مجله اکوفیزیولوژی بذر

جلد دوم، شماره اول، نیمه اول ۹۶

۳۳-۴۶

اثر سطوح مختلف پرایمینگ هورمونی بر مؤلفه‌های جوانه‌زنی، زمان تا درصدهای مختلف جوانه‌زنی، میانگین مدت زمان جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و ویگور بذر استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni.)

راضیه صارمی[۱]، حشمت امیدی[۲*] و عبدالامیر بستانی[۳]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و تکنولوژی بذر دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد تهران

۲. استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه شاهد تهران

۳. استادیار، گروه علوم خاک، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۳/۳۰؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۱۲

چکیده

به منظور بررسی اثرات پرایمینگ بذر بر ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر استویا، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار در دانشگاه شاهد اجرا شد. بذرها به‌وسیله هورمون اکسین در غلظت‌های صفر (هیدرو پرایمینگ با آب مقطر)، ۰/۱، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ پی‌پی‌ام و هورمون سیتوکینین در غلظت‌های صفر (هیدرو پرایمینگ با آب مقطر)، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ پی‌پی‌ام به صورت ترکیبی پرایم شدند. نتایج نشان داد که بیشترین سرعت جوانه‌زنی و کمترین میانگین مدت زمان جوانه‌زنی در تیمار بذرها با ۰/۱ پی‌پی‌ام اکسین و تیمار شاهد به‌دست آمد. همچنین بر اساس نتایج، کمترین زمان تا ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۹۰ درصد جوانه‌زنی در هیدروپرایمینگ بذرها با آب مقطر و همچنین ۰/۱ پی‌پی‌ام اکسین به‌دست آمد. بنابراین، بذرهای هیدروپرایم شده زودتر به ۱۰ درصد جوانه‌زنی رسیدند. در مطالعه اثر سیتوکینین، کمترین میانگین مدت زمان جوانه‌زنی در بذرهایی مشاهده شد که به‌وسیله هیدروپرایمینگ و ۱ پی‌پی‌ام سیتوکینین تیمار شدند. همچنین تیمار بذرها با ۰/۵ و ۱/۵ پی‌پی‌ام از هورمون سیتوکینین بالاترین سرعت جوانه‌زنی را نشان داد. در مطالعه اثرات برهمکنش اکسین در سیتوکینین بر ویژگی‌های جوانه‌زنی بذرهای استویا، ترکیب تیماری (۱ + ۱/۵ پی‌پی‌ام) IAA+PBA از نظر مقدار، منجر به بیشترین درصد جوانه‌زنی گردید. همچنین تیمار با (۰+۰/۱ پی‌پی‌ام) IAA+PBA شاخص بنیه بذر را افزایش داد که نسبت به سایر ترکیبات از نظر اقتصادی مقرون به صرفه است. به طور کلی با توجه به نتایج، اثر گذاری IAA نسبت به PBA بر صفات مورد مطالعه بیشتر بود. با این وجود، هیدروپرایمینگ نیز تاثیر مثبتی بر اکثر صفات نشان داد. در نتیجه برای تولید بذر استویا با سرعت جوانه‌زنی و بنیه بالا، استفاده از اکسین در غلظت‌های پایین توصیه می‌شود. برای رسیدن به درصد جوانه‌زنی بالاتر، ترکیب تیماری (۱+۱/۵ پی‌پی‌ام) IAA+PBAرا می‌توان پیشنهاد کرد.

واژه‌های کلیدی: اکسین، بنیه‌بذر، سیتوکینین، درصد جوانه‌زنی، هیدروپرایمینگ.

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیک: omidi@shahed.ac.ir

مقدمه

استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni.) از تیره آستراسه، گیاهی چندساله است (Raina et al., 2013). رامش و همکاران (Ramesh et al., 2006) بیان کردند که درصد اندکی از بذرهای استویا زنده هستند. با توجه به مطالعات انجام شده محققان اظهار داشتند دو نوع بذر استویا وجود دارد که بذرهای روشن غیر بارور (Oddone., 1997) و بذرهای تیره بارور هستند (Yadav et al., 2010). تولید مثل در این گیاه در طبیعت عمدتاً از طریق بذرها صورت می‌گیرد اما قوه نامیه بذرها ضعیف و به‌شدت متغییر است (Ramesh et al., 2006).

جوانه‌زنی به عنوان اولین مرحله نموی گیاه، یکی از مراحل مهم و حساس در چرخه زندگی گیاهان و یک فرآیند کلیدی در سبز شدن گیاهچه‌ها است (Azarnia and Eisavand., 2013). این مرحله از رشد به شدت تحت تاثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد. جوانه‌زنی غیر همزمان و کند، یکی از صفات نامطلوب بذر گیاهان زراعی می‌باشد. یکی از راه‌های بهبود یکنواختی جوانه‌زنی، افزایش جوانه‌زنی و سبز شدن بذر، استفاده از روش پرایمینگ بذر است (Ghasemi Lemraski., 2013). چندین روش مختلف برای پرایمینگ بذر وجود دارد که از جمله آن‌ها می‌توان به هیدروپرایمینگ و پرایمینگ هورمونی اشاره کرد (Farooq et al., 2005).

پرایمینگ بذر یکی از تکنیک‌های امیدوارکننده برای غلبه بر مشکلات مرتبط با جوانه‌زنی ضعیف و پس از آن استقرار نامنظم محصول تحت شرایط نرمال و تنش‌زا است. طی پرایمینگ، فرآیند جوانه‌زنی به‌وسیله خیساندن بذرها در آب یا در محلول‌های حاوی مولکول‌هایی مانند نمک‌ها، فلزات و هورمون‌ها القا و با خشک کردن بذرها متوقف می‌گردد. بذرهای پرایم شده تمایل به جوانه‌زنی و رشد بهتر حتی در شرایط تنش‌زا خواهند داشت (Sneideris et al., 2015). گزارش‌های مختلف حاکی از آن است که پرایمینگ باعث افزایش درصد، سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی و سبز شدن می‌گردد. پرایمینگ با هورمون‌های رشد یکی از استراتژی‌هایی است که به طور معمول برای بهبود جوانه‌زنی استفاده می‌شود (Sneideris et al., 2015). همچنین مشخص شده که خیساندن بذر در غلظت مناسبی از هورمون‌های رشد گیاه، تاثیر مثبتی بر جوانه‌زنی، رشد و عملکرد گونه‌های مختلف گیاهی در شرایط نرمال و تنش دارد (Lee et al., 1998). هورمون‌های رشدی که معمولاً برای پرایمینگ مورد استفاده قرار می‌گیرند شامل اکسین‌ها (IAA، IBA، NAA)، جیبرلین‌ها (GA)، کینتین‌ها، اسید آبسیزیک، پلی آمین‌ها، اتیلن، اسید سالیسیلیک و اسید آسکوربیک (Durr and Boiffin, 1995) می‌باشند. تسریع جوانه‌زنی در بذرهای پرایم شده می‌تواند ناشی از افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده مثل آلفا آمیلاز، افزایش سطح شارژ انرژی زیستی در قالب افزایش ATP، افزایش سنتز DNA و RNA، افزایش تعداد و در عین حال ارتقای عملکرد میتوکندی‌ها باشد (Afzal et al., 2002). کاربرد جیبرلین و سیتوکینین درصد جوانه‌زنی بذرها و رشد گیاهچه‌های *Ocimum basilicum* را افزایش داد (Bagheri et al., 2014). در بذرهای پرایم شده، یک سری تغییرات متابولیکی و بیوشیمیایی به‌نفع جوانه‌زنی اتفاق می‌افتد. برای مثال، در این بذرها بخشی از پروتئین‌ها و هیدرات کربن‌ها در اثر آنزیم‌ها و واکنش‌های هیدرولیز کننده شکسته شده و آماده شرکت در فرآیند جوانه‌زنی می‌شوند (Harris, 2001). این مساله می‌تواند توجیهی برای تسریع جوانه‌زنی و کاهش متوسط زمان جوانه‌زنی باشد (Campbell et al., 1999).

یکی از نقش‌های مؤثر و مفید هورمون‌های اکسین و سیتوکینین در فرآیند جوانه‌زنی است به‌طوری‌که طبق مطالعات، IAA قادر است از طریق اثر بر فعالیت آنزیم گلی اکسالاز (Hentrich et al., 2013)، افزایش متابولیسم اسیدهای نوکلوئیک و سنتز پروتئین‌ها (Maku et al., 2014) جوانه‌زنی را تحت تأثیر قرار دهد. همچنین سیتوکینین‌ها نیز بر دامنه وسیعی از فعالیت‌های

گیاه از جمله تمام مراحل جوانه‌زنی موثر بوده و حتی در تنش‌هایی نظیر تنش‌شوری، خشکی، فلزات سنگین و تنش اکسیداتیو قادرند تا با کاهش استرس‌ها، جوانه‌زنی در بذر را افزایش دهند (Chiwocha et al., 2005). از آنجایی که جوانه‌زنی برای رشد و تکامل جنین و تولید نهایی یک گیاه جدید ضروری است و از طرفی گیاه دارویی استویا از جوانه‌زنی و بنیه بذر کمی برخوردار است. این پژوهش به منظور بررسی اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی اکسین و سیتوکینین بر ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر استویا و دستیابی به ویژگی‌های مطلوبی از آن انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تاثیر دو هورمون اکسین و سیتوکینین بر ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر استویا (رقم شیرین) آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی، در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد با ۴ تکرار اجرا گردید. بذرهای تهیه شده از شرکت هندی (Global Horticulture Products)، به‌وسیله هورمون اکسین(IAA) در غلظت‌های صفر (هیدرو پرایمینگ با آب مقطر)، ۰/۱، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ پی‌پی‌ام و هورمون سیتوکینین (PBA) در غلظت‌های صفر (هیدرو پرایمینگ با آب مقطر)، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ پی‌پی‌ام به صورت ترکیبی پرایم شدند. در هر تکرار ۱۰۰ عدد بذر در داخل هر پتری شسته شده با اسید به ابعاد (۱۰×۱/۵ سانتی متر) روی کاغذ واتمن شماره ۱ قرار گرفت و به هر پتری آب مقطر یا محلول مورد نظر (درمجموع ۱۰ میلی لیتر) بسته به نوع تیمار افزوده شد. به‌منظور کاهش میزان تبخیر آب دور پتری‌ها با پارافیلم بسته شد. سپس پتری‌ها به درون ژرمیناتوری با دمای ۱± ۲۵ (Razak et al., 2014)، رطوبت نسبی ۷۰٪ ، ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی (Zeng et al., 2013) منتقل شدند. شمارش روزانه بذرهای جوانه‌زده از روز دوم تا زمان ثابت شدن جوانه‌زنی (۷ روز) به صورت روزانه در ساعتی معین انجام گرفت. معیار بذرهای جوانه‌زده خروج ریشه‌چه به اندازه ۲ میلی‌متر یا بیشتر بود.

به‌منظورمحاسبه پارامترهای مورد نظر از روابط زیر استفاده شد. میانگین مدت زمان جوانه‌زنی (MGT) که شاخصی از سرعت و شتاب جوانه‌زنی محسوب می‌گردد با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Ellis and Roberts, 1981).

$$MGT=\sum(ni\times di)/\sum ni \qquad (۱)$$

در این رابطه ni و di به ترتیب تعداد بذور جوانه‌زده در روز iام و روزiام می‌باشد. سرعت جوانه‌زنی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (Stephanie et al, 2005).

$$RG=\frac{1}{MGT} \qquad (۲)$$

درصد جوانه‌زنی با استفاده از فرمولی که توسط AOSA پیشنهاد شده، محاسبه شد (Ayub et al., 2013).

$$GP=\frac{No.of\ germinated\ seeds}{Total\ No.of\ seeds}\times 100 \qquad (۳)$$

شاخص وزنی و طولی بنیه بذر به روش زیر محاسبه شد (Abdul-Baki and Anderson, 1973).

(۴)

شاخص وزنی بنیه بذر= وزن خشک گیاهچه × قابلیت جوانه زنی

(۵)

شاخص طولی بنیه بذر= طول گیاهچه× قابلیت جوانه‌زنی

زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی از رابطه زیر به‌دست آمد (Farooq et al., 2005).

$$T_{50}=t_i+\left[\frac{\frac{N}{2}-ni}{nj-ni}\right](tj-ti) \qquad (۶)$$

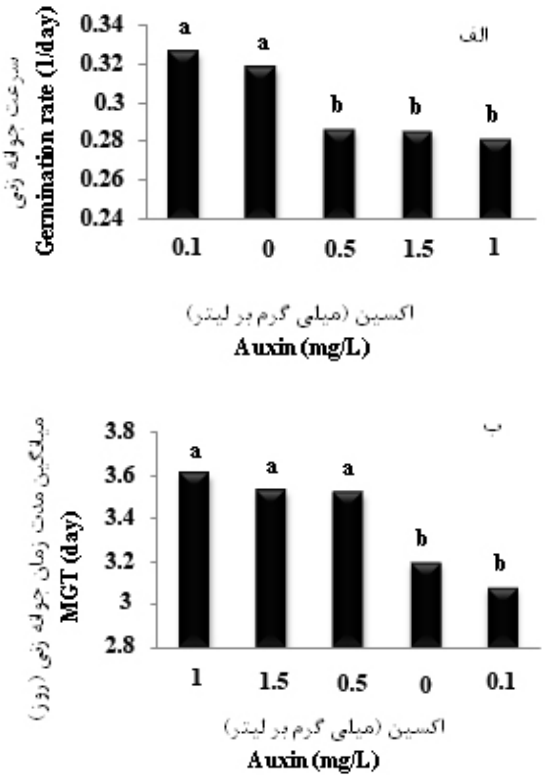
T_{10}، T_{25}، T_{75} و T_{90} نیز مطابق فرمول محاسبه شد و تنها (N/2) در فرمول با توجه به درصد مورد نظر تغییر کرد. تجزیه داده‌های حاصل توسط نرم افزار MSTAT-C و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

اثر اکسین

با توجه به نتایج این تحقیق اثر غلظت‌های مختلف اکسین بر سرعت جوانه‌زنی معنی‌دار (P<۰/۰۱) بود (جدول۱). این نتیجه در پژوهشی که توسط اقبال و همکاران (Iqbal et al., 2006) انجام گرفت نیز گزارش شد. به‌طوری که اکسین توانست اثر معنی‌داری بر سرعت جوانه‌زنی نشان دهد. بیشترین سرعت جوانه‌زنی با میانگین ۰/۳۲ در کمترین سطح پرایم با اکسین (۰/۱ ppm) به‌دست آمد که از نظر آماری با شاهد تفاوت معنی‌داری نشان نداد و در مقایسه با بالاترین غلظت اکسین (۱/۵ppm) افزایش ۱۲/۵ درصدی را باعث شد (شکل۱، الف). در تحقیقی که توسط عالیوند و همکاران (Alivand et al., 2012) بر روی کلزا انجام گرفت تیمار بذرها با اسید آسکوربیک نسبت به شاهد، خصوصیات جوانه‌زنی را بهبود بخشید. همچنین در آزمایشی بر روی دو رقم گوجه‌فرنگی، نتایج حاکی از تاثیرپذیری سرعت جوانه‌زنی از تیمارهای مختلف هورمونی بود (Arbaoui et al., 2015). از طرفی در این آزمایش، پرایم با غلظت‌های مختلف این هورمون بر همگنی جوانه‌زنی اثری نداشت (جدول۱) که این مساله در آزمایشی که توسط انصاری و همکاران (Ansari et al., 2013) بر روی بذرهای چاودار انجام گرفت گزارش شد.

در استویا، بذرهای هیدروپرایم شده از بذرهای پرایم شده زودتر به ۱۰٪ جوانه‌زنی رسیدند (شکل۲، ب) و در نتیجه زمان رسیدن تا ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۹۰ درصد جوانه‌زنی در بذرهای هیدروپرایم شده سریع‌تر اتفاق افتاد. این در حالی است که در تمام موارد هیدروپرایم بذرها (تیمار شاهد) با تیمار ۰/۱ پی‌پی‌ام اکسین تفاوت معنی‌داری در زمان تا درصد خاصی از جوانه‌زنی ایجاد نکرد. به‌طور کلی پرایم بذرها با غلظت‌های بالایی از اکسین منجر به جوانه‌زنی دیرتر بذرها شد (شکل‌های ۲، ۳ و ۴). به‌طوری که پرایم بذرها با ۱/۵ پی‌پی‌ام اکسین در مقابل ۰/۱ پی‌پی‌ام اکسین مدت زمان تا رسیدن به ۱۰٪ جوانه‌زنی را حدود ۲۲/۹۲ درصد به تاخیر انداخت. از طرفی پرایم بذرها با ۰/۱ پی‌پی‌ام و هیدروپرایم منجر به کمترین MGT (۳/۰۷ و ۳/۱۸ روز) شدند. این در حالی است که غلظت‌های بالاتر از ۰/۱ پی‌پی‌ام موجب افزایش آن شد (شکل۱، ب). با توجه به این موضوع که زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی یک پارامتر مهم برای تعیین بنیه و همگنی جوانه‌زنی در بذرهایی است که T_{50} کمتری را نشان می‌دهند (Nawaz et al., 2013) در این آزمایش تیمار بذرها با ۰/۱ پی‌پی‌ام اکسین و همچنین هیدروپرایم بذرها با توجه به ثبت کمترین T_{50} و همچنین نشان دادن کمترین زمان تا رسیدن به ۱۰، ۲۵، ۷۵ و ۹۰ درصد جوانه‌زنی، برای رسیدن به ویژگی‌های جوانه‌زنی بهتر و نهایتاً استقرار بهتر محصول، قابل توصیه خواهند بود.



شکل۱. اثر اکسین بر سرعت جوانه‌زنی (شکل الف) و میانگین مدت زمان جوانه‌زنی (شکل ب) در بذرهای استویا.

Fig 1. Effect of Auxin on germination rate (Fig A) and mean germination time (Fig B) in Stevia seeds.

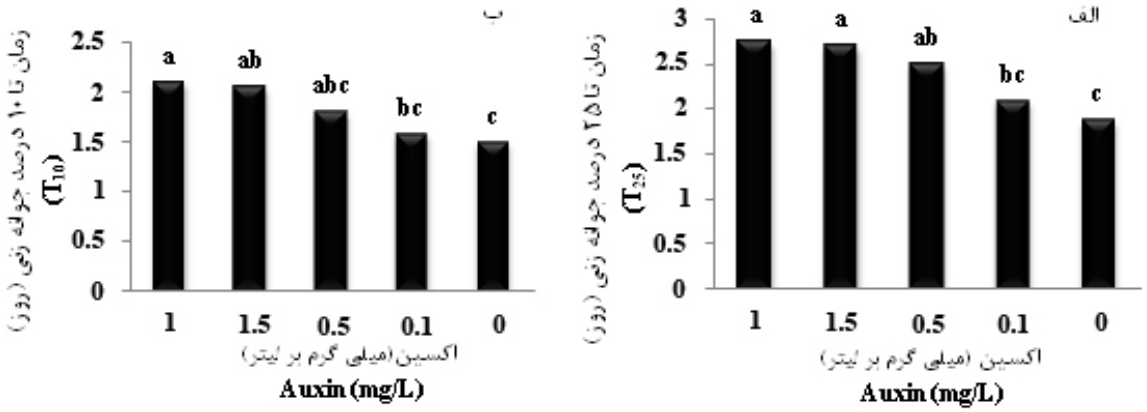
جدول۱- تجزیه واریانس میانگین مربعات صفات استویا تحت تاثیر سطوح مختلف هورمونی

Table 1- Mean square of Analysis variance steia traits under different levels of the hormone

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	میانگین مربعات(MS)											
		درصد جوانه زنی GP	تعداد بذر نرم Soft seed	متوسط زمان جوانه زنی MGT	نرخ جوانه زنی Germination rate	همگنی جوانه زنی Uniformity germination	شاخص وزنی بنیه بذر seed weight vigor index	شاخص طولی بنیه بذر Seed length vigor index	زمان تا جوانه‌زنی Time to germination				
									T_{10}	T_{25}	T_{50}	T_{75}	T_{90}
سیتوکینین Cytokinin	4	58.83^{ns}	0.84^{ns}	0.58^{**}	0.0042^{*}	0.0109^{ns}	9.63^{*}	3.96^{ns}	0.52^{ns}	1.09^{ns}	0.48^{ns}	0.12^{ns}	0.019^{ns}
اکسین Oxin	4	58.83^{ns}	0.51^{ns}	0.82^{**}	0.0066^{**}	0.0005^{ns}	6.92^{*}	10.82^{**}	1.11^{*}	2.23^{**}	0.99^{**}	0.24^{**}	0.039^{**}
سیتوکینین×اکسین Cytokinin× Oxin	16	250.08^{**}	9.82^{*}	0.09^{ns}	0.0006^{ns}	0.0119^{ns}	7.00^{*}	4.38^{*}	0.11^{ns}	0.19^{ns}	0.08^{ns}	0.02^{ns}	0.003^{ns}
خطا Error	50	105.33	4.68	0.11	0.0009	0.0100	2.72	2.06	0.38	0.54	0.24	0.06	0.009
ضریب تغییرات (%CV)		22.08	22.8	10.1	10.3	7.5	24.5	23.5	21.3	19.5	13.7	5.1	1.7

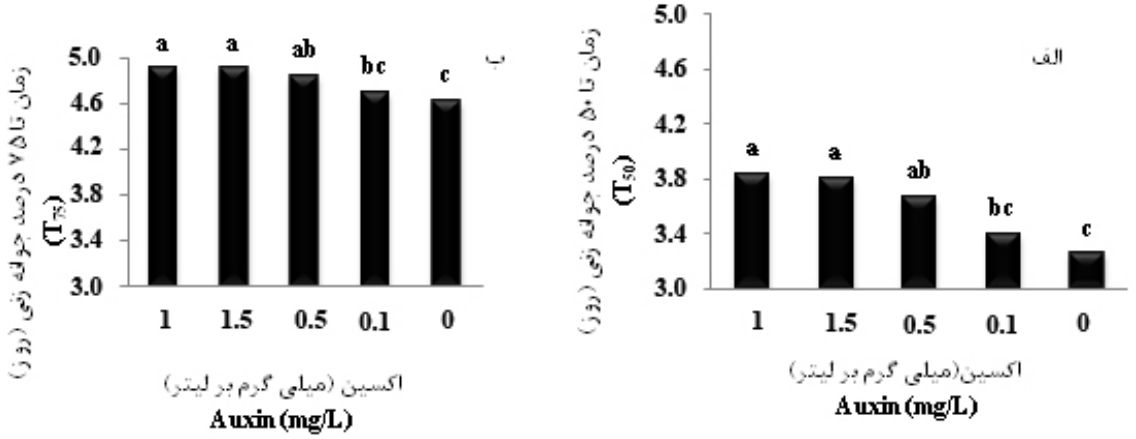
ns،* و به ترتیب غیرمعنی دار، معنی دار درسطح احتمال ۵ و۱ درصد.**

ns, * and ** show no significant, significant at level 5% and significant at level 1% respectively



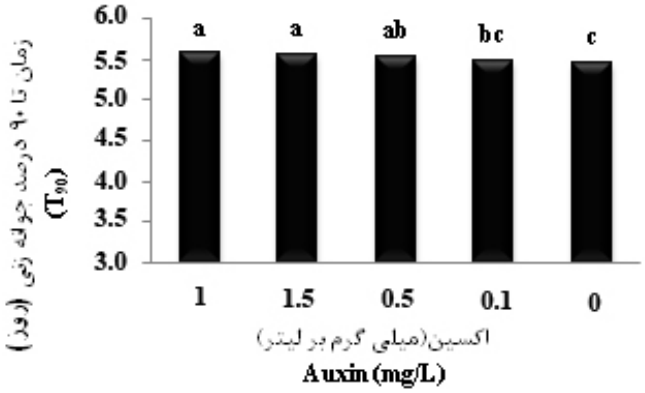
شکل۲. اثر اکسین بر T_{25} (شکل الف) و T_{10} (شکل ب) دربذرهای استویا.

Fig 2. Effect of Auxin on T_{25} (Figure A) and T_{10} (Figure B) in Stevia seeds.



شکل۳. اثراکسین بر T_{50} (شکل الف) و T_{75} (شکل ب) در بذرهای استویا.

Fig 3. Effect of Auxin on T_{50} (Figure A) and T_{75} (Figure B) in Stevia seeds.



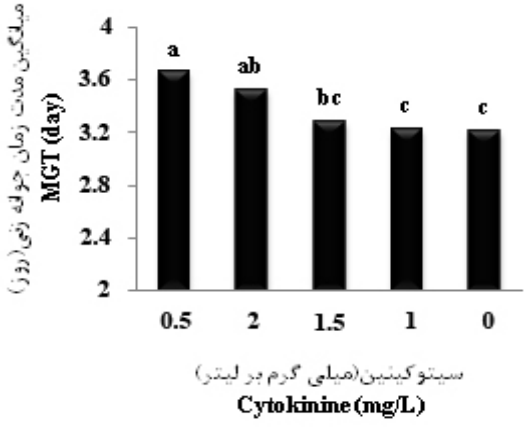
شکل۴. اثراکسین بر T_{90} بذرهای استویا.

Fig 4. Effect of Auxin on T_{90} in Stevia seeds.

اثر سیتوکینین

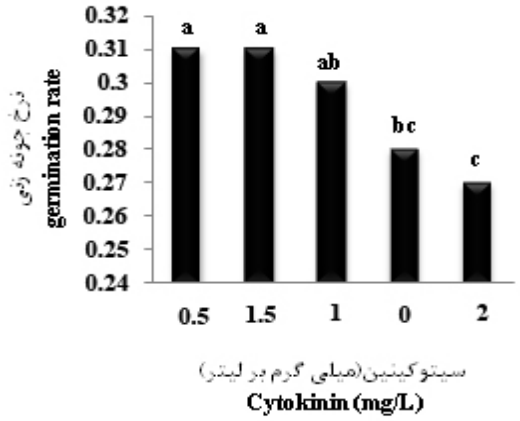
نتایج تجزیه واریانس صفات استویا (جدول۱) نشان از معنی داری (P<۰/۰۱) اثر سیتوکینین بر میانگین مدت زمان جوانه‌زنی داشت. بالاترین مقدار برای این صفت (۳/۶ روز) در پرایم بذرها با ۰/۵ پی‌پی‌ام از هورمون سیتوکینین به‌دست آمد. هیدروپرایم بذرها توانست کمترین MGT (۳/۲ روز) را ثبت کند که البته با پرایم ۱ و ۱/۵ پی‌پی‌ام تفاوت معنی داری نشان نداد در عین حال تیمار بذرها با ۱ پی‌پی‌ام در مقابل هیدروپرایم اختلاف اندکی، حدود ۰/۶۱ درصد بر این صفت نشان داد که قابل چشم پوشی است. بر خلاف اکسین که در غلظت‌های پایین آن کمترین MGT مشاهده گردید، غلظت ۱ و ۱/۵ پی‌پی‌ام سیتوکینین بر کاهش این صفت موثر بود (شکل ۵). الهی-فرد و راشد محصل (Elahifard and Rashedmohassel, 2010) در بررسی خود بر چند گونه علف هرز بیان کردند که کینیتین تاثیر قابل توجهی بر کاهش میانگین مدت زمان جوانه‌زنی داشت، چنانکه تیمار بذرها با ۱۰ پی‌پی‌ام کینیتین کمترین MGT را نشان داد. به طور کلی با مقایسه اثر این دو هورمون بر MGT می‌توان گفت که اکسین نسبت به سیتوکینین بر این صفت تاثیرگذارتر بوده چنانچه پرایم با ۰/۱ پی‌پی‌ام اکسین نسبت به ۱ پی‌پی‌ام سیتوکینین افزایش ۴/۹۵ درصدی را در این صفت ایجاد نمود.

اثر سیتوکینین نیز همانند اکسین بر سرعت جوانه‌زنی معنی‌دار بود (P<۰/۰۵) اما تأثیر اکسین از سیتوکینین بیشتر بود. با توجه به پاسخ‌های متفاوت ارقام مختلف به عوامل پرایمینگ در بررسی اقبال و همکاران (Iqbal et al., 2006) نیز، اکسین و سیتوکینین بر سرعت جوانه‌زنی تاثیر گذار بودند اما تاثیر سیتوکینین بیشتر از اکسین بر جوانه-زنی موثر بود و توانست تحت تنش شوری سرعت جوانه-زنی را در ارقام متحمل به شوری افزایش دهد. پرایمینگ بذرها با ۰/۵ و ۱/۵ پی‌پی‌ام از هورمون سیتوکینین توانست بیشترین سرعت جوانه‌زنی (۰/۳۱درصد) را ایجاد نماید. افزایش غلظت از ۱/۵ به ۲ پی‌پی‌ام این صفت را معادل ۱۲/۹ درصد کاهش داد (شکل ۶).



شکل۵. اثرسیتوکینین برمیانگین مدت زمان جوانه‌زنی در بذرهای استویا.

Fig 5. Effect of cytokinin on mean germination time in Stevia seeds.

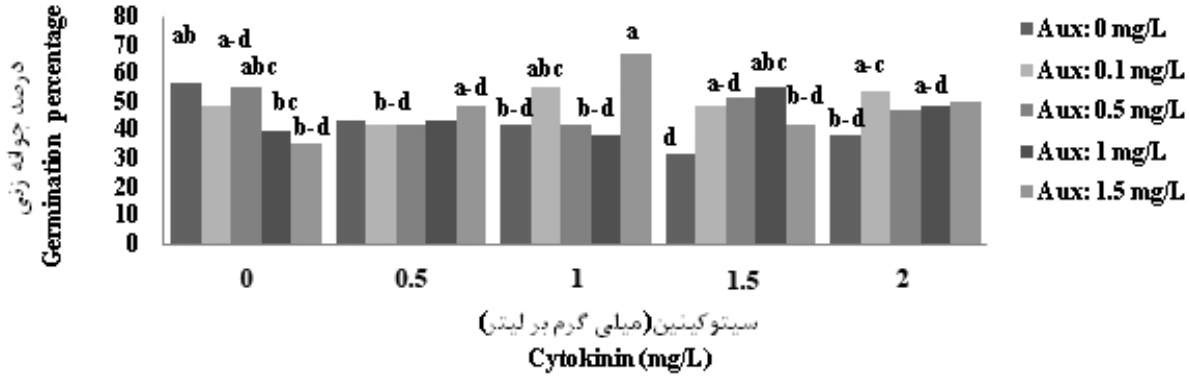


شکل۶. اثرسیتوکینین بر سرعت جوانه‌زنی در بذرهای استویا.

Fig 6. Effect of cytokinin on germination rate in Stevia seeds.

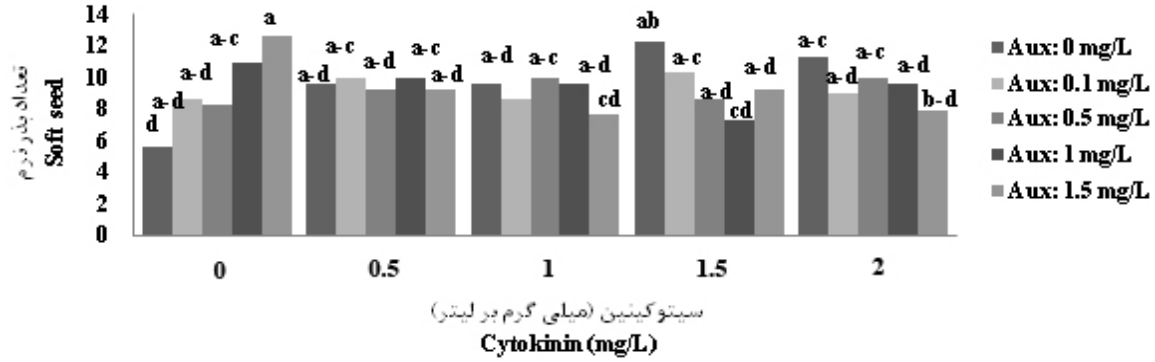
اثرات متقابل اکسین و سیتوکینین

نتایج (جدول ۱) نشان داد که اثر متقابل IAA در PBA بر درصد جوانه‌زنی و تعداد بذر نرم معنی‌دار بود (P<۰/۰۱). با توجه به نتایج شکل ۷، ترکیب تیماری IAA+PBA (۱/۵+۱mg/L) با ۶۶/۶۶ درصد بیشترین جوانه‌زنی را نشان داد. به کارگیری مواد رشد گیاهی به تنهایی و یا در ترکیب با هم فعالیت‌های متابولیکی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Bewley and Black, 1985). سیتوکینین‌ها با تحریک سنتز DNA و RNA فرآیند تقسیم سلولی در رویان را افزایش می‌دهند (Yakimova et al, 2000). اکسین‌ها به خودی خود هورمون ضروری برای جوانه‌زنی بذرها نیستند (Miransari and Smith, 2014) و از طریق کمک به طویل شدن کلئوپتیل و کلئوریز (در گندمیان) و نیز با فعال نمودن زمین‌گرایی و نورگرایی، رشد رویان و نهایتاً جوانه‌زنی را تنظیم می‌کنند (Nabaei et al., 2012). نتایج این تحقیق نشان داد که تیمار دارای غلظت بالای سیتوکینین (۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر) بدون حضور اکسین سبب کمترین درصد جوانه‌زنی (۳۱/۶۷ درصد) و در نتیجه بیشترین تعداد بذر نرم شد (شکل‌های ۷ و ۸). بنابراین حضور این دو هورمون در کنار هم و در غلظت‌های مناسب می‌تواند در جوانه‌زنی موثر باشد. العربی و حجازی (El-Araby and Hegazi, 2004) بیان کردند که پیش‌تیمار هورمونی موجب افزایش سطوح آنزیم کاتالاز و پراکسیداز شده و شاخص‌های جوانه‌زنی را افزایش می‌دهد. بر این اساس به نظر می‌رسد در بین ترکیب‌های اعمال شده ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر IAA به همراه ۱ میلی‌گرم بر لیتر PBA برای به حداکثر رسیدن پویایی اندوخته‌های غذایی موجود در بذر و نهایتاً جوانه-زنی سریع‌تر پس از تیمار مناسب باشد و درصد و سرعت جوانه‌زنی را بهبود بخشد.



شکل۷. اثر متقابل اکسین و سیتوکینین بر درصد جوانه‌زنی بذرهای استویا.

Fig 7. Auxin and cytokinin interaction on germination percentage of Stevia seeds.

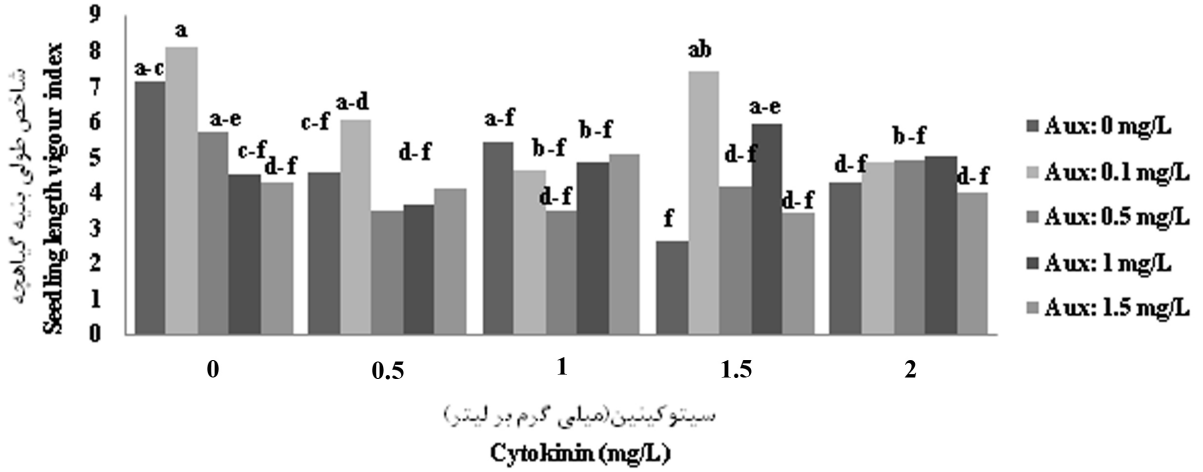


شکل ۸. اثر متقابل اکسین و سیتوکینین بر تعداد بذر نرم دراستویا.

Fig 8. Auxin and cytokinin interaction on Number of soft seed in Stevia.

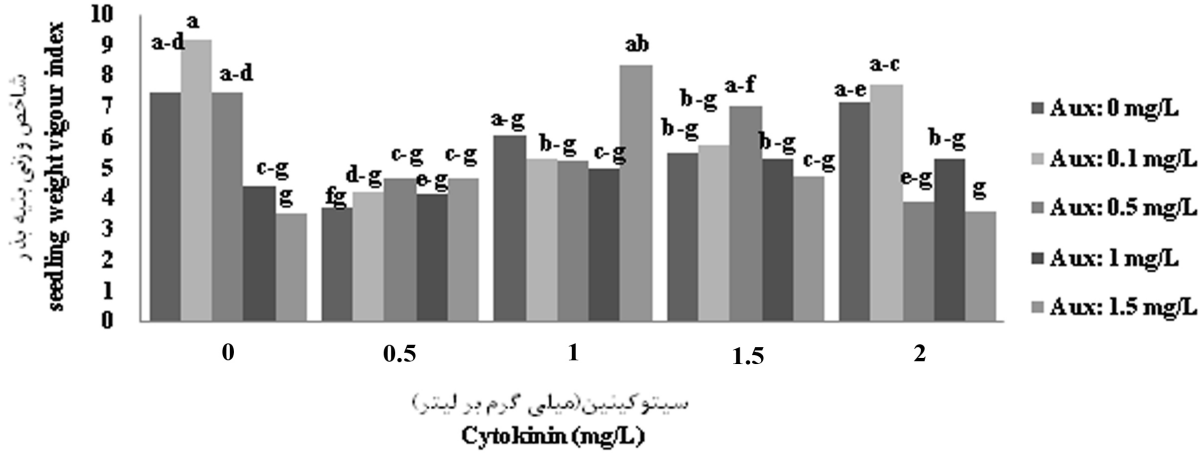
بنیه بذر

شاخص بنیه بذر از صفات مهم در مطالعات جوانه‌زنی به شمار می‌آید. بذری که از درصد و سرعت جوانه‌زنی بالایی برخوردار باشد، دارای بنیه بیشتری خواهد بود. اثرات متقابل اکسین در سیتوکینین بر شاخص وزنی و طولی بنیه بذر در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین و کمترین شاخص طولی بنیه بذر به ترتیب در تیمار ۰/۱ پی‌پی‌ام اکسین به همراه عدم استفاده از سیتوکینین با میانگین ۸/۱۳ و عدم تیمار اکسین به همراه ۱/۵ پی‌پی‌ام سیتوکینین با میانگین ۲/۶۸ مشاهده شد (شکل۹). به عبارتی بیشترین شاخص طولی بنیه بذر در کمترین غلظت از هورمون اکسین و کمترین مقدار برای این صفت در غلظت‌های بالایی از هورمون سیتوکینین مشاهده شد. بالاترین شاخص وزنی بنیه بذر در ۰/۱ پی‌پی‌ام اکسین به همراه عدم تیمار با سیتوکینین با میانگین ۹/۱۷ و بعد از آن در ترکیب تیماری IAA+PBA (۱/۵+۱mg/L) با میانگین ۸/۳۵ مشاهده شد (شکل۱۰).



شکل۹. اثر متقابل اکسین و سیتوکینین بر شاخص طولی بنیه بذردر استویا.

Fig 9. Auxin and cytokinin interaction on Seed length vigor index in Stevia.



شکل۱۰. اثر متقابل اکسین و سیتوکینین بر شاخص وزنی بنیه بذر در استویا.

Fig 10. Auxin and cytokinin interaction on seed weight vigor index in Stevia.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست آمده در مرحله جوانه‌زنی بذرهای استویا، مقایسه اثرات دو هورمون بر مؤلفه‌های جوانه‌زنی حاکی از تأثیرگذاری بیشتر هورمون اکسین در مقابل سیتوکینین بر صفات مورد بررسی بود. در بین غلظت‌های اکسین کمترین میانگین مدت زمان جوانه‌زنی و در مقابل بیشترین سرعت جوانه‌زنی در تیمار بذرها با ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر اکسین مشاهده شد که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد. از طرفی زمان رسیدن به درصد خاصی از جوانه‌زنی شاخصی است که به شدت تحت تأثیر شرایط حاکم بر جوانه‌زنی قرار می‌گیرد و در بین تیمارها فقط تاثیر هورمون اکسین بر این صفت معنی‌دار بود. کمترین غلظت این هورمون موجب کاهش این زمان شد. در حالی که از نظر آماری با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد. بنابراین، خیساندن بذرها با آب مقطر را می‌توان به عنوان یک راهکار برای جوانه‌زنی سریع‌تر و در عین حال رسیدن به همگنی بیشتر و همچنین صرفه اقتصادی آن در مقابل تیمار هورمونی پیشنهاد کرد. همچنین با توجه به اینکه بیشترین جوانه-زنی در ترکیب تیماری (۱/۵+۱mg/L) IAA+PBA به‌دست آمد برای جوانه‌دار کردن بذرهای استویا، تیمار بذرها با این ترکیب هورمونی احتمالاً مفید و قابل توصیه باشد.

منابع

AbdulBaki, A.A., Anderson, J. D., 1973. Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. Crop Science. 13 (6), 630-633.

Afzal, I., Ahmad, N., Basra, S. M. A., Ahmad, R., Iqbal, A., 2002. Effect of different seed vigour enhancement techniques on hybrid maize (*Zea mays L.*). Pakistan Journal of Agricultural Sciences. 39, 109-112.

Alivand, R., TavakolAfshar, R., Sharifzadeh, F., 2012. Effects of Gibberellin, Salicylic Acid, and Ascorbic Acid on Improvement of Germination Characteristics of Deteriorated Seeds of *Brassica Napus.* Iranian Journal of Sciences Crop Plants. 4 (43), 561-571. [In Persian]

Ansari, O., Azadi, M.S., Sharif Zadeh, F., Younesi, E., 2013. Effect of Hormone Priming on Germination Characteristics and Enzyme Activity of Mountain Rye (*Secale montanum*) Seeds under Drought Stress Conditions. Journal of Stress Physiology and Biochemistry. 3 (9), 61-71.

Arbaoui, M., Yahia, N., Belkhodja, M., 2015. Germination of the tomato (*Lycopersicon esculentum Mill.*) in response to salt stress combined with hormones. International Journal of Agronomy and Agricultural Research. 7 (3),14-24.

Ayub, M., Ibrahim, M., Noorka, I. R., Tahir, M., Tanveer, A., Ullah, A., 2013. Effect of seed priming on seed germination and seedling growth of garden cress (*Lepidium sativum L.*). International Journal of Agriculture and Applied Sciences. 5 (2), 1-5.

Azarnia, M., Eisvand, H.R., 2013. Effects of Hydro and Hormonal Priming on Yield and Yield Components of Chickpea in irrigated and rain-fed conditions. Journal of Crop Production. 6 (4), 1-18. [In Persian with English Summary]

Bagheri, A., Bagherifard, A., Saborifard, H., Ahmadi, M., Safarpoor, M., 2014. Effects drought, cytokinin and GA3 on seedling growth of basil (*Ocimum basilicum*).International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research. 4 (2), 489-493.

Bewley, J.D., Black, M., 1985. Seeds: Physiology of development and germination, Plenum Press, New York.

Campbell, J. A., Naidu, B. P., Wilson, J. R., 1999. The effect of glycinebetaine application on germination and early growth of sugarcane. Seed Science and Technology. 27, 747-752.

Chiwocha, S. D., Cutler, A. J., Abrams, S. R., Ambrose, S. J., Yang, J., and et al. 2005. The etr1-2mutation in *Arabidopsis thaliana* affects the abscisic acid, auxin, cytokinin and gibberellin metabolic pathways during maintenance of seed dormancy, moist-chilling and germination. The Plant Journal. 42 (1), 35–48.

Durr, C., Boiffin, J., 1995. Sugarbeet seedling growth from germination to first leaf stage.The Journal of Agricultural Science. 124, 427-435.

Elahifard, A., Rashedmohassel, M.H., 2010. Study on allelopathic potential of soybean shoots (*Glysine max*) on germination and early growth of several species of weeds. Iranian Journal of agricultural research. 8 (2), 359-367. [In Persian with English Summary]

El-Araby, M. M., Hegazi, A. Z., 2004. Responses of tomato seeds to hydro- and osmo- priming and possible relations of some antioxidant enzyme and endogenous polyamine fractions. Egyptian Journal of Biology. 6 (1), 81-93.

Ellis, R. H., Roberts, E. H., 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. Seed Science and Technology. 9, 377-409.

Farooq, M., Basra, S. M. A., Ahmad, N., Hafeez, K., 2005. Thermal hardening: a new seed vigor enhancement tool in rice. Journal of Integrative Plant Biology. 47 (2), 187-193.

Farooq, M., Basra, S. M. A., Saleem, B.A., Nafees, M., Chishti, S.A., 2005. Enhancement of tomato seed germination and seedling vigor by osmoprming. Pakistan Journal of Agriculture Science. 42, 36-41.

Ghasemi Lemraski, M., 2013., The effect of seed priming on the germination of wheat (*Triticum aestivum* L.). Iranian Journal of Sciences and Seed Technology. 3 (1), 1-9. [In Persian]

Harris, D., 2001. Development and testing of on-farm seed priming. Advances in Agronomy. 90, 129-178.

Hentrich, M., Bottcher, C., Duchting, P., Cheng, Y., Zhao, Y., Berkowitz, O., Pollmann, S. 2013. The jasmonic acid signaling pathway is linked to auxin homeostasis through the modulation of YUCCA8 and YUCCA9 gene expression. The Plant Journal. 74 (4), 626-637.

Iqbal, M., Ashraf, M., Jamil, A., 2006. Seed enhancement with cytokinins: changes in growth and grain yield in salt stressed wheat plants. Plant Growth Regulation. 50 (1), 29-39.

Maku, J. O., Gbadamosi, A. E., Oke, S. A., 2014. Effect of some growth hormones on seed germination and seedling growth of *Tetrapleura tetraptera* (Thaub). International Journal of Plant Research, 4 (1), 36-42.

Miransari, M., Smith, D. L., 2014. Plant hormones and seed germination. Environmental and Experimental Botany. 99, 110-121.

Nabaei, M., Roshandel, P., Mohamadkhani, A.A., 2012. The effect of plant growth regulators on seed germination milk thistleplant (*Silybum marianum* L.). Journal of Cells and Tissues. 4 (1), 114-45. [In Persian with English Summary]

Nawaz, A., Amjad, M., Khan, S. M., Afzal, I., Ahmed, T., Iqbal, Q., Iqbal, J., 2013. Tomato seed invigoration with cytokinins. Journal of Animal and Plant Sciences. 23 (1), 121-128.

Oddone, B., 1997. How to Grow Stevia.Technical Manual.Guarani Botanicals, Pawtucket, CT.

Raina, R., Bhandari, S., Chand, R., Sharma, Y., 2013. Strategies to improve poor seed germination in Stevia rebaudiana, a low calorie sweetener. Journal of Medicinal Plants Research. 7 (24), 1793-1799.

Ramesh, K., Singh, V., Megeji, N. W., 2006. Cultivation of stevia [*Stevia rebaudiana (Bert.)Bertoni*]: A comprehensive review. Advances in Agronomy. 89, 137-177.

Razak, U. N. A. A., Ong, C. B., Yu, T. S., Lau, L. K., 2014. In vitro micropropagation of *Stevia rebaudiana* Bertoni. in Malaysia. Brazilian Archives of Biology and Technology. 57 (1), 23-28.

Sneideris, L. C., Gavassi, M. A., Campos, M. L., D-Amico-Damiao, V., Carvalho, R. F., 2015. Effects of hormonal priming on seed germination of pigeon pea under cadmium stress. Anais da Academia Brasileira de Ciencias. 87 (3), 1847-1852.

Stephanie, E. B., Svoboda. V. P., Paul, A. T., Marc, W. V. I., 2005. Controlled drought affects morphology and anatomy of *Salvia splendens*. American Society for Horticultural Science. 130, 775-781.

Yadav, A. K., Singh, S., Dhyani, D., Ahuja, P. S., 2011. A review on the improvement of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni.). Canadian Journal of Plant Science. 91 (1), 1-27.

Yakimova, E., Kapchina, V., Groshkoff, I., Ivanova, G., 2000. Effects of BA and CPPU on protease and α-amylase activity of in vitro cultured explants of *Rosa hybrida* L. Bulgarian Journal of Plant Physiology. 26 (1-2), 9-47.

Zeng, J., Chen, A., Li, D., Yi, B., Wu, W., 2013. Effects of Salt Stress on the Growth, Physiological Responses, and Glycoside Contents of *Stevia rebaudiana* Bertoni. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 61 (24), 5720-5726.

Journal of Seed Ecophysiology

Vol 2, No 1, 2017

33 - 46

University of Birjand

Effect of different levels of hormonal priming on germination characteristics, time to different percentages of germination, mean germination time, Germination rate and Seed vigor of Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni.)

Razieh Sarami[11], Heshmat Omidi[2*], Abdul Amir Bostani[3]

1. M.Sc., Seed science and technology Department of Agronomy, Shahed University, Tehran
2. Assistant Professor, Agricultural College and Medicinal Plant Research Center, Shahed University, Tehran
3. Deparment of Soil Sciences, Faculty of Agriculture Science, Shahed University, Tehran, Iran

Received 19 June 2016; Accepted 31 January 2017

Abstract

Introduction: Seed germination is the first plant developmental stage and one of the most important stages in the life cycle of plants and plays an important role in crop establishment. This stage of development is strongly influenced by environmental factors. At between seed improvement techniques, Seed priming is a promising technique for overcoming on associated problems with poor germination and then irregular establishment of crop under normal and stressful conditions. So that, primed seeds tend to show better germination and growth even when imposed to stressful conditions. There are several different methods for seed priming includes hydro--priming and hormone priming. According to the researchers, *Stevia rebaudiana* is a slender herb. Short day, perennial native to Paraguay and South-West Brazil. It is widely distributed in USA, Brazil, Japan, Korea, Taiwan and South-East Asia. It belongs to the family Asteraceae. Reproduction in the wild is mainly through seed, but seed viability is poor and highly variable. Therefore, in order to investigate the effects of priming on seed germination characteristics of Stevia, this plant selected and in experiment was studied.

Materials and methods: In order to investigate the effect of two auxin (indole-3-acetic acid) and cytokinin (Tetra hydro pyranyl benzyl adenine) hormones on germination characteristics of Stevia seeds, experiment was used. The experiment was a conducted in factorial completely randomized design with 4 replications in seed technology laboratory of Shahed University in 2015. The seeds by auxin (IAA) at concentrations of zero (hydro-priming with distilled water), 0.1, 0.5, 1 and 1.5 ppm and cytokinin hormone (PBA) in concentrations of zero (hydro-priming with distilled water), 0.5, 1, 1.5 and 2 ppm in combination were primed. Then Petri dishes prepared on contain treated seed, were transferred into the germinator with temperature 25±1 degree centigrade, Relative humidity 70%, 16 hours of light and 8hours of darkness. Daily counting of germinated seeds was performed from second day until germination fixed at a specified time and during the counting, a seed were considered germinated when its radical length 2 mm or exceeds 2 mm. Thus Traits include mean germination time, Germination rate, Germination Percentage, seed vigor and time to different percentages of germination, was measured.

*Correspondent author Email: omidi@shahed.ac.ir

Results and discussion: In study effect of auxin (IAA) on germination characteristics of Stevia seeds, the results showed that highest germination rate and lowest mean germination time (3.07 day) in seeds were observed when treated with 0.1 ppm auxin. Lowest time to10, 25, 50, 75and 90 germination percent were recorded with seeds hydro-priming with distilled water. Therefore, hydro-primed seeds than primed seeds, arrived earlier to 10% germination. Also, significant differences not were observed between different concentrations of auxin for percentage and uniformity of germination. In study effect of Cytokinin (PBA), lowest mean germination time in seeds was observed when treated with hydro-priming and 1ppm of PBA hormone. Also Seeds treatment with 0.5 ppm and 1.5 ppm PBA Showed highest germination rate. In study effects of interaction of auxin and cytokinin on germination characteristics of Stevia seeds, Composition IAA+PBA(1.5+1ppm), led to largest germination percentage of seed (66.66%) and thus lowest number of seeds soft. Highest length vigor (with mean 8.13) were obtained in seeds treatment with IAA+PBA (0.1+0 ppm) and lowest length vigor (with mean 2.68) in seeds treatment with high concentrations from hormone of cytokinin (1.5 ppm). on the other hand highest weight vigor (with mean 9.17) were observed in seeds treatment with 0.1 ppm IAA. In general, according to the results, the impact of IAA compared to PBA more was on studied traits in this research. However, hydro-priming also showed a positive effect on the majority of traits. Thus for the production of Stevia seed with germination rate, Speed of germination and high vigor use of auxin in low concentrations is recommended. For achieve more germination percentage combination treatment IAA + PBA (1.5+1 ppm) can be suggested.

Keywords: **Auxin, Vigor, Cytokinin, Germination percentage, Hydro-priming.**