

بررسی تغییرات تشریحی گیاهچه‌های رازیانه متعاقب تابش پلاسمای سرد

اعظم اسنانودی Ph.D.، گیتی برزین Ph.D.*، تانیا داوری مهابادی Ph.D.، ملیحه انتظاری Ph.D.، لیلا پیشکار Ph.D.

۱. گروه زیست شناسی، واحد اسلامشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اسلامشهر، ایران
۲. گروه فیزیک و بیوفیزیک، دانشکده بهداشت، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۳. گروه ژنتیک، دانشکده علوم و فناوری های نوین، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: Gitibarzin@iaau.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۳/۲۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۸/۴

چکیده

هدف: این مطالعه به منظور تعیین تاثیر پرایمینگ بذر با پلاسمای سرد بر رشد و ویژگی‌های تشریحی گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare L.*) انجام شده است.

مواد و روش‌ها: بذور گیاه رازیانه پس از تهیه، در معرض تابش پلاسمای سرد به مدت ۰، ۵، ۱۰ و ۲۰ دقیقه قرار گرفتند. پس از جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه‌ها، ویژگی‌های تشریحی ریشه، ساقه و برگ رشد یافته از بذره‌های تیمار شده با پلاسمای سرد با استفاده از رنگ‌آمیزی کارمن زاجی مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: نتایج نشان داد که پلاسمای سرد توانست در الگوی تمایز سیستم آوندی چوب گیاه رازیانه نیز تغییراتی ایجاد کند که عمدتاً وابسته به زمان پلاسمای سرد بود. از جمله این تغییرات می‌توان به افزایش اندازه سلول‌های آوند چوبی و تغییر در الگوی پراکنش سیستم آوندی در برگ، ساقه و ریشه اشاره کرد.

نتیجه‌گیری: تیمار پلاسمای سرد باعث ایجاد تغییرات در ویژگی‌های تشریحی برگ، ساقه و ریشه می‌شد، که می‌تواند مسئولی برای اثرات مفید پلاسمای بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذور و رشد اولیه گیاه باشد.

واژگان کلیدی: تکوین، رشد، جوانه زنی، بذر، بافت هادی

مقدمه

رازیانه با نام علمی *Foeniculum vulgare* L. از خانواده چتریان است که در صنایع عطر سازی، صنایع آرایشی و بهداشتی، صنایع داروسازی و صنایع غذایی کاربردهای فراوانی دارد (۱). مطالعات نشان می‌دهند که بسیاری از گیاهان خانواده چتریان به‌خصوص رازیانه، مقادیر فراوان اندوسپرم و جنین‌های کوچک تولید می‌کنند. بنابراین درصد جوانه‌زنی بذر در این گیاهان پایین است و استانداردهای جوانه‌زنی برای آن‌ها پایین‌تر از گیاهان عادی است. فقدان جنین در دانه، وجود جنین‌های ناقص و وجود جنین‌های خفته در دانه آن‌ها از مهم‌ترین عوامل خفتگی و کاهش جوانه‌زنی آن‌ها به حساب می‌آید (۲). بنابراین توسعه فناوری‌هایی که به‌افزایش جوانه‌زنی در این گیاه دارویی کمک کند، اهمیت بسیار زیادی دارد. بهبود جوانه‌زنی می‌تواند تاثیر مستقیمی در بهبود تولید محصول زراعی داشته باشد. جوانه‌زنی در گیاهان را می‌توان از روش‌های مختلفی بهبود بخشید، از جمله این روش‌ها می‌توان به‌انواع روش‌های تیمار فیزیکی نظیر استفاده از تیمار مغناطیس، نورخورشید، نور اشعه ماورای بنفش و خیساندن در آب گرم و تیمارهای شیمیایی نظیر استفاده از قارچ‌کش‌ها و هورمون‌ها تحت روش‌های شیمیایی اشاره کرد (۳). این روش‌ها اگرچه تاحدودی می‌توانند موجب بهبود جوانه‌زنی در بذر گیاهان شوند، اما این روش‌ها مضرات فراوان و جبران‌ناپذیری برای سلامت انسان و محیط زیست دارند (۴). به‌علاوه استفاده از این تکنیک‌ها موجب مقاومت پاتوژن‌ها و حشرات شده که استفاده از این ترکیبات خطرناک را به‌خصوص در مزارع کشورهای در حال توسعه افزایش داده است (۵).

پلازما به‌عنوان حالت چهارم ماده در نظر گرفته می‌شود که تابشی شبه خنثی بوده و به‌وسیله گونه‌های واکنشی خنثی به‌وجود می‌آید. این حالت که در اثر یونیزاسیون و افزایش انرژی است که موجب تبدیل شدن جامد به مایع به گاز و سپس نوعی تابش یونیزه می‌شد (۶). تخلیه پلازما تولید گونه‌های خنثی واکنش‌پذیر Reactive Neutral Species، گونه‌های باردار (الکترون‌ها و یون‌ها)، میدان مغناطیسی و اشعه ماورا بنفش می‌کند. این فاکتورها باعث تغییر در دانسیته گونه‌های فعال اکسیژن Reactive Oxygen Species (ROS) گونه‌های فعال نیتروژن Reactive Nitrogen Species (RNS)، pH، پتانسیل کاهش اکسیژن، هدایت الکتریکی و نظیر آن می‌شود که می‌تواند بر رشد و جوانه‌زنی و کیفیت محصولات کشاورزی اثر بگذارد (۵).

یکی از روش‌های مفید در بهبود جوانه‌زنی بذر استفاده از فناوری پلازما است. این فناوری که روشی سریع و با عمل‌کردی در دمای کم، اقتصادی و بدون آلودگی است می‌تواند موجب جوانه‌زنی بهتر بذر گیاهان شود. به‌علاوه این فناوری می‌تواند با پاک کردن سطح بذر از پاتوژن‌ها، بهبود نفوذپذیری بذر به‌آب، نقش مهمی را در تکوین و فعالیت فیزیولوژی گیاه داشته باشد که نتیجه آن افزایش بنيه بذر و جوانه‌زنی بهتر است (۷). مطالعات نشان می‌دهند که تماس مستقیم بذر با پلازما سبب تحریک جوانه‌زنی و رشد در آنها می‌شود (۸، ۹). که به‌دنبال آن بازده میوه (۹)، فعالیت آنزیم‌های دخیل در تکوین بذر (۱۰)، تغییر در متابولیت‌های ثانویه (۱۰) و همچنین کاهش جمعیت میکروبی پاتوژن‌های گیاهی روی سطح بذر (۱۱)، تحت تاثیر قرار می‌گیرد. همچنین پلازما می‌تواند با تغییر سطح بذر و تمایل بذر را به‌آب‌گریز بودن یا آب دوست بودن که هر دو اهمیت دارند، را تغییر دهد (۱۲). این تغییرات در بذر از طریق بمباران کردن سطح بذر با ذرات فعال پلازما و ایجاد مولکول‌های فعال زیستی در سطح بذر انجام می‌شود. هنگام استفاده از فناوری پلازما، شناخت و بهینه‌سازی زمان در معرض قرار گرفتن بذر اهمیت بسیاری دارد، زیرا زمان کوتاه ممکن است اثر ضعیفی ایجاد کند و زمان طولانی موجب مهار جوانه‌زنی بذر شده و اثر منفی بر تکوین گیاه بگذارد. بنابراین پیش تیمار بذر با پلازما روشی اقتصادی، سریع و بدون آلودگی است که موجب عمل‌کرد بهتر دانه و محصول می‌شود (۱۳).

باتوجه به این مطلب که فناوری پلاسما در طیف وسیعی از فرآیندهای تکوینی و فیزیولوژی گیاهان، از جمله تغییر ساختارهای پوسته بذر، افزایش نفوذپذیری پوسته دانه و جوانه‌زنی بذر، تحریک رشد گیاهچه و ساختار آوندی گیاه دخالت می‌کند (۱۲)، و باتوجه به این که براساس آخرین اطلاعات یافت شده، تاکنون مطالعه‌ای در مورد اثر پلاسما بر بذر گیاه رازیانه بر شاخص‌های تشریحی انجام نگرفته است، در مطالعه حاضر به بررسی اثر فناوری پلاسما بر تغییرات تشریحی گیاه رازیانه پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

بذرهای خالص گیاه رازیانه در این پژوهش از مرکز تحقیقات پاکان بذر اصفهان تهیه شد. درصد خلوص بذر: ۹۳ درصد، قوه نامیه بذر رازیانه: ۸۰ درصد و وزن هزاردانه بذر رازیانه: ۲/۹ گرم بود.

برای انجام آزمایش بذرهای چهار گروه تقسیم شده و هر گروه سه تکرار داشت. گروه ۱: بذرهایی که در معرض پلاسمای سرد به مدت ۵ دقیقه قرار گرفتند. گروه ۲: بذرهایی که در معرض پلاسمای سرد به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند. گروه ۳: بذرهایی که به مدت ۲۰ دقیقه در معرض پلاسمای سرد قرار گرفتند و گروه ۴ که گروه شاهد بدون تیمار بود. در هر گروه پس از کشت ۲۱ روزه و جوانه زنی، ویژگی‌های تشریحی گیاهچه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

اعمال تابش پلاسما بر روی بذرهای یک روز قبل از کاشت آن‌ها انجام شد. بدین منظور بذرهای گروه ۱ تا ۳ به‌طور یکنواخت و به‌نوبت تحت تاثیر پلاسمای سرد تولید شده توسط دستگاه تخلیه الکتریکی از طریق سد دی‌الکتریک (DBD) قرار گرفتند در این فرآیند، آرگون به‌عنوان گاز انتخاب شده برای این پژوهش، پس از ورود به‌دستگاه در فشار اتمسفر و دمای آزمایشگاه (۲۵ درجه سانتی‌گراد) تحت تاثیر یک منبع ولتاژ بالای متناوب یونیزه شد. بذرهای به‌طور یکنواخت روی سینی رسانای دستگاه (به‌عنوان یکی از الکترودهای وصل شده به یکی از سرهای منبع ولتاژ بالا) پخش شدند. الکترود دیگر، صفحه رسانای عایق بندی شده توسط سد دی‌الکتریک (به فرم یک لایه شیشه‌ای به ضخامت ۵، عرض ۸۰ و طول ۱۴۰ میلی‌متر) در نظر گرفته شد که به‌سر دیگر منبع ولتاژ بالا وصل بود. بنابراین ولتاژ بالای حدود ۱۰ کیلوولت دستگاه با فرکانسی نزدیک ۱۵ کیلوهرتز پلاسمای سردی از آرگون تولید نمود که بذرهای را در مدت زمان‌های ۵، ۱۰ و ۲۰ دقیقه مورد تابش پلاسما قرار گرفتند.

بذرهای تیمارهای مختلف و گروه شاهد، با دست در عمق ۲ تا ۳ سانتی‌متری با تراکم ۱۲ بوته در گلدان (معادل ۲۲۰ بوته در متر مربع) در گلدان‌های پلاستیکی به ابعاد ۱۵×۲۰ سانتی‌متر و محتوی مخلوطی از خاک رس، پرلیت و پیت ماس (۱:۱:۱) کاشته شد.

برداشت گیاه در روز ۲۱ پس از کاشت و در آغاز مرحله رسیدگی فیزیولوژیک گیاه صورت گرفت. در این زمان سر شاخه‌های گلدار ظاهر شده بود. نمونه‌گیری تخریبی و میانگین سه بوته در هر گلدان برای هر آزمایش بود. نمونه‌های ساقه، ریشه و برگ به‌منظور آزمایش‌های تشریحی جمع‌آوری شدند.

اندازه‌گیری پارامترهای تشریحی

تثبیت نمونه‌ها و آب‌گیری: بخش‌هایی از گیاه که نمونه‌برداری شده پس از شست‌وشو اولیه به‌قطعات ۰/۵ سانتی‌متری تقسیم شده و به‌مدت ۱۴ ساعت در محلول فیکس کننده (FAA (Formaldehyde+Acetic acid+Alcohol قرار داده شد (برای تهیه FAA، مقدار ۲ میلی‌متر فرمالدهید تجاری ۳۷ درصد با ۱ میلی‌لیتر اسید استیک خالص و ۱۷ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد مخلوط شد). پس از تثبیت نمونه‌ها ۱ مرتبه با آب جاری و ۳ مرتبه با آب مقطر شست‌وشو داده شدند. به‌منظور آب‌گیری، نمونه‌ها در محلول‌های اتانول افزایشی از ۳۰ تا ۱۰۰ درصد (هر محلول ۲ دقیقه) قرار گرفتند.

برش‌گیری و رنگ‌آمیزی: پس از آب‌گیری از نمونه‌ها، برش‌های نازکی از گیاه گرفته شد به طوری که تنها یک لایه سلولی جدا شود. سپس برش‌ها در شیشه ساعت محتوی آب مقطر قرار داده شدند تا از خشک شدن آن‌ها جلوگیری شد. سپس برش‌های نازک‌تر را انتخاب کرده و به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در محلول آب ژاول قرار داده شدند تا کلروفیل گیاه از بین برود و آماده پذیرش رنگ شد. پس از آن برش‌ها با آب مقطر شست‌وشو داده شدند و در محلول اسید استیک ۱۰ درصد به مدت ۲ دقیقه قرار داده شدند. سپس برش‌ها مجدداً با آب مقطر شست‌وشو داده شدند و برای ۲۰ ثانیه در محلول سبز متیل به منظور رنگ‌آمیزی بافت‌های چوبی، قرار داده شدند. سپس دوباره بافت‌ها با آب مقطر شست‌وشو داده شدند و برش‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در محلول رنگ کارمن زاجی به منظور رنگ‌آمیزی بافت‌های سلولزی قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها با کمک قطره‌ای آب به دقت روی لام قرار داده شدند و لامل روی آن قرار داده شد. به منظور جلوگیری از تشکیل حباب هوا روی لام، این کار سریع انجام شد. سپس نمونه‌ها زیر میکروسکوپ نوری (Olympus BH 2-Japan) ابتدا با بزرگ‌نمایی کم و سپس با بزرگ‌نمایی زیاد، مشاهده و عکس‌برداری شد.

نتایج

تغییرات ظاهری در گیاه رازیانه پس از تابش پلاسما

۲۱ روز پس از کشت بذرها رازیانه مورد آزمایش، افزایش ظاهری و کیفی رشد تیمارهای بذریایی که در معرض تابش پلاسما قرار گرفته بودند نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (شکل ۱).



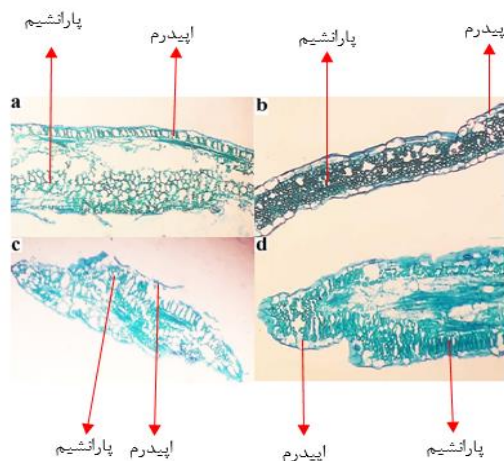
شکل ۱: نمایشی از رشد گیاهچه بذر رازیانه، پس از تیمار بذرها با پلاسمای سرد (به مدت ۵، ۱۰ و ۲۰ دقیقه) نسبت به گیاهچه کنترل

بررسی‌های تشریحی

برگ

بررسی‌های تصاویر تشریحی به دست آمده از گیاهان رازیانه تیمار شده با پلاسمای سرد ($n=5$) نشان داد که در برگ گیاهچه رازیانه که بذرها آن با پلاسمای سرد تیمار شده بودند، به خصوص در زمان ۵ دقیقه تیمار، تفاوت در ضخامت میان‌برگ و

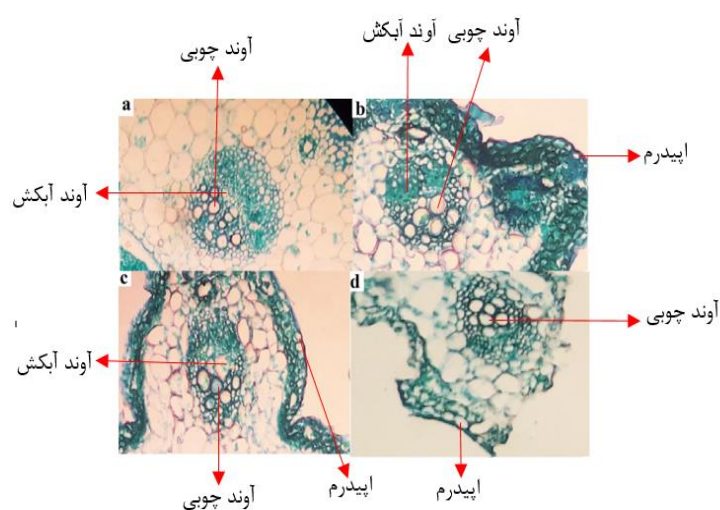
افزایش قطر بافت پارانشیم نردبانی در گیاهچه‌های رازیانه‌ای که بذر آن‌ها با پلاسمای سرد تیمار شده بود (به‌خصوص در زمان ۵ دقیقه) مشاهده شد (شکل ۲).



شکل ۲: تغییرات تشریحی برگ گیاهچه رازیانه که بذرهای آن با پلاسمای سرد تیمار شده‌اند. (a) گروه کنترل. (b) گروه تیمار شده با ۵ دقیقه پلاسمای سرد. (c) گروه تیمار شده با ۱۰ دقیقه پلاسمای سرد. (d) گروه تیمار شده با ۲۰ دقیقه پلاسمای سرد. بزرگ نمایی $\times 200$.

ساقه

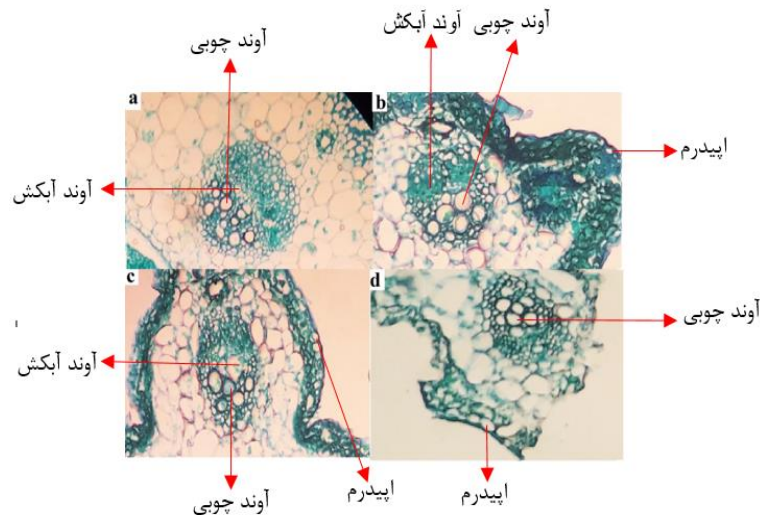
نتایج نشان داد که قطر ساقه گیاهچه‌های رازیانه‌ای که دانه‌های آن با پلاسمای سرد تیمار شده بود بیش‌تر از قطر ساقه گیاهچه‌های رازیانه گروه کنترل بود. مشاهدات تشریحی نشان داد که در دستجات آوند چوبی در ساقه گیاهچه رازیانه‌ای که بذر آن با پلاسما تیمار شده بود، در قطر سلول‌های آوند چوبی نسبت به گروه کنترل کاهش اندازه مشاهده شد (به‌خصوص در تیمار ۵ و ۱۰ دقیقه پلاسمای سرد) (شکل ۳).



شکل ۳: تغییرات تشریحی ساقه گیاهچه رازیانه که بذره‌های آن با پلاسمای سرد تیمار شده‌اند. (a) گروه کنترل. (b) گروه تیمار شده با ۵ دقیقه پلاسمای سرد. (c) گروه تیمار شده با ۱۰ دقیقه پلاسمای سرد. (d) گروه تیمار شده با ۲۰ دقیقه پلاسمای سرد. بزرگ‌نمایی $\times 200$.

ریشه

تیمار بذره‌های رازیانه با پلاسمای سرد، سبب تغییر در آرایش سیستم آوندی ریشه در گیاهچه رازیانه شد. نتایج نشان داد که با افزایش زمان تیمار از ۵ تا ۲۰ دقیقه، قطر سلول‌های آوند چوبی در ریشه نسبت به گیاهچه کنترل، افزایش نشان داد و این افزایش قطر آوند چوبی و تغییر الگوی دسته‌جات آوندی تنها در گیاهچه‌ایی که بذر آن به مدت ۲۰ دقیقه با پلاسمای سرد تیمار شده بود، دیده نشد (شکل ۴).



شکل ۴: تغییرات تشریحی ریشه گیاهچه رازیانه که بذره‌های آن با پلاسمای سرد تیمار شده‌اند. (a) گروه کنترل. (b) گروه تیمار شده با ۵ دقیقه پلاسمای سرد. (c) گروه تیمار شده با ۱۰ دقیقه پلاسمای سرد. (d) گروه تیمار شده با ۲۰ دقیقه پلاسمای سرد. بزرگ‌نمایی $\times 200$.

بحث

بهبود شرایط کشت در گیاهان دارویی نظیر رازیانه به منظور تحقق نیاز به فراورده‌های ارزشمند این گیاه، ضروری است. اگر چه ثابت شده که فناوری پلاسمای سرد در تعداد کمی از گونه‌های گیاهی کارآمد است، اما اثر آن بر بهبود جوانه‌زنی و رشد گیاه از طریق تغییر در ویژگی‌های تشریحی گیاه هنوز ناشناخته است (۱۴).

در مطالعه حاضر، تیمار بذره‌های رازیانه با پلاسمای سرد، سبب تفاوت در تشریح سیستم آوندی نظیر افزایش قطر آوندهای چوبی و تغییر در پراکنش آوندهای آبکش در ساقه و ریشه، نسبت به گیاهچه کنترل شد. در واقع صفات آناتومیک و الگوهای تمایزی برگ گیاه رازیانه پس از تیمار بذره‌های آن با پلاسمای سرد، تغییر پیدا کرد.

در مطالعه Seddighinia و همکارانش تیمار پلاسمای سرد سبب افزایش قطر سلول‌های آوند چوبی در ساقه گیاه *Momordica charantia* شد (۱۵). در مطالعه Safari و همکارانش تیمار یک دقیقه‌ای گیاه *Capsicum annuum* با پلاسمای سرد موجب تغییر در بافت آوند چوب و آبکش شد. آن‌ها احتمال دادند که تیمار پلاسمای سرد پتانسیل تغییر در الگوی تمایز بافت آوندی را دارد و بیان کردند که رادیکال‌های فعال موجود در پلاسمای به‌عنوان عاملی کنترل‌کننده تمایز آوندی می‌تواند عمل کند که با فعال کردن فیتوهورمون‌ها بر تمایز سیستم آوندی اثر می‌گذارد (۱۶). در پژوهش ما نیز تغییرات آوندهای چوب و پراکنش آوندهای آبکش بر اثر پلاسمای سرد قابل مشاهده بود.

بافت آوندی چوب و آب‌کش از جمله بافت‌های گیاهی هستند که نقش کلیدی در دفاع آناتومیک گیاه در برابر شرایط استرس‌زای سریع محیطی برعهده دارند تولید رادیکال‌های آزاد به‌وسیله سلول‌های گیاهی از یک‌سو و ورود ROS خارجی به‌وسیله تابش پلاسما سبب شده تا همان‌طور که آب از میان آوندهای چوبی عبور می‌کند منبع بالقوه‌ای از رادیکال‌های آزاد شود (۱۷). وجود ROS در فرآیند لیگنیفیکیشن lignification process آوند چوبی در حین تکامل و تمایز آوندی نقش مهمی دارد که معمولاً از بافت‌های پارانشیمی اطراف تامین می‌شود (۱۸). بنابراین وجود ROS اضافه ناشی از تابش پلاسما احتمالاً توانسته بر فرآیند لیگنیفیکیشن آوند چوبی اثر گذاشته و سبب تغییر در تمایز سلول‌های آوند چوبی شود. به‌نظر می‌رسد تیمار بذرهای رازیانه با پلاسما سرد، سبب شدت با افزایش سطح برگ رازیانه از یک‌سو موجب افزایش تعرق و هدایت آب به‌سمت روزه‌ها شود (۱۹) و از سوی دیگر با تغییر الگوی پراکنش آوندی و افزایش اندازه آوندهای چوبی در برگ، ساقه و ریشه به‌جذب بهتر آب توسط گیاه کمک کند (۱۵). افزایش بافت پارانشیم میان‌برگ پس از تیمار بذرهای رازیانه با پلاسما سرد، نشان‌گر توسعه و افزایش مساحت و قطر بافت برگ است. توسعه اندام‌های انتهایی گیاهی نظیر برگ‌ها مستلزم هماهنگی و پیچیدگی در تکثیر سلولی و گسترش سلول‌ها است که با تقسیم سلول‌های مرستمی و گسترش بدون تقسیم آن‌ها کامل می‌شود (۲۰)؛ این تقسیم و گسترش سلولی با واسطه پراکسیدازهایی که مرتبط با غلظت ROS هستند، رخ می‌دهد. درحقیقت افزایش فعالیت پراکسیدازی سبب انعطاف‌پذیری دیواره سلول‌های برگ و تجزیه شدن نسبی پلی‌ساکاریدهای دیواره می‌شود که خود عامل گسترش سلول‌های برگ و افزایش قطر میان‌برگ است (۲۱). بنابراین افزایش فعالیت پراکسیدازی در گیاهچه رازیانه در اثر تیمار بذرهای آن با پلاسما سرد احتمالاً سبب افزایش قطر میان‌برگ شده است. در این مطالعه، کاهش قطر و اندازه ساقه گیاهچه‌ای که بذرهای آن در معرض پلاسما سرد قرار گرفته بودند، دیده شد. برخی مطالعات گزارش دادند که رادیکال‌های آزاد اکسیژنی در ساقه گیاه می‌توانند از طریق تاثیر بر عمل‌کرد فاکتور رونویسی WUS تمایز و تقسیم سلول‌های مرستم راسی ساقه (SAM) Shoot apical meristem اثر بگذارد و تغییر رشد و کاهش قطر ساقه شود (۲۲). مطالعات بسیاری نشان دادند که تیمار بذر گیاهان با پلاسما سرد، رشد ساقه و ریشه گیاهچه را از طریق افزایش سطح و نفوذپذیری ریشه، افزایش داده است (۲۳، ۲۴). هرچند مکانیسم مولکولی و چگونگی این تاثیر ناشناخته است و نیاز به مطالعات بیشتر دارد (۲۵). بنابراین پرایمینگ بذرهای رازیانه با پلاسما سرد ممکن است بتواند استراتژی جدید و بهینه‌ای برای حفاظت از گیاه رازیانه در برابر شرایط استرس محیطی باشد.

نتیجه‌گیری

براساس نتایج مطالعه حاضر، تیمار بذرهای رازیانه با پلاسما سرد تغییرات تشریحی را در گیاهچه رازیانه ایجاد کرد. از جمله این تغییرات می‌توان به افزایش اندازه سلول‌های آوند چوبی و تغییر در الگوی پراکنش سیستم آوندی در ساقه و ریشه اشاره کرد. همچنین تیمار پلاسما سبب افزایش سلول‌های پارانشیمی و افزایش قطر میان‌برگ به‌خصوص در تیمار ۵ دقیقه بذرهای رازیانه با پلاسما سرد شد. بنابر نتایج مطالعه حاضر، استفاده از فناوری پلاسما سرد برای پرایمینگ بذر رازیانه علاوه بر تقویت رشد و اثر محافظتی آن بر گیاهچه رازیانه می‌تواند به تقویت ترکیبات ثانویه آن از جمله فلاونوئیدها که در گیاهان دارویی نظیر رازیانه اهمیت زیادی دارد، کمک کند. با توجه به ابهاماتی که در مورد مکانیسم چگونگی اثرات مثبت تیمار پلاسما بر بذرهای رازیانه وجود دارد، مطالعات دقیق‌تر می‌تواند چگونگی این اثر تحریکی پلاسما بر رشد و جوانه‌زنی و اثر محافظتی آن را آشکار کند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از حوزه معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلامشهر جهت حمایت مالی و اجرایی این تحقیق تشکر و قدردانی می‌کنند.

منابع

1. Tahaei A, Soleymani A, Shams M. Seed germination of medicinal plant, fennel (*Foeniculum vulgare* Mill), as affected by different priming techniques. *Applied biochemistry and biotechnology*. 2016;180(1):26-40.
2. Riebkes JL, Barak RS, Kramer AT. Evaluating seed viability in prairie forbs: a test of three methods. *Native Plants Journal*. 2015;16(2):96-106.
3. Singh R, Prasad P, Mohan R, Verma MK, et al. Radiofrequency cold plasma treatment enhances seed germination and seedling growth in variety CIM-Saumya of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. 2019;12:78-81.
4. Zhang S, Li L, Zhang C, Li G. ALA altered ABA content of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.) seedling. *Agricultural Science & Technology-Hunan*. 2011;12(4):484-591.
5. Ohta T. Plasma in agriculture. *Cold Plasma in Food and Agriculture*: Elsevier; 2016. p. 205-21.
6. Misra N, Pankaj S, Segat A, Ishikawa K. Cold plasma interactions with enzymes in foods and model systems. *Trends in Food Science & Technology*. 2016;55:39-47.
7. Jiayun T, Rui H, Xiaoli Z, Ruoting Z, et al. Effects of atmospheric pressure air plasma pretreatment on the seed germination and early growth of *Andrographis paniculata*. *Plasma Science and Technology*. 2014;16(3):260.
8. Dobrin D, Magureanu M, Mandache NB, Ionita M-D. The effect of non-thermal plasma treatment on wheat germination and early growth. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2015;29:255-60.
9. Pawlat J, Starek A, Sujak A, Terebun P, et al. Effects of atmospheric pressure plasma jet operating with DBD on *Lavatera thuringiaca* L. seeds' germination. *PLoS one*. 2018;13(4):e0194349.
10. Mildaziene V, Pauzaite G, Naucienė Z, Malakauskiene A, et al. Pre-sowing seed treatment with cold plasma and electromagnetic field increases secondary metabolite content in purple coneflower (*Echinacea purpurea*) leaves. *Plasma Processes and Polymers*. 2018;15(2):1700059.
11. Štěpánová V, Slavíček P, Kelar J, Prášil J, et al. Atmospheric pressure plasma treatment of agricultural seeds of cucumber (*Cucumis sativus* L.) and pepper (*Capsicum annuum* L.) with effect on reduction of diseases and germination improvement. *Plasma Processes and Polymers*. 2018;15(2):1700076.
12. Randeniya LK, de Groot GJ. Non-thermal plasma treatment of agricultural seeds for stimulation of germination, removal of surface contamination and other benefits: a review. *Plasma Processes and Polymers*. 2015;12(7):608-23.
13. Filatova I, Azharonok V, Lushkevich V, Zhukovsky A, et al., editors. Plasma seeds treatment as a promising technique for seed germination improvement. *Proceeding of the 31st International Conference on Phenomena in Ionized Gases*. 2013; 2068971
14. Rahman MM, Sajib SA, Rahi MS, Tahura S, et al. Mechanisms and signaling associated with LPDBD plasma mediated growth improvement in wheat. *Scientific reports*. 2018;8:1-12.

15. Seddighinia FS, Iranbakhsh A, Ardebili ZO, Satari TN, Soleimanpour S. Seed priming with cold plasma and multi-walled carbon nanotubes modified growth, tissue differentiation, anatomy, and yield in bitter melon (*Momordica charantia*). *Journal of Plant Growth Regulation*. 2020;39(1):87-98
16. Safari N, Iranbakhsh A, Ardebili ZO. Non-thermal plasma modified growth and differentiation process of *Capsicum annuum* PP805 Godiva in in vitro conditions. *Plasma Science and Technology*. 2017; 19(5): 055501.
17. Gansert D. Xylem sap flow as a major pathway for oxygen supply to the sapwood of birch (*Betula pubescens* Ehr.). *Plant, Cell & Environment*. 2003; 26(11): 1803-14.
18. Barceló AR. Xylem parenchyma cells deliver the H₂O₂ necessary for lignification in differentiating xylem vessels. *Planta*. 2005; 220(5): 747-56.
19. Seddighinia FS, Iranbakhsh A, Ardebili ZO, Satari TN, et al. Seed priming with cold plasma and multi-walled carbon nanotubes modified growth, tissue differentiation, anatomy, and yield in bitter melon (*Momordica charantia*). *Journal of plant growth regulation*. 2020; 39(1): 87-98.
20. Lu D, Wang T, Persson S, Mueller-Roeber B, et al. Transcriptional control of ROS homeostasis by KUODA1 regulates cell expansion during leaf development. *Nature communications*. 2014; 5: 3767.
21. Qi J, Wang J, Gong Z, Zhou J-M. Apoplastic ROS signaling in plant immunity. *Current opinion in plant biology*. 2017;38:92-100.
22. Schippers JH, Foyer CH, van Dongen JT. Redox regulation in shoot growth, SAM maintenance and flowering. *Current opinion in plant biology*. 2016; 29: 121-8.
23. Guo Q, Meng Y, Qu G, Wang T, et al. Improvement of wheat seed vitality by dielectric barrier discharge plasma treatment. *Bioelectromagnetics*. 2018; 39(2): 120-31.
24. Stolárik T, Henselová M, Martinka M, Novák O, et al. Effect of low-temperature plasma on the structure of seeds, growth and metabolism of endogenous phytohormones in pea (*Pisum sativum* L.). *Plasma Chemistry and Plasma Processing*. 2015; 35(4): 659-76.
25. Holc M, Primc G, Iskra J, Titan P, et al. Effect of Oxygen Plasma on Sprout and Root Growth, Surface Morphology and Yield of Garlic. *Plants*. 2019; 8(11): 462.

Study of Anatomical Changes of Fennel Plants Following Cold Plasma Radiation

Asnavandi A¹ Ph.D., Barzin G^{1*} Ph.D., Davari Mahabadi T² Ph.D., Entezari M³ Ph.D.,
Pishkar L¹ Ph.D.

1. Department of biology, Islamshahr Branch, Islamic Azad University, Islamshahr, Iran
2. Department of Physics and Biophysics, Faculty of Health, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3. Department of Genetics, faculty of advanced science and technology, Tehran Medical Science, Islamic Azad University, Tehran, Iran

* Email corresponding author: Gitibarzin@iaau.ac.ir

Received: 25 Oct. 2020

Accepted: 13 Jun. 2021

Abstract

Aim: This study was conducted to determine the effect of cold plasma on growth and anatomical features of *Foeniculum vulgare* L. plants.

Material and Methods: After preparation, fennel seeds were exposed to cold plasma irradiation for 0, 5, 10, and 20 minutes. After germination and initial growth of seedlings, the anatomical features of roots stems and leaves grown from seeds treated with cold plasma were investigated using Carmen Zaji staining.

Results: The results showed that cold plasma was able to make changes in the pattern of differentiation of xylems of the fennel plant, which was mainly dependent on cold plasma time. These changes include an increase in the size of xylem cells and a change in the distribution pattern of the vascular system in the leaves, stems, and roots.

Conclusion: It was concluded that cold plasma treatment causes changes in the anatomical features of leaves, stems, and roots, which can be responsible for the beneficial effects of cold plasma on seed germination characteristics and early plant growth.

Keywords: Development, Growth, Germination, Seed, Vascular tissue