد گیاهچه (ریشه‌چه و ساقه‌چه) می‌گردد (Bagheri *et al.,* 2011). کاهش رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه در اثر تنش شوری می‌تواند به تجمع ماده خشک در بافت‌های ذخیره-ای و مرتبط باشد (Keshavarz Afshar *et al.,* 2013). تنش شوری با کاهش جذب آب و ایجاد اختلال در ترشح آنزیم‌هایی از جمله آمیلاز و لیپاز مانع تجزیه مواد اندوخته بذر شده و در نتیجه انرژی لازم جهت خروج ریشه‌چه و ساقه‌چه و رشد آن‌ها فراهم نمی‌شود (Niu *et al.,* 1995)، بنابراین با افزایش سطح شوری، میزان رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه کاهش یافته است.

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر تنش خشکی بر صفات مورد بررسی مینا چمنی (*Bellis perennis* L.)

Table 1. Analysis of variance of the effect of drought stress on studied traits of common daisy (*Bellis perennis* L.).

منابع تغییر Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares										
		درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	میانگین زمان جوانه‌زنی Mean germination time	شاخص بنیه بذر Seed vigor index	طول ریشه‌چه Radicle length	طول ساقه‌چه Shoot length	نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه R/S ratio	وزن خشک ریشه‌چه Radicle dry weight	وزن خشک ساقه‌چه Shoot dry weight	وزن خشک کل Total dry weight	پرولین Proline
تنش خشکی Drought stress	6	3759.75**	16.10**	40.80**	97.14**	12.98**	36.27**	0.14**	0.00002**	0.00008**	0.0001**	28.29**
خطا Error	14	55.62	0.14	0.24	0.72	0.20	0.18	0.005	5.71e-7	3.81e-7	5.23e-7	0.03
CV (%)	-	11.42	11.58	7.32	10.81	7.92	4.80	10.29	9.72	4.41	4.02	5.79

** معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد

**Significant at 1% probability level

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر تنش شوری بر صفات مورد بررسی مینا چمنی (*Bellis perennis* L.)

Table 2. Analysis of variance of the effect of salinity stress on studied traits of common daisy (*Bellis perennis* L.)

منابع تغییر Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares										
		درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	میانگین زمان جوانه‌زنی Mean germination time	شاخص بنیه بذر Seed vigor index	طول ریشه‌چه Radicle length	طول ساقه‌چه Shoot length	نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه R/S ratio	وزن خشک ریشه‌چه Radicle dry weight	وزن خشک ساقه‌چه Shoot dry weight	وزن خشک کل Total dry weight	پرولین Proline
تنش شوری Salinity stress	6	1088.19**	16.46**	13.77**	68.90**	8.57**	17.36**	0.05**	0.00001**	0.00004**	0.00009**	20.05**
خطا Error	14	28.90	0.59	0.31	1.15	0.28	0.90	0.007	5.71e-7	2.14e-6	2.57e-6	0.02
CV (%)	-	6.33	10.65	11.88	11.48	13.90	9.62	14.26	9.96	10.57	8.40	4.86

** معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد

**Significant at 1% probability level

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر تنش خشکی بر برخی صفات مورد بررسی مینای چمنی (*Bellis perennis* L.)

Table 3. Mean comparison of the effects of drought stress on some measured traits of common daisy (*Bellis perennis* L.)

خشکی Drought (bar)	میانگین زمان جوانه‌زنی (روز) Mean germination time (Day)	طول ریشه‌چه (سانتی‌متر) Radicle length (cm)	طول ساقه‌چه (سانتی‌متر) Shoot length (cm)	نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه R/S ratio	وزن خشک ریشه‌چه (گرم) Radicle dry weight (gr)	وزن خشک ساقه‌چه (گرم) Shoot dry weight (gr)	وزن خشک کل(گرم) Total dry weight (gr)	شاخص بنیه بذر Seed vigor index
0	3.90 f	6.33 a	10.06 a	0.67 a	8.1 a	15.0 a	23.6 a	15.06 a
-2	4.76 e	5.26 b	9.90 a	0.53 b	7.0 b	14.6 a	22.2 b	13.73 ab
-4	6.10 d	4.83 bc	9.13 b	0.52 b	6.2 c	13.2 b	20.2 c	12.86b
-6	8.46 c	4.40 cd	8.40 bc	0.52 b	6.5 bc	12.5 bc	18.3 d	9.90 c
-8	9.33 b	3.80 d	7.90 c	0.48 c	5.6 c	11.7 c	16.5 e	6.76 d
-10	10.76 a	2.54 e	6.93 d	0.36 c	3.2 d	10 0 d	13.3 f	3.20 e
-12	-	0.00 f	0.00 e	-	0.0 e	0.0 e	0.0 g	0.00 f

اعدادی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند

Means followed by similar letters in each column don't significant difference according to LSD test at 5% level probability

جدول۴- مقایسه میانگین اثر تنش شوری (NaCl) بر برخی صفات مورد بررسی مینا چمنی (*Bellis perennis* L.)

Table 4. Mean comparison of the effects of salinity stress on some measured traits of common daisy (*Bellis perennis* L.)

شوری Salinity (bar)	میانگین زمان جوانه‌زنی (روز) Mean germination time (Day)	طول ریشه چه (سانتی‌متر) Radicle length (cm)	طول ساقه چه (سانتی‌متر) Shoot length (cm)	نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه R/S ratio	وزن خشک ریشه‌چه (گرم) Radicle dry weight (gr)	وزن خشک ساقه‌چه (گرم) Shoot dry weight (gr)	وزن خشک کل(گرم) Total dry weight (gr)	شاخص بنیه بذر Seed vigor index
0	3.91 cd	6.00 a	9.73 a	0.62 a	8.3 a	14.6 a	22.6 a	15.53 a
-2	4.13 cd	3.80 b	9.13 a	0.42 b	5.0 b	13.3 a	18.3 b	12.36 b
-4	3.56 d	3.70 b	9.06 a	0.40 b	5.1 b	13.9 a	18.9 b	12.43 b
-6	3.93 cd	3.73 b	8.86 a	0.42 b	5.3 b	13.3 a	18.6 b	12.40 b
-8	4.56 c	3.33 b	8.60 a	0.38 b	4.3 b	13.0 a	17.3 b	11.50 b
-10	7.40 b	1.77 c	5.63 b	0.31 bc	2.4 c	8.6 b	11.0 c	5.23 c
-12	9.10 a	0.66 d	3.20 c	0.20 c	1.0 d	4.3 c	5.4 d	1.93 d

اعدادی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی داری ندارند

Means followed by similar letters in each column don't significant difference according to LSD test at 5% level probability

وزن خشک ریشه‌چه، ساقه‌چه و کل

وزن خشک ریشه‌چه، ساقه‌چه و کل تحت تأثیر تنش خشکی به طور نزولی کاهش یافتند و در سطح ۱۲- بار مقادیر این صفات به صفر کاهش یافت (جدول ۳). همچنین با افزایش سطح تنش شوری از صفر تا ۱۲- بار، مقادیر وزن خشک ریشه‌چه، ساقه‌چه و کل روند نزولی داشتند، به طوری‌که در سطح ۱۲- بار به ترتیب ۸۷، ۷۰ و ۷۶ درصد در مقایسه با بذور شاهد کاهش یافتند (جدول ۴). با این وجود، مقادیر وزن خشک ساقه‌چه از سطح تنش شوری صفر تا ۸- بار تفاوت معنی‌داری نداشتند. یزدانی بیوکی و همکاران (Yazdani Biuki *et al.,* 2010) با بررسی اثر تنش خشکی بر گیاه مارتیغال گزارش کردند که با افزایش سطح تنش خشکی، وزن خشک ریشه‌چه، ساقه‌چه و کل به‌تدریج کاهش یافت. ام‌البنین و همکاران (Ommolbanin *et al.,* 2012) نیز در بررسی اثر تنش شوری و خشکی بر دو گیاه مرتعی *Agropyron elongatum* و *Agropyron desertorum* به نتایج مشابهی دست یافتند. در شرایط تنش خشکی و شوری، طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه کاهش می‌یابد که در نهایت منجر به کاهش وزن خشک ریشه‌چه ساقه‌چه وکل می‌شود.

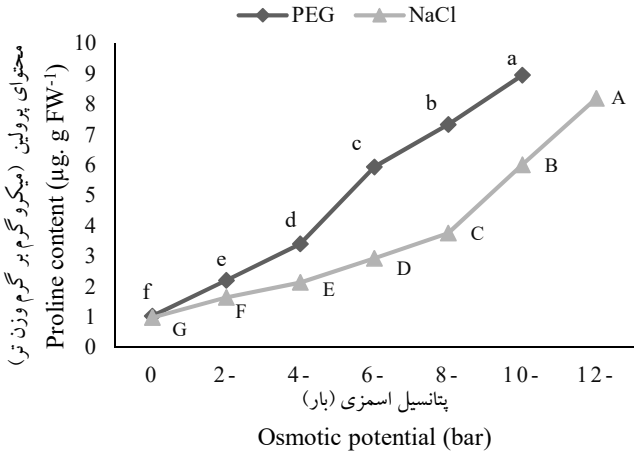
شاخص بنیه بذر

با افزایش سطوح تنش خشکی و شوری، شاخص بنیه بذر روند نزولی داشت، به طوری‌که در سطح ۱۲- بار، مقادیر شاخص بنیه بذر به‌ترتیب از ۱۵/۰۶ و ۱۵/۵۳ به صفر و ۱/۹۳ کاهش یافت (جداول ۳ و ۴). براساس نتایج

کشاورز افشار و همکاران (Keshavarz Afshar *et al.*, 2013) تنش شوری و خشکی سبب کاهش معنی‌دار شاخص بنیه بذر شلغم گردید. این شاخص تابعی از دو پارامتر درصد جوانه‌زنی و طول گیاهچه می‌باشد و با توجه به کاهش ابن دو پارامتر در اثر تنش، بنابراین بنیه بذر نیز کاهش می‌یابد.

محتوای پرولین

محتوای پرولین، با افزایش سطوح تنش خشکی و شوری به طور صعودی افزایش پیدا کرد، ولی مقادیر پرولین تحت شرایط تنش خشکی در مقایسه با تنش شوری بیشتر بود. تنش‌های خشکی و شوری در سطح ۱۰- بار، محتوای پرولین را به‌ترتیب ۷/۷۷ و ۵/۱۸ برابر در مقایسه با بذور شاهد افزایش دادند (شکل ۲). افزایش میزان پرولین تحت شرایط تنش‌های خشکی و شوری در مرحله جوانه‌زنی و رشد گیاهچه شاهی (Manaa *et al.*, 2014) گزارش شده است. یکی از شاخص‌های مؤثر در تحمل به شوری و خشکی گیاهان، تنظیم اسمزی سلول و حفظ آماس سلولی است که با ساخت مواد آلی نظیر بتائین، گلایسین، پرولین، سوربیتول و مانیتول انجام می‌شود (Penuelas *et al.*, 1995). پرولین از جمله ترکیباتی است که غلظت آن در سلول در پاسخ به تنش‌های خشکی و شوری افزایش می‌یابد و باعث انتقال آب به سلول‌های گیاه و افزایش فشار تورژسانس می‌شود. این ترکیب همچنین سلول‌ها را از طریق تثبیت پروتئین‌ها و غشاهای سلولی محافظت می‌کند (Wang and Han, 2009). تجمع پرولین در بافت‌های گیاه به دلیل بیوسنتز پرولین، ممانعت از اکسایش و جلوگیری از مشارکت آن در ساخت پروتئین‌ها می‌باشد (Manaa *et al.*, 2014).



شکل ۲- تأثیر سطوح مختلف تنش‌های خشکی و شوری بر محتوای پرولین مینا چمنی (*Bellis perennis* L.)

Figure 2. Effects of different levels of salinity and drought stresses on proline content of common daisy (*Bellis perennis* L.)

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تنش‌های خشکی و شوری باعث کاهش معنی‌دار صفات جوانه‌زنی بذر (درصد و سرعت جوانه‌زنی)، خصوصیات رشدی (طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه، ساقه‌چه و کل و شاخص بنیه بذر) و افزایش میانگین زمان جوانه‌زنی و محتوای پرولین مینا چمنی گردید. درصد جوانه‌زنی به ترتیب تا سطح ۴- و ۸- بار تنش‌های شوری و خشکی با بذور شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت اما با افزایش سطوح تنش خشکی و شوری، درصد جوانه‌زنی به طور نزولی کاهش پیدا کرد، به طوری‌که در سطح خشکی و شوری ۱۲- بار، درصد جوانه‌زنی به ترتیب به صفر و ۵۰ درصد کاهش یافت. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تحمل به شوری گیاه مینا چمنی در مرحله جوانه‌زنی در مقایسه با تنش خشکی بیشتر است.

منابع

Alebrahim, M. T., Sabaghnia, N., Ebadi, A. and Moheboldini, M. 2005. Study of drought and salinity stress on germination of common thyme (*Thymus vulgaris*). Journal of Research in Agricultural Science, 1: 13-19. **(Journal)**

Amiri, M. B., Rezvani Moghadam, P., Ehiaei, H. R., Falahi, J. and Aghvani Shajari, M. 2011. Response of germination and seedling growth of hyssop (*Hyssopus officinalis*) and marguerite (*Chrysanthemum superbum*) medicinal plants to water stress. Journal of Plant Ecophysiology, 3: 66-77. (In Persian)**(Journal)**

Ashrafi, E. and Razmjoo, J. 2015. Effect of seed treatment on safflower (*Carthamus tinctorius* L.) germination under salt and drought stress conditions. Agronomy Journal (Pajouhesh & Sazandegi), 104: 15-20. (In Persian)**(Journal)**

Bagheri, M., Yeganeh, H., Esfahan, E. Z. and Savadroodbari, M. B. 2011. Effects of water stress on seed germination of *Thymus koteschanus* Boiss and *Thymus daenensis* Celak. Middle-East Journal of Scientific Research, 8: 726-731. **(Journal)**

Bajji, M., Kine, J. M. and lutts, S. 2002. Osmotic and ionic effects of NaCl on germination early seeding growth, and ion content of *Atripelex halimus*. Canadian Journal of Botany, 80: 297-304. **(Journal)**

Bates, L. S., Waldern, R. P. and Teare, I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water–stress studies. Plant and Soil, 39(1): 205–207. **(Journal)**

Dolatabadian, A., Sanavy, S. A. M. M. and Chashmi, N. A. 2008. The effects of foliar application of ascorbic acid (vitamin C) on antioxidant enzymes activities, lipid peroxidation and proline accumulation of canola (*Brassica napus* L.) under conditions of salt stress. Journal of Agronomy and Crop Science, 194: 206-213. **(Journal)**

Dole, J. M. and Wilkins, H. F. 2005. Floriculture principles and species. Prentice-Hall Inc. New Jersey. 613p. **(Book)**

Elias, S. G. and Copeland, L. O. 2001. Physiological and harvest maturity of canola in relation to seed quality. Agronomy Journal, 93: 1054-1058. **(Journal)**

Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. and Basra, S. M. A. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. Agronomy for Sustainable Development, 29: 185–212. **(Journal)**

Greenway, H. and Munns, R. 1980. Mechanism of salt tolerance in nonhalophytes. Annual Review of Plant Physiology, 31: 141-190. **(Journal)**

He, Y. L., Liu, Y. L., Chen, Q. and Bian, A. H. 2003. Thermo tolerance related to antioxidation induced by salicylic acid and heat hardening in tall fescue seedlings. Physiology and Molecular Biology of Plants, 28(2): 89-95. **(Journal)**

Hosseini, H. and Rezvani Moghadam, P. 2006. Effect of water and salinity stress in seed germination on Isabgol (*Plantago ovata*). Iranian Journal of Field Crops Research, 4: 15-22. (In Persian) **(Journal)**

Jamil, M. and Rha, E. 2007. Response of transgenic rice at germination and early seedling growth under salt stress. Pakistan Journal of Biological Sciences, 10(23): 4303-4306. (In Persian) **(Journal)**

Keshavarz Afshar, R., Keykhah, M., Chaeichi, M. R. and Ansari, M. 2013. Effect of different levels of salinity and drought stress on seed germination characteristics and seedling growth of forage turnip (*Brassica rapa* L.). Iranian Journal of Field Crop Science, 43: 661-671. (In Persian) **(Journal)**

Manaa, A., Mimouni, H., Terras, A., Chebil, F., Wasti, S., Gharbi, E. and Ahmed, H. 2014. Superoxide dismutase isozyme activity and antioxidant responses of hydroponically cultured *Lepidium sativum* L. to NaCl stress. Journal of Plant Interactions, 9: 440-449. **(Journal)**

Mansoori Shavazi, M., Hakim Zade, M. A., Zare Ernani, M., Zare Chahouki, M. A. and Mosleh Arany, A. 2010. Study of effect of drought and salt stress on seed germination of *Anabasis calcarea*. Arid Biome, 1: 75-82. (In Persian)**(Journal)**

Marchner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd reprint, Academic Press, pp: 6-73. **(Book)**

Michel, B. E. and Kaufman, M. R. 1973. The osmotic potential of polyetylene glycol 6000. Plant Physiology, 51: 914-916. **(Journal)**

Muller, K., Job, C., Belghazi, M., Job, D. and Leubner-Metzger, G. 2010. Proteomics reveal tissue-specific features of the cress (*Lepidium sativum* L.) endosperm cap proteome and its hormone-induced changes during seed germination. Proteomics, 10: 406-416. **(Journal)**

Munns, R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. Plant, Cell and Environment, 25: 239-250. **(Journal)**

Nafees, A., Shabina, S., Asim, M., Rahat, N. and Noushina, I. 2010. Application of salicylic acid increases contents of nutrients and antioxidative metabolism in mungbean and alleviates adverse effects of salinity stress. International Journal of Plant Biology, 1: 235-241. **(Journal)**

Niu, X., Bressan, R. A., Hasegawa, P. M. and Pardo, J. M. 1995. Ion homeostasis in NaCl stress environment. Plant Physiology, 109: 735-742. **(Journal)**

Omidi, H. 2010. Changes of proline content and activity of antioxidative enzymes in two canola genotype under drought stress. American Journal of Plant Physiology, 5: 338-349. (In Persian) **(Journal)**

Ommolbanin, E., Mohammad Esmaili, M., Sabouri, H. and Tahmasbi, A. 2012. Effects of salinity and drought stress on germination two spices of (*Agropyron elongatum*, *Agropyron desertrum*). Desert Ecosystem Engineering Journal, 1: 31-38. **(Journal)**

Pace, F., Cralle, H. T., El-Halawany, S. H. M., Cothren, J. T. and Senseman, S. A. 1999. Drought-induced changes in shoot and root growth of young cotton plants. Journal of Cotton Science, 3: 183-187. **(Journal)**

Penuelas, J., Isla, R., Fillela, I. and Araus, J. L. 1997. Visible and near-infrared reflectance assessment of salinity effects on barley. Crop Science, 37: 198- 202. **(Journal)**

Ruan, S. 2002. The influence of priming on germination of rice seeds and seedling emergence and performance in flooded soil. Seed Science and Technology, 30: 61-67. **(Journal)**

Serrano, R., Macia, F. C. and Moreno, V. 1999. Genetic engineering of salt and drought tolerance with yeast regulatory genes. Scientia Horticulturae, 78: 261-269. **(Journal)**

Sharafi, S. 2007. Assessing the impact of drought and salinity levels on some traits of milk thistle (*Silybum marianum*) seedling. Third Symposium of Medicinal Plants, Tehran, Shahed University. p. 214. **(Thesis)**

Tamartash, R., Shokrian, F. and Kargar, M. 2010. Effects of salinity and drought stress on *Trifolium alexanderium* L. seed germination properties. Rangeland, 4: 288-297. (In Persian)**(Journal)**

Tavili, A., Ghanbari, N. and Yazdanshenas, H. 2015. The effect of drought and salinity stress on seed germination characteristic and seedling growth of *Salsola crassa* under laboratory and greenhouse conditions. Iranian Journal of Seed Science and Research, 2: 15-25. (In Persian)**(Journal)**

Tobe, K., Li, M. X. and Omasa, K. 2004. Effects of five different salts on seed germination and seedling growth of *Haloxylonam modendron* (Chenopodiaceae). Seed Science Research, 14: 345-353. **(Journal)**

Trautwein, E. A., Reickhoff, D. and Erbershobler, H. F. 1997. The cholesterol- lowering effect of Psyllium a source dietary fiber. Ernhurung Umscha,. 44: 214-216. **(Journal)**

Ulfat, M., Athar, H., Ashraf, M., Akram, N. A. and Jamil, A. 2007. Appraisal of physiological and biochemical selection criteria for evaluation of salt tolerance in canola (*Brassica napus* L.). Pakistan Journal of Botany, 39(5): 1593-1608. **(Journal)**

Ungar, I. A. 1995. Seed germination and seed bank ecology in halophytes. pp: 599- 628. In J. Kigel and G. Galili (eds.) Seed development and germination. Marcel Dekker Inc. New York. **(Book)**

Wang, X. S. and Han, J. G. 2009. Changes in proline content, activity, and active isoforms of antioxidative enzymes in two alfalfa cultivars under salt stress. Agricultural Sciences in China, 8: 431-440. **(Journal)**

Yazdani Biuki, R. R., Rezvani Moghaddam, P., Khazaie, H. R., Ghorbani, R. and Astaraei, A. R. 2010. Effects of salinity and drought stresses on germination characteristics of milk thistle (*Silybum marianum*). Iranian Journal of Field Crops Research, 1: 12-19. (In Persian)**(Journal)**

Zeinali, E., Soltani, A. and Galeshi, S. 2002. Response of germination components to salinity stress in oilseed rape (*Brassica napus* L.). Iranian Journal of Agricultural Science, 33: 137-145. (In Persian) **(Journal)**

Zirehzad, M., Shahin, M. and Tohidi, M. 2009. The effect of salt and drought stresses on germination of Thyme. Iranian Journal of Field Crops Research, 1: 61-70. (In Persian)**(Journal)**

Effects of salinity and drought stresses on seed germination, growth and prolinecontent of common daisy (*Bellis perennis* L.Bellissima Mixture) seedling

Hassan Bayat[1*], Mohammad Hossein Aminifard[1]

Received: July 16, 2017 Accepted: September 5, 2017

Abstract

Germination and emergence of seed is strongly influenced by environmental stresses such as salinity and drought. In order to study the germination response of common daisy (*Bellis perennis* L. "Bellissima Mixture") seeds to salinity and drought stresses, two separate experiments were carried out based on completely randomized design with 3 replications. Drought and salinity treatments were seven osmotic potential levels (0, -2, -4, -6, -8, -10 and -12 bars) applied using polyethylene glycol (PEG) and sodium chloride (NaCl), respectively. The results showed with increasing levels of drought and salinity, germination percentage decreased and at potential level of -12 bar of drought and salinity, it reduced to zero and 50%, respectively. Drought and salinity stresses significantly decreased germination rate from levels of -2 and -8 bar to higher compared to control, respectively. Moreover, drought and salinity stresses significantly reduced radical length, plumule length and dry weight of radical, plumule and total. With increasing levels of salinity to -10 and -12 bars, plumule length values decreased by 42 and 67% compared to control, respectively. Proline content significantly increased by drought and salinity stresses, but the amount of proline under drought stress was higher than salinity. The results of this study showed that the salinity tolerance of common daisy in the germination stage was higher than drought stress.

Key words: Germination percentage; Germination rate; NaCl; Polyethylene glycol

How to cite this article

Bayat, H. and Aminifard, M. H. 2018. Effects of salinity and drought stresses on seed germination, growth and prolinecontent of common daisy (*Bellis perennis* L. "Bellissima Mixture") seedling. Iranian Journal of Seed Science and Research, 5(2): 83-93. (In Persian)**(Journal)**

DOI: 10.22124/jms.2018.2913

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. Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran

*Corresponding author Email: hassanbayat@birjand.ac.ir