علوم و تحقیقات بذر ایران
سال سوم/ شماره دوم/ ۱۳۹۵ (۱۰۸ - ۹۷)

تأثیر هورمون‌پرایمینگ و هیدروپرایمینگ بر جوانه‌زنی بذر استویا (*Stevia rebaudiana Bertoni*) تحت تنش شوری

مهدی عقیقی شاهوردی*[۱]، حشمت امیدی[۲]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۶/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۹/۱

چکیده

به منظور بررسی تأثیر مدت زمان هورمون‌پرایمینگ و هیدرو پرایمینگ بر جوانه‌زنی بذر استویا در شرایط تنش شوری آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشگاه شاهد تهران در سال ۱۳۹۴ انجام گرفت. فاکتورهای مورد مطالعه عبارت بودند از پیش‌تیمار بذر با هورمون اسید جیبرلیک و آب مقطر در چهار زمان صفر، ۱۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت و تنش شوری در پنج سطح صفر، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر. صفات درصد و سرعت جوانه‌زنی، متوسط زمان جوانه‌زنی، متوسط جوانه‌زنی روزانه، سرعت جوانه‌زنی روزانه و ارزش جوانه‌زنی اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد اثر متقابل شوری در زمان‌های مختلف پرایمینگ با اسید جیبرلیک تأثیر معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، متوسط جوانه‌زنی روزانه و ارزش جوانه‌زنی داشت. بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی در اثر متقابل شوری ۵ دسی-زیمنس بر متر در ۴۸ ساعت پرایمینگ بذر با اسید جیبرلیک (۵۹/۱۶ درصد) و بیشترین سرعت جوانه‌زنی در شوری ۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر در ۴۸ ساعت پرایمینگ با اسید جیبرلیک (۴/۲۴ بذر در روز) مشاهده شد. بالاترین سرعت جوانه‌زنی روزانه در بذوری دیده شده که در شوری صفر دسی‌زیمنس بر متر تحت ۱۶ ساعت هیدروپرایمینگ و ۲۴ ساعت هورمون-پرایمینگ قرار گرفته بودند. پرایمینگ بذر استویا با اسید جیبرلیک در مدت زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت توانست پارامترهای جوانه-زنی بذر استویا را بهبود بخشد. شوری بیش‌تر از ۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر نیز باعث افت معنی‌دار برخی از پارامترهای جوانه‌زنی (درصد و سرعت جوانه‌زنی) شد.

واژه‌های کلیدی: استویا، بذر، پرایمینگ، جوانه‌زنی، شوری

۱- دانشجوی دکتری زراعت، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد تهران
۲- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد تهران
* نویسنده مسئول: aghighim@yahoo.com

مقدمه

استویا با نام علمی *Stevia rebaudiana* Bertoni، گونه‌ای نسبتاً چندساله، بوته‌ای و کوتاه قد، از خانواده کاسنی و تیره مرکبان (*Acetracea*) و گیاهی علفی است (Hossein *et al*., 2008). گیاه استویا به‌دلیل گلیکوزیدهای استوویول[1] دارای خاصیت شیرین‌کنندگی قوی است (Singh and Rao, 2005) که اولاً در سیستم گوارشی جذب نمی‌شود، لذا افراد دیابتی به راحتی می‌توانند از آن استفاده کنند و دوم این‌که، کالری‌زا نیست و از این‌رو مناسب افراد چاق و افرادی است که مراقب میزان کالری روزانه خود هستند. به‌دلیل خودناسازگاری این گیاه، گرده‌افشانی گل‌ها توسط باد و حشرات (Raeeszadeh and Gharineh, 2014) انجام می‌گیرد، از این‌رو درصد گل‌های بارور و زنده در این گیاه کم بوده و بذور حاصل از آن درصد جوانه‌زنی پایینی دارند (Liopa-Tsakalidi *et al*., 2012). البته مطالعات ارائه شده نشان می‌دهد هیچ توافقی برای دلایل قدرت پایین جوانه‌زنی بذر استویا وجود ندارد، برخی از محققان خودناسازگاری را علت جوانه‌زنی ضعیف در بذر استویا عنوان نموده‌اند (Miyagawa *et al*., 1986 ; Chalapathi *et al*., 1997 ; Maiti and Purohit, 2008 ; Oddone, 1997) در حالی‌که برخی دیگر گزارش کرده‌اند که هیچ خودناسازگاری در این گیاه وجود ندارد (Goettemoeller and Ching, 1999). به هرحال جوانه‌زنی ضعیف در این گیاه مانعی برای کشت در مقیاس بزرگ بوده و سبب کمیاب شدن و گران‌قیمت بودن مواد مؤثره این گیاه دارویی شده است (Raji *et al*., 2015). قسمت اعظم کشور ما دارای آب و هوای خشک و نیمه خشک بوده و وسعت زمین‌های شور با درجات شوری متفاوت در ایران قابل توجه است (Anonymous, 2011). با توجه به محدود بودن منابع آبی در دسترس، استفاده از آب‌های شور می‌تواند ضمن حفاظت از منابع آبی، بخشی از کمبود آب را نیز جبران نماید. یکی از راه‌های مبارزه با کمبود آب، تأمین بخشی از نیازهای آبی از طریق استفاده از آب‌های شور است (Hassanpoure and Darvishi, 2011). شرایط محیطی از عوامل تأثیرگذار و بسیار مهم در جوانه‌زنی و تولید گیاهچه بوده و هر دو این مراحل نسبت به تنش‌های محیطی حساس می‌باشند (Koornneef *et al*., 2002). اثر بازدارنده شوری بر جوانه‌زنی بذر به‌دلیل کاهش پتانسیل اسمزی و یا ایجاد سمیت یونی است (Tobe *et al*., 2004). تحمل شوری در مرحله جوانه‌زنی بذر بسیار مهم است، زیرا جوانه‌زنی ضعیف و کاهش رشد گیاهچه منجر به استقرار ضعیف و از بین رفتن محصول خواهد گردید (Soltani *et al*., 2006 ; Eslami *et al*., 2009).

پرایمینگ یا آماده‌سازی بذر از جمله روش‌های افزایش قدرت جوانه‌زنی بذر است (Farooq *et al*., 2006) که به‌طور گسترده‌ای برای افزایش یکنواختی و درصد جوانه‌زنی مورد استفاده قرار می‌گیرد و از طرف دیگر باعث کاهش حساسیت جوانه‌زنی بذر به عوامل بیرونی می‌شود (Copland and McDonald, 1995). هیدروپرایمینگ یکی از روش‌های پرایمینگ بذر است که در آن بذور با آب خالص و بدون استفاده از هیچ‌گونه ماده شیمیایی تیمار می‌شوند. این نوع پرایمینگ بسیار ساده و ارزان بوده و مقدار جذب آب در آن از طریق مدت زمانی که بذور در تماس با آب هستند، کنترل می‌شود (Farooq *et al*., 2006). کارایی هیدروپرایمینگ در افزایش کیفیت بذور توسط محققین متعددی گزارش شده است (Artola *et al*., 2003 ; Lima *et al*., 2003). اسید جیبرلیک (GA_3) از طریق تأثیر بر مکانیزم‌های تنظیم‌کنندگی چندگانه نقش مهمی را در فرآیند جوانه‌زنی بذر بازی می‌کند (Takahashi *et al*., 1991; Liopa-Tsakalidi *et al*., 2012). گزارش شده است که اسید جیبرلیک‌ها بسیاری از جنبه‌های رشد و توسعه گیاه شامل جوانه‌زنی و رشد بذر را افزایش می‌دهند (Sun and Gubler, 2004). لیپوا- تسکالیدی و همکاران (Liopa-Tsakalidi *et al*., 2012) به بررسی اثر پیش‌تیمار بذر با اسید جیبرلیک بر جوانه‌زنی بذر استویا تحت تنش شوری پرداخته و بیان داشتند که پیش تیمار بذر استویا با ۲۰۰ قسمت در میلیون اسید جیبرلیک به مدت ۲۴ ساعت بالاترین سرعت جوانه‌زنی بذر را ایجاد نمود.

عیسوند و همکاران (Eisavand *et al*., 2008) در بررسی تأثیر پیش‌تیمار هورمونی بر جوانه‌زنی بذر علف گندمی[2] تحت تنش خشکی پرداخته و گزارش کردند که تنش خشکی سبب کاهش سرعت جوانه‌زنی و بنیه بذر شد، درحالی‌که پیش‌تیمار هورمونی موجب افزایش درصد و

[1] Steviol glycosides

[2] *Agropyrum repens* L.

سرعت جوانه‌زنی در شرایط تنش شد. در این پژوهش تعیین بهترین مدت زمان هیدروپرایمینگ و تعیین بهترین تیمار هورمون‌پرایمینگ با اسید جیبرلیک و بررسی اثر آن‌ها بر بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی بذر استویا تحت تنش شوری مورد بررسی قرار گرفته است.

جدول ۱- روابط محاسباتی صفات مورد مطالعه در آزمایش

Table 1. The computing relation of the parameters studied in the experiment

۱) درصد جوانه‌زنی	Germination Percentage	GP = (N×100) / M
۲) سرعت جوانه‌زنی	Germination Speed	GS =∑Ni / Ti
۳) متوسط زمان جوانه‌زنی	Mean Time of Germination	MTG = ∑)Ni) / ∑N
۴) متوسط جوانه‌زنی روزانه	Mean of Daily Germination	MDG = N / T
۵) سرعت جوانه‌زنی روزانه	Daily Germination Speed	DGS =1/MDG
۶) ارزش جوانه‌زنی	Germination Value	GV = GP × MDG

N=مجموع کل بذرهای جوانه زده در پایان آزمایش، M= کل بذرهای کاشته شده، T= طول کل دوره جوانه‌زنی، Ti= تعداد روزهای پس از جوانه‌زنی، n= تعداد بذرهای جوانه زده در Ti،

N = sum of germinated seeds at the end of the experiment, M = total planted seeds, T = period of germination, Ti = number of days after germination, n = number of germinated seeds in Ti

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۴ در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه شاهد تهران به‌منظور بررسی تأثیر مدت زمان‌های مختلف هیدروپرایمینگ و هورمون‌پرایمینگ با اسید جیبرلیک بر جوانه‌زنی بذر استویا تحت تنش شوری به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا گردید. مدت زمان‌های پرایمینگ با اسید جیبرلیک و آب مقطر، صفر، ۱۶، ۲۴، ۴۸ ساعت و سطوح شوری، صفر، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر بودند. سطوح شوری با استفاده از نمک کلرید سدیم تهیه شدند. بذرهای واریته برتونی[3] که در سال زراعی ۱۴-۲۰۱۳ تولید شده بودند از یک شرکت هندی (Global Horticulture Products) تهیه گردید و با هیپوکلریت سدیم ۱۰٪ به مدت ۳ دقیقه ضدعفونی شده و سپس با آب مقطر شستشو داده شدند (Yosefi-Tanha, 2014). بذرهای ضدعفونی شده در اسید جیبرلیک با غلظت ۵۰۰ قسمت در میلیون (با فرمول $C_{19}H_{22}O_6$ و غلظت مولی ۳۴۶/۳۸ گرم بر مول، ساخت شرکت مرک[4] آلمان) و یا آب مقطر به‌طور جداگانه در هر یک از سطوح پیش‌تیمارهای اسید جیبرلیک و آب قرار گرفتند (Liopa-Tsakalidi *et al*., 2012). در پایان اعمال پرایمینگ، بذرها با آب مقطر شسته و به مدت ۲۴ ساعت در آزمایشگاه خشک شدند. در مرحله بعد، برای اعمال ۵ سطح تنش شوری (صفر، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر) در هر پتری‌دیش ۲۰ عدد بذر بر روی کاغذ واتمن قرار داده شد و با توجه به تیمار شوری مربوطه به هر پتری‌دیش ۳ میلی‌لیتر آب با شوری مورد نظر اضافه شد. به‌منظور کاهش میزان تبخیر آب، پتری‌ها به وسیله پارافیلم بسته شد. جوانه‌زنی بذرها در داخل اتاقک رشد[5] کنترل شده با دمای ۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد تحت شرایط نوری متناوب ۱۶ روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ۵±۷۰ درصد انجام شد (Raina *et al*., 2013). شمارش بذرهای جوانه‌زده از روز دوم به‌صورت روزانه در ساعتی معین صورت گرفت (Liopa-Tsakalidi *et al*., 2012) و در نهایت در پایان دوره ۱۰ روزه آزمایش درصد جوانه‌زنی (Liopa-Tsakalidi *et al*., 2012)، سرعت جوانه‌زنی (Pagter *et al*., 2009)، متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی (Ellis and Roberts, 1981)، متوسط جوانه‌زنی روزانه (Hoogenboom and Peterson, 1987)، سرعت جوانه‌زنی روزانه (Steohanie *et al*., 2005)، ارزش جوانه‌زنی (Ghasemi golozani and Dalil, 2011)، بر طبق روابط ارائه شده در جدول ۱ محاسبه گردید. تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

[3]Bertoni
[4]Merck
[5]Growth chamber

نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر مدت زمان هورمون‌پرایمینگ، مدت زمان هیدروپرایمینگ، سطوح شوری و اثر متقابل مدت زمان هورمون‌پرایمینگ در شوری بر درصد جوانه‌زنی بذر استویا در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی بذر استویا در سطوح مختلف اثر متقابل مدت زمان هورمون پرایمینگ در شوری (شکل ۱) نشان داد که پرایمینگ بذر با اسید جیبرلیک سبب تعدیل روند کاهش درصد جوانه‌زنی بذر استویا که با افزایش تنش شوری حادث شده است، می‌شود. به‌طوری‌که در بالاترین سطح شوری بیش‌ترین میزان جوانه‌زنی (۵۹/۱۶ درصد) مربوط به بذرهایی بود که به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت تحت تیمار اسید جیبرلیک قرار گرفته بودند. به نظر می‌رسد پرایمینگ به مدت ۴۸ ساعت برای به حداکثر رسیدن پویایی اندوخته‌های غذایی موجود در بذر برای جوانه‌زنی سریع‌تر پس از تیمار مناسب باشد و درصد و سرعت جوانه‌زنی را بهبود بخشد. العربی و حجازی (El-Araby and Hejazi, 2004) بیان داشتند که افزایش مدت زمان هیدروپرایمینگ و هورمون‌پرایمینگ موجب افزایش سطوح آنزیم کاتالاز و پراکسیداز شده و از این طریق شاخص‌های جوانه‌زنی را افزایش می‌دهد. در شکل ۱ نشان داده شده است که پرایمینگ بذر با اسید جیبرلیک، اثرات کاهشی تنش شوری بر درصد جوانه‌زنی بذر را تعدیل کرده و باعث افزایش ۱۷ درصدی جوانه‌زنی نسبت به عدم پرایمینگ با اسید جیبرلیک شده است. یکی از آنزیم‌های مؤثر بر درصد و سرعت جوانه‌زنی آنزیم آلفا آمیلاز می‌باشد. فعالیت این آنزیم، با افزایش غلظت شوری کاهش می‌یابد، که در نتیجه کاهش فعالیت این آنزیم، نشاسته کم‌تر تجزیه شده و قندها برای تنفس و متابولیزم کم‌تر فراهم می‌شوند و این امر یکی از دلایل کاهش درصد جوانه‌زنی در شرایط شوری می‌باشد (Fathi Amirkhiz *et al*., 2012).

سرعت جوانه‌زنی

براساس نتایج نشان داده شده در جدول تجزیه واریانس (جدول ۲)، اثر مدت زمان هورمون‌پرایمینگ، شوری و اثر متقابل مدت زمان هورمون‌پرایمینگ در شوری بر سرعت جوانه‌زنی بذر استویا معنی‌دار بوده است. مقایسه میانگین سرعت جوانه‌زنی در سطوح مختلف اثر متقابل شوری در مدت زمان هورمون‌پرایمینگ (شکل ۲) نشان داد که پرایمینگ بذر با اسید جیبرلیک سبب تعدیل اثر کاهشی تنش شوری بر سرعت جوانه‌زنی بذر استویا شده است به‌طوری‌که در سطوح شوری ۲/۵، ۵ و ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر بیش‌ترین سرعت جوانه‌زنی بذر استویا در تیمار ۴۸ ساعت پرایمینگ بذر با اسید جیبرلیک (۴/۲۴ بذر در روز) به دست آمد. با این وجود در شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر بذوری که به مدت ۱۶ ساعت با اسید جیبرلیک پرایم شده بودند جوانه‌زنی بیش‌تری داشتند. در پژوهش‌های دیگر گزارش شده است در بذرهای پرایم‌شده معمولاً سرعت جوانه‌زنی افزایش یافته و یکنواختی بالایی در جوانه‌زنی بذرها دیده می‌شود (Basra *et al*., 2005).

به نظر می‌رسد در جوانه‌زنی تحت تنش شوری به‌دلیل افت پتانسیل اسمزی فرآیند جذب آب مختل شده و در ادامه فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز بازداری می‌شود (Afzal, 2005) ولی در اثر پرایمینگ بذر با اسید جیبرلیک، این ممانعت از فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز از بین رفته و جوانه‌زنی تحت تنش شوری نیز انجام می‌گیرد. فتحی امیر خیز و همکاران (Fathi Amirkhiz *et al*., 2012) افزایش سرعت جوانه‌زنی بذر گیاه دارویی سیاه دانه[6] را در شرایط تنش شوری گزارش کردند که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد.

متوسط زمان جوانه‌زنی

اثر مدت زمان‌های مختلف هورمون‌پرایمینگ و سطوح تنش شوری در سطح احتمال یک درصد و اثر متقابل شوری در مدت زمان هورمون‌پرایمینگ و مدت زمان هیدروپرایمینگ در سطح احتمال پنج درصد بر متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی معنی‌دار بود (جدول ۲). در شکل ۳ به مقایسه میانگین متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی در سطوح مختلف اثر متقابل سه‌گانه پرداخته شده است که نشان می‌دهد بیش‌ترین زمان لازم برای جوانه‌زنی در بذوری بوده که بدون هورمون‌پرایمینگ و هیدروپرایمینگ تحت تنش شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر قرار گرفته بودند. در بین فاکتورهای مورد مطالعه فاکتور مدت زمان هورمون‌پرایمینگ اثر بسیاری زیادی در کاهش متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی در سطوح بالای تنش شوری داشته است. بذرها برای آغاز فعالیت حیاتی خود و شروع

[6] *Nigella sativa* L.

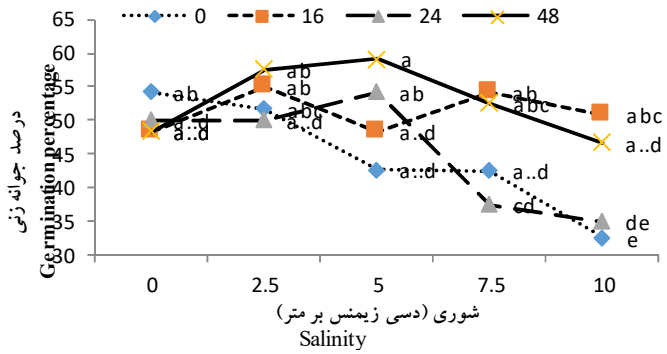
جوانه‌زنی نیاز به جذب آب کافی دارند، چنانچه جذب آب دچار اختلال شود و یا با کندی صورت گیرد فعالیت‌های داخل بذر نیز روند کندی را طی خواهند کرد و به بیان دیگر سرعت جوانه‌زنی کاهش خواهد یافت. در جوانه‌زنی تحت تنش شوری به‌دلیل افت پتانسیل اسمزی، فرآیند جذب آب مختل شده و در ادامه فعالیت آنزیم‌های هیدرولیز نیز مختل می‌گردد (Afzal, 2005). علت کاهش میانگین زمان جوانه‌زنی در اثر اعمال پرایمینگ بذر به افزایش احتمالی سرعت تقسیم سلولی در بذرهای پرایم-شده نسبت داده شده است که در اثر سنتز DNA، RNA و پروتئین در طی پرایمینگ بذر بسیاری از مراحل فیزیولوژیکی در فرآیند جوانه‌زنی کامل شده و بذر در آستانه جوانه‌زنی می‌گیرد (Brancalion *et al*, 2008; Foti *et al*., 2008).

جدول ۲- خلاصه تجزیه واریانس تأثیر مدت زمان هورمون و هیدروپرایمینگ بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر استویا تحت تنش شوری

Table 2. Summary of variance analysis for effect of hormone and hydro priming on *Stevia* seed germination indices under salt stress

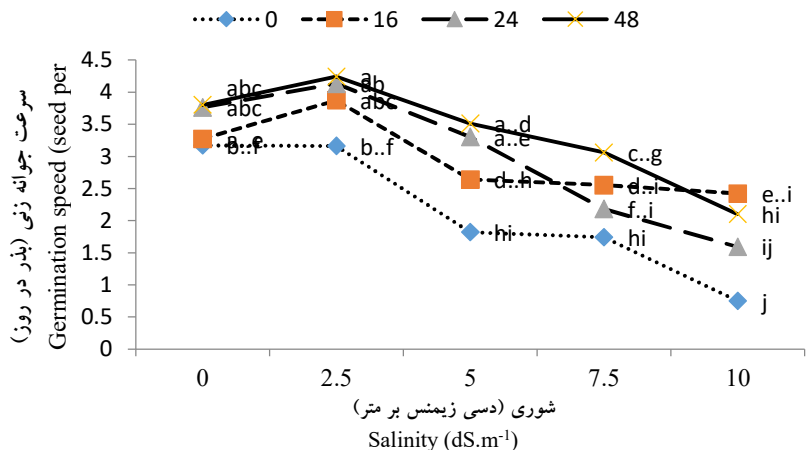
منابع تغییرات Sources of variance	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square					
		درصد جوانه‌زنی GP	سرعت جوانه‌زنی GS	متوسط زمان جوانه‌زنی MGT	متوسط جوانه زنی روزانه MDG	سرعت جوانه-زنی روزانه DGS	ارزش جوانه‌زنی GV
مدت زمان هورمون پرایمینگ Hormone Priming (HO)	3	9.26**	1.80**	21.06**	0.92**	0.07**	1.36**
مدت زمان هیدروپرایمینگ Hydro Priming (HY)	3	3.58*	0.23^{ns}	0.13^{ns}	0.35 ^{ns}	0.001 ^{ns}	0.63 ^{ns}
شوری Salt (S)	4	10.28**	3.54**	46.18**	1.02**	0.17**	1.55**
مدت زمان هورمون × هیدروپرایمینگ HO × HY	9	1.56 ^{ns}	0.14 ^{ns}	0.99 ^{ns}	0.15 ^{ns}	0.004 ^{ns}	0.28 ^{ns}
مدت زمان هورمون‌پرایمینگ × شوری HO × S	12	4.00**	0.19*	0.90 ^{ns}	0.40**	0.003 ^{ns}	0.55*
مدت زمان هیدروپرایمینگ× شوری HY× S	12	1.04 ^{ns}	0.07 ^{ns}	0.52 ^{ns}	0.10 ^{ns}	0.002 ^{ns}	0.20 ^{ns}
هورمون×هیدروپرایمینگ× شوری HO×HY×S	36	1.79 ^{ns}	0.14 ^{ns}	1.10*	0.17 ^{ns}	0.005*	0.28 ^{ns}
اشتباه آزمایشی Experimental error	160	1.47	0.10	0.74	0.14	0.002	0.25
ضریب تغییرات (٪) Coefficient of variation (%)	-	17.85	19.76	20.46	17.85	20.19	23.15

ns, * and ** non-significant, Significant at 5% and 1% respectively. ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد



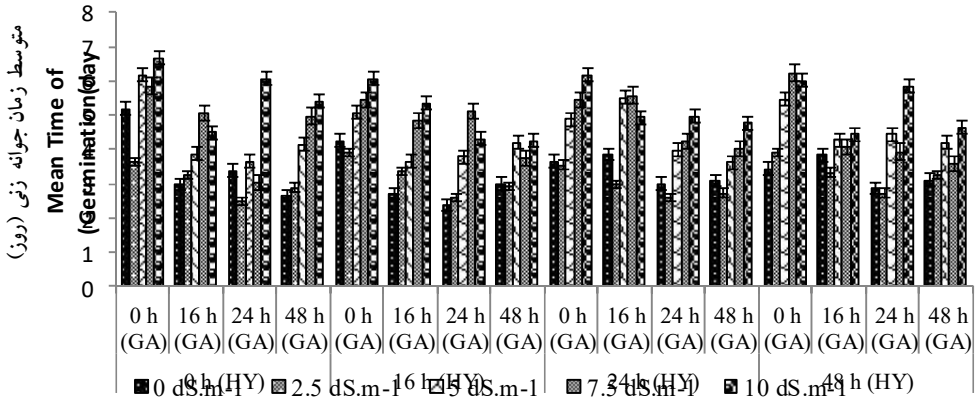
شکل۱- مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی بذر استویا در سطوح مختلف اثر متقابل شوری × مدت زمان هورمون پرایمینگ

Figure1. Mean comparison of *Stevia* seed germination percentage in salinity × hormone priming interaction



شکل۲- مقایسه میانگین سرعت جوانه‌زنی بذر استویا در سطوح مختلف اثر متقابل شوری× مدت زمان هورمون پرایمینگ

Figure2. Mean comparison of *Stevia* seed germination speed in salinity× hormone priming interaction



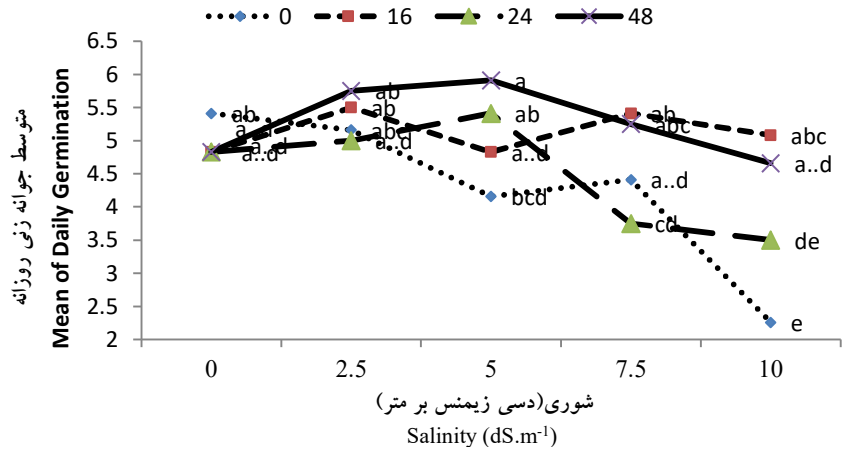
شکل ۳- مقایسه میانگین متوسط زمان جوانه‌زنی بذر استویا در سطوح مختلف اثر متقابل شوری × مدت زمان هورمون-پرایمینگ × مدت زمان هیدرو پرایمینگ

Figure 3. Mean comparison of germination mean time of Stevia seed in salinity × hormone priming × hydro priming interaction

متوسط جوانه‌زنی روزانه

در جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داده شده است که تأثیر مدت زمان هورمون‌پرایمینگ، شوری و اثر متقابل آن‌ها بر متوسط جوانه‌زنی روزانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بوده است. مقایسه میانگین متوسط جوانه‌زنی روزانه در سطوح مختلف اثر متقابل مدت زمان‌های مختلف هورمون‌پرایمینگ در شوری مشخص شد که بیش‌ترین متوسط جوانه‌زنی روزانه در سطح شوری ۵ دسی‌زیمنس بر متر در بذوری است که تحت ۴۸ ساعت پرایمینگ با اسید جیبرلیک قرار داشته‌اند (شکل ۴). شوری موجب کاهش درصد جوانه‌زنی نهایی بذور استویا گردید و از آن‌جایی که متوسط جوانه‌زنی روزانه از تقسیم جوانه‌زنی نهایی بر دوره جوانه‌زنی بدست می‌آید، بنابراین این پارامتر در اثر تنش شوری کاهش پیدا می‌کند. اسلامی و همکاران (Eslami *et al*., 2008) اثر شوری را بر سرعت جوانه‌زنی روزانه معنی‌دار گزارش کردند و بیان داشتند که افزایش سطوح شوری باعث کاهش سرعت جوانه‌زنی روزانه گردید. از آن‌جایی که هم متوسط جوانه‌زنی روزانه تحت تأثیر سرعت جوانه‌زنی روزانه است، تنش شوری باعث کاهش متوسط جوانه‌زنی روزانه می‌شود. با افزایش تنش شوری خشکی متوسط جوانه‌زنی روزانه در گیاه دارویی پونه[7] کاهش یافت (Saedi, 2013).

[7]*Nepeta racemmosa* L.

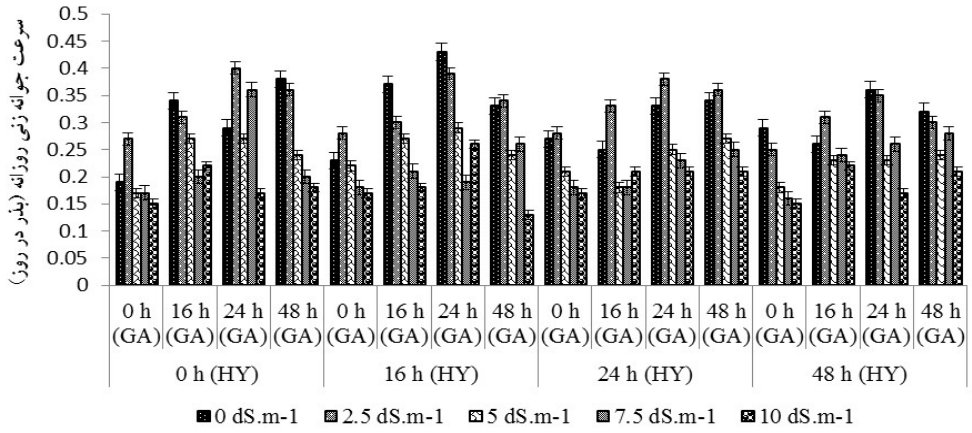


شکل ۴- مقایسه میانگین متوسط جوانه‌زنی روزانه در سطوح مختلف اثر متقابل مدت زمان هورمون پرایمینگ×شوری

Figure4. Mean comparison of *Stevia* seed daily germination mean in salinity × hormone priming interaction

سرعت جوانه‌زنی روزانه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تنش شوری و مدت زمان هورمون‌پرایمینگ در سطح احتمال یک درصد و اثر متقابل تنش شوری × مدت زمان هورمون-پرایمینگ × مدت زمان هیدروپرایمینگ در سطح احتمال پنج درصد بر سرعت جوانه‌زنی روزانه معنی‌دار شده است (جدول ۲). در شکل ۵ به مقایسه میانگین سرعت جوانه‌زنی روزانه در سطوح مختلف اثر تقابل سه‌گانه پرداخته شده است که نشان می‌دهد بیش‌ترین سرعت جوانه‌زنی روزانه در بذوری بود که به مدت ۲۴ ساعت هورمون‌پرایمینگ و ۱۶ ساعت هیدورپرایمینگ تحت تنش شوری صفر دسی-زیمنس بر متر قرار گرفته بودند. نتایج این پژوهش با یافته-های عیسوند و همکاران (Eisavand *et al*., 2008) و کافی و همکاران (Kafi *et al*., 2010) که گزارش کردند در طی تنش شوری، سرعت جوانه‌زنی کاهش و متوسط زمان جوانه‌زنی افزایش پیدا می‌کند، مطابقت داشت. تیمار بذور با هورمون اسید جیبرلیک بر سرعت جوانه‌زنی و متوسط زمان جوانه‌زنی مؤثر بود. به نظر می‌رسد دلیل افزایش سرعت جوانه‌زنی در اثر کاربرد هورمون جیبرلین، آزادسازی آنزیم‌های تجزیه کننده هیدرات‌کربن و پروتئین در داخل بذر باشد (Ashraf *et al*., 2008).

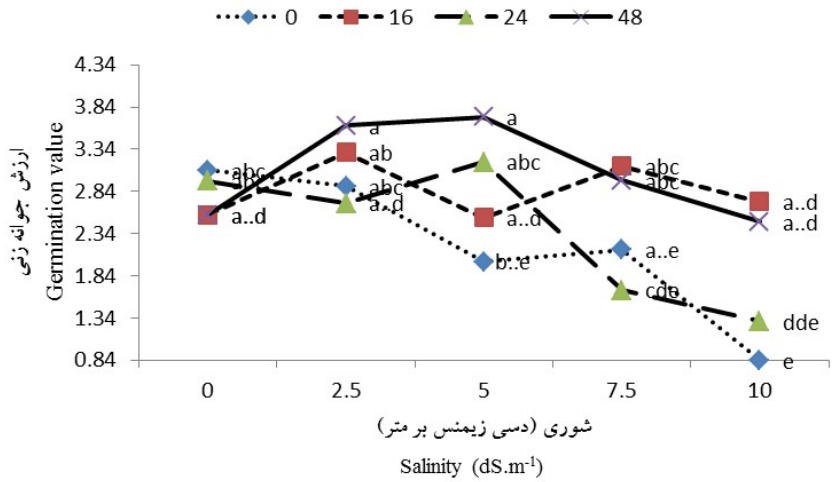


شکل ۵- مقایسه میانگین سرعت جوانه‌زنی روزانه بذر استویا در سطوح مختلف اثر متقابل شوری × مدت زمان هورمون-پرایمینگ × مدت زمان هیدرو پرایمینگ

Figure 5. Mean comparison of daily germination speed of *Stevia* seed in salinity × hormone priming × hydro priming interaction

ارزش جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که صفت ارزش جوانه‌زنی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر مدت زمان هورمون-پرایمینگ، تنش شوری و همچنین اثر متقابل این دو فاکتور قرار گرفته است (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر متقابل تنش شوری در مدت زمان هورمون‌پرایمینگ با جیبرلیک اسید نشان داد که بیش‌ترین ارزش جوانه‌زنی در تیمار ۴۸ ساعت پرایمینگ با جیبرلیک اسید تحت تنش شوری ۵ دسی‌زیمنس بر متر بود (شکل ۶). به نظر می‌رسد تأثیر منفی تنش شوری بر جذب آب و تغییر در پتانسیل ردوکس (اکسایش-کاهش) باعث بدست آمدن این نتایج شده است. شوری با کاهش قابلیت دسترسی به آب یا تداخل با متابولیسم گیاه از جوانه‌زنی جلوگیری می‌کند (Khan and Ungar, 2001). تنش شوری باعث جلوگیری از بیان ژن‌های مسئول سنتز اسید جیبرلیک در بذر می‌شود، به همین دلیل پیش‌تیمار بذر با اسید جیبرلیک می‌تواند این نقیصه را در بذر جبران نماید (Kim and Park, 2008). برخی مطالعات نشان می‌دهد که تعادل نسبت سدیم و کلسیم در بذرهای پرایم‌شده تحت سطوح تنش شوری یکسان به‌طور معنی‌دار کاهش می‌یابد (Sivritepe *et al*., 2003).



شکل ۶- مقایسه میانگین ارزش جوانه‌زنی در سطوح مختلف اثر متقابل مدت زمان هورمون‌پرایمینگ × شوری

Figure 6. Mean comparison of germination value of *Stevia* seed in salinity × hormone priming interaction

همبستگی صفات

در جدول ۶ نشان داده شده است که صفت درصد جوانه‌زنی با صفات سرعت جوانه‌زنی، متوسط جوانه‌زنی روزانه، سرعت جوانه‌زنی روزانه و ارزش جوانه‌زنی همبستگی مثبت و معنی‌دار و با متوسط زمان جوانه‌زنی همبستگی منفی و معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشته است. بنابراین افزایش درصد جوانه‌زنی منجر به افزایش معنی‌دار سرعت جوانه‌زنی، متوسط جوانه‌زنی روزانه، سرعت جوانه‌زنی روزانه و ارزش جوانه‌زنی شد ولی برعکس، متوسط زمان جوانه‌زنی را کاهش داد. متوسط زمان جوانه‌زنی با تمامی صفات مورد بررسی در این پژوهش همبستگی منفی و معنی‌داری داشت (جدول ۶).

نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تنش شوری از طریق افزایش متوسط زمان جوانه‌زنی و کاهش سرعت جوانه‌زنی به کاهش درصد جوانه‌زنی انجامید. درحالی‌که پرایمینگ بذر با اسید جیبرلیک به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت، درصد جوانه‌زنی و سایر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر استویا را افزایش داد. همچنین این تیمار به‌دلیل تحریک جوانه‌زنی، باعث تعدیل اثرات منفی تنش شوری بر جوانه‌زنی بذور استویا شد. همچنین مشخص شد که هیدورپرایمینگ تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر استویا ندارد.

جدول ۶- بررسی همبستگی بین شاخص‌های جوانه‌زنی بذر استویا تحت تنش شوری و مدت زمان هورمون-پرایمینگ و هیدروپرایمینگ

Table 6. Correlation assessment among *Stevia* seed germination indices under salt stress and time period of hormone priming and hydro priming

	1	2	3	4	5	6
درصد جوانه‌زنی Germination Percentage	1					
سرعت جوانه‌زنی Germination Speed	0.84**	1				
متوسط زمان جوانه‌زنی Mean Germination Time	-0.59**	-0.66**	1			
متوسط جوانه‌زنی روزانه Mean of Daily Germination	0.99**	0.84**	-0.59**	1		
سرعت جوانه‌زنی روزانه Daily Germination Speed	0.45**	0.59**	-0.93**	0.46*	1	
ارزش جوانه‌زنی Germination Value	0.97**	0.82**	-0.55**	0.97**	0.44*	1

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

ns, * and ** non-significant, Significant at 5% and 1% respectively

منابع

Afzal, I. 2005. Seed enhancements to induced salt tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). Ph.D. Thesis, Agricultural University of Faisalabad, Pakistan. **(Thesis)**

Anonymous, 2011. Utilization of saline-alkaline land. Department of Education Vocational.pp:40. (In Persian)**(Handbook)**

Artola, A., Carrillo-Castaneda, G. and Santos, G.D. 2003. Hydro-priming: strategy to increase *Lotus corniculatus* L. seed vigor. Seed Science and Technology, 31: 455-463. **(Journal)**

Ashraf, M., Athar, H.R., Harris, P.J.C. and Kwon, T.R. 2008. Some prospective strategies for improving crop salt tolerance. Advanced in Agronomy, 97: 45-92. **(Journal)**

Basra, S.M., Farooge, M., Tabassum, R. and Ahmed, N. 2005. Physiological and biochemical aspects of pre-sowing seed treatments in fine rice (*Oryza sativa* L.). Seed Science and Technology, 33: 877-879. **(Journal)**

Brancalion, P.H.S., Novembre, A.D.L.C., Rodrigues, R.R. and Tay, D. 2008. Priming of *Mimosa bimucronata* seeds: a tropical tree species from Brazil, Acta Horticulturae, 82: 163-168. **(Journal)**

Chalapathi, M.V., Thimmegowda, S., Rama Krishna Prama, V.R. and Prasad, T.G. 1997. Natural non-calorie sweetener Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni): a future crop of India. Crop Research, 14: 347–350. **(Journal)**

Copland, L.O. and McDonald, M.B. 1995. Principles of Seed Science and Technoloy. Thired Edition. Springer US Publisher. **(Book)**

Eisavand, H.R., Tavakol Afshari, R., Sharifzade, F., Madah Arefi, H. and Hesamzade Hejazi, M. 2008. Improving physiological quality of aged Wheat Grass seed by using hormonal priming under water stress and non-stress conditions. Iranian Journal Crop Science, 39: 53-65. (In Persian)**(Journal)**

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

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

Eslami, V., Behdani, M.A. and Ali, S. 2009. Effect of salinity on germination and early seedling growth of canola cultivars. Environmental Stress in Agriculture Science, 1: 39-46. (In Persian)**(Journal)**

Farooq, M., Basra, S.M.A., Warraich, E.A. and Khaliq, A. 2006. Optimization of hydro-priming techniques for rice seed invigoration. Seed Science and Technology, 34: 529-534. **(Journal)**

Fathi Amirkhiz, K., Omidi, H., Heshmati, S. and Jafarzadeh, L. 2012. The effect of catalyst on the vigor and germination properties of the herb Nigella (*Nigella sativa* L.) under salt stress. Iranian Journal of Field Crops Research, 10: 299-310. **(Journal)**

Foti, R., Abureni, K., Tigere, A., Gotosa, J. and Gere, J. 2008. The efficacy of different seed priming osmotica on the establishment of maize (*Zea mays* L.) caryopses, Journal of Arid Enviroments, 72: 1127-1130. **(Journal)**

Ghasemi gholozani, K. and Dalil, B. 2011. Germination and seed vigor tests. Publications Jahad Daneshgahi Mashhad. (In Persian)**(Book)**

Goettemoeller, J. and Ching, A. 1999. Seed germination in *Stevia rebaudiana*. In: Janick, J (eds) Perspectives on new crops and new uses. ASHS Press, Alexandria, VA. Pp: 510–511. **(Book)**

Hassanpoure, H. and Darvishi, H. 2011. Effect of saline water on quantitative and qualitative traits of Dill (*Aniethum graveolens* L.) seeds. Journal of Agronomy and Plant Breeding, 6: 13-20. (In Persian)**(Journal)**

Hoogenboom, G. and Peterson, C.M. 1987. Shoot growth rate of soybean as affected by drought stress. Agronomy Journal, 79:5 98-607. **(Journal)**

Hossein, M.A., Shamim Kabri, A.M., Jahan, T.A. and Hassan, M.N. 2008. Micropropagagation of *Stevia Rebaudiana*. International Journal of Sustainable Crop Production, 3: 1-90. **(Journal)**

Kafi, M., Eishi Rezaii, A., Hagighikhah, M. and Gorbani, S. 2010. Effect of salinity and seed priming on germination and seedling characteristics of two medicinal citrus species. Journal of Agriculture Ecology, 2: 245-255. (In Persian)**(Journal)**

Khan, M.A. and Ungar, I.A. 2001. Seed germination of *Triglochin maritime* as influenced by salinity and dormancy relieving compounds. Biologia Plantarum, 44: 301-303. **(Journal)**

Kim, S.G. and Park, C.M. 2008. Gibberellic acid-mediated salt signaling in seed germination. Plant Signaling Behavior, 3: 877-879. **(Journal)**

Koornneef, M., Bentsink, L. and Hilhorst, H. 2002. Seed dormancy and germination. Current Opinion in Plant Biology, 5: 33-36. **(Journal)**

Lima, W.A.A., Dias D.C.F.S. and Cecon, P.R. 2003. Controlled hydration for priming in coffee (*Coffea Arabica* L.) seeds. Seed Science and Technology, 31: 29-37. **(Journal)**

Liopa-Tsakalidi, A., Kaspiris, G., Salahas, G. and Barouchas, P. 2012. Effect of salicylic acid (SA) and gibberellic acid (GA_1) pre-soaking on seed germination of Stevia (*Stevia rebaudiana*) under salt stress. Journal of Medicinal Plants Research, 6: 416-423. **(Journal)**

Maiti, R.K. and Purohit, S.S. 2008. *Stevia*: A miracle plant for human health Agro bios (India) Jodhpur India. **(Book)**

Miyagawa, H., Fujikowa, N., Kohda, H., Yamasaki, K., Taniguchi, K. and Tanaka, R. 1986. Studies on the tissue culture of *Stevia rebaudiana* and its components: (II). Induction of shoot primordia. Planta Med, 4: 321–324. **(Journal)**

Oddone, B. 1997. ‘‘How to Grow *Stevia*. Technical Manual.’’ Guarani Botanicals, Pawtucket, CT. **(Book)**

Pagter, M., Bragato, C., Malagoli M. and Brix, H. 2009. Osmotic and ionic effects of NaCl and Na_2SO_4 salinity on *Phragmites australis*. Aquatic Botany, 90: 43-51. **(Journal)**

Raeeszadeh, M. and Gharineh, M.H. 2014. Effects of gibberellic acid, nitric acid and moist chilling on seed germination *Stevia*. First International Congress and the Thirteenth National Congress of the Plant Breeding and Seed Science and Technology Conference. Tehran 4 to 6 September. (In Persian)**(Conference)**

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

Raji, A.A., Mohammad, B.O. and Zarina, B.Z. 2015. Acclimatized apparatus enhanced seed germination in *Stevia rebaudiana* Bertoni. International Journal of Biology, 7: 28-34. **(Journal)**

Saedi, Z. 2013. Assess the impact of soil salinity and drought stresses on germination indices of *Nepeta racemmosa* L. Master Thesis of Agronomy. Alborz Payam Nor University. (In Persian)**(Thesis)**

Singh, S.D. and Rao, G.P. 2005. Stevia: the herbal sugar of 21st century. Sugar Technology, 7(1): 17-24. **(Journal)**

Sivirtepe, N., Sivirtepe, H.O. and Erifll, A. 2003. The effect of NaCl priming on salt tolerance in melon seedlings grown under conditions. Scientia Horticulturae, 97: 229- 237. **(Journal)**

Soltani, A., Gholipoor, M. and Zeinali, E., 2006. Seed reserve utilization and seedling growth of wheat as affected by drought and salinity. Environmental Experiment Botany, 55: 195-200. **(Journal)**

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

Sun, T.P. and Gubler, F. 2004. Molecular mechanism of gibberellin signaling in plants. Annual Review of Plant Biology, 55: 197-223. **(Journal)**

Takahashi, N., Phinney, B.O. and McMillan, J. 1991. Gibberellins, Springer-Verlag, New York. **(Book)**

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

Yosefi Tanha, M. 2014. The effect of priming to improve germination of winter annual green manure seeds under cold stress. Master Thesis of Seed Science and Technology. Shahrekord University. (In Persian)**(Thesis)**

Effect of hormone priming and hydro priming on Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) seed germination under salt stress

Mehdi Aghighi Shahverdi[1*], Heshmat Omidi[2]

Received: September 9, 2015 Accepted: November 22, 2015

Abstracts

In order to evaluate effect of time period of hormone and hydro priming on *Stevia* seed germination indices under salt stress a factorial experiment based on completely randomized design (CRD) with three replications was conducted in Seed Science and Technology Laboratory of Shahed University of Tehran in 2015. The studied factors consisted of seed pre-treating by gibberellic acid and distilled water for 0, 16, 24 and 48 hours and salt stress (2.5, 5, 7.5 and 10 $dS.m^{-1}$). Germination percentage and speed, mean time of germination, mean of daily germination, daily germination speed and germination value was measured. Results showed that salinity× hormone priming interaction significantly influenced germination percentage and germination speed, mean daily germination and germination value. The highest germination percentage and germination speed was seen in 5 $dS.m^{-1}$ and 48 hours hormone priming interaction and 2.5 $dS.m^{-1}$ and 48 hours hormone priming interaction respectively. The highest daily germination speeds was seen in 0 $dS.m^{-1}$ and 16 hours hydro priming interaction and 0 $dS.m^{-1}$ and 16 and 24 hours hormone priming interaction respectively. Hormone priming of stevia seed by gibberellic acid for 24 and 48 hours could improve stevia seed germination parameters. Some of germination parameters (rate and percentage of germination) were reduced by salinity stress.

Key words: Germination; Priming; Salinity; Seed; Stevia

1. Ph.D student of Agronomy, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agricultural Sciences, Shahed University, Tehran, Iran
2. Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agricultural Sciences, Shahed University, Tehran, Iran
*Corresponding author: aghighim@yahoo.com