

اثر اکسین و سیتوکینین بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی گیاهچه و جوانه‌زنی بذر استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni)

راضیه صارمی^۱، حشمت امیدی^{۲*}، 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

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: omidi@shahed.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۲۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۴/۰۶)

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی کارایی پیش تیمار هورمونی در افزایش قدرت جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه، در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشگاه شاهد در سال ۱۳۹۴ به صورت فاکتوریل در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی در ۴ تکرار اجرا گردید. تیمارهای آزمایش شامل ۵ سطح هورمون اکسین (IAA) (ایندول-۳-استیک اسید) در غلظت‌های صفر، ۰/۱، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی گرم بر لیتر و ۵ سطح هورمون سیتوکینین (PBA) (تتراهیدروپیرانیل بنزیل آدنین) در غلظت‌های صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی گرم بر لیتر بودند. نتایج نشان داد که کاربرد دو هورمون و اثرات متقابل آن‌ها، اثر معنی‌داری بر همه صفات‌های مورد ارزیابی از جمله درصد جوانه‌زنی، مقدار زیست توده، محتوای آب نسبی برگ و محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی داشت. بیشترین درصد جوانه‌زنی (۶۶/۶۶ درصد) در ۱/۵ میلی گرم بر لیتر IAA به همراه ۱ میلی گرم بر لیتر PBA به دست آمد. بیش تیمار ۰/۵ میلی گرم بر لیتر PBA و ۰/۱ میلی گرم بر لیتر IAA بیشترین طول ساقچه‌چه (به ترتیب ۱/۲۸ و ۱/۱۷ سانتی متر) را نشان داد. ضریب جوانه‌زنی با افزایش سطوح IAA از ۰/۱ تا ۱/۵ میلی گرم بر لیتر، ۱۲/۵ درصد کاهش یافت. بیشترین محتوای آب نسبی (۴۲/۷۳ و ۳۷/۳۸ درصد) به ترتیب در PBA ۰/۵ میلی گرم بر لیتر و IAA ۱/۵ میلی گرم بر لیتر به دست آمد. ترکیب (۰/۱+۰/۵ میلی گرم بر لیتر) IAA+PBA بر طول ریشه‌چه و گیاهچه اثر مثبتی داشت. غلظت‌های بالای IAA و PBA و کمترین مقدار IAA بر روی مقدار زیست توده نتیجه‌ای یکسان نشان داده و بالاترین مقدار (۴/۳۳ میلی گرم) با ترکیب تیماری این دو غلظت به دست آمد. رنگیزه‌های فتوسنتزی نیز از این دو هورمون تأثیر پذیرفتند به طوری که تأثیر IAA بر این صفت بیش از PBA بود. مشخص شد که اکسین و سیتوکینین موجب افزایش جوانه‌زنی و بهبود شاخص‌های مورفوفیزیولوژیک و در نتیجه عملکرد استویا می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: ایندول-۳-استیک اسید، تتراهیدروپیرانیل بنزیل آدنین، ضریب جوانه‌زنی، زیست توده

مقدمه

همکاران، ۲۰۱۳). این گیاه به برگ عسلی، گیاه شیرین یا علف شیرین معروف می‌باشد (کارپوسامی^۲، ۲۰۰۹). این گیاه از پتانسیل بالایی به عنوان یک منبع

استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni) گیاهی چندساله متعلق به خانواده آستراسه است (رینا^۱ و

² Karuppusamy

¹ Raina

ایندول ۳- استیک اسید^۸ (IAA)، اکسین اصلی در گیاهان عالی است و اثرات عمیقی در رشد و نمو گیاه ایفا می‌کند (زائو، ۲۰۱۰). اندازه‌گیری غلظت اکسین و اثر آن بر سلول‌ها و بافت‌های زنده در شرایط آزمایشگاهی که در آن بلوک‌های اکسین حاوی آگار بود، تحریک رشد بخش کولتوپیتیل جو دو سر را منجر شد و موجب شناسایی IAA به‌عنوان اکسین طبیعی در گیاهان گردید (زائو، ۲۰۱۰). به نظر می‌رسد گونه‌های مختلف گیاهی مکانیسم‌های منحصر به فردی برای بهینه‌سازی بیوسنتز IAA داشته باشند (وودوارد و بارتل^۹، ۲۰۰۵).

سایتوکینین‌ها به‌طور طبیعی مشتقات آدنین با جانشینی متفاوت وابسته به موقعیت N₆ در حلقه آدنین هستند (گاجوسوا و همکاران^{۱۰}، ۲۰۱۱). سیتوکینین‌ها دارای ریبوساید (که در آن یک قند ریبوز به N₉ از حلقه پورین متصل است) و ریبوتید (که در آن نیمه ریبوز دارای یک گروه فسفات است) بوده و همچنین علاوه بر آن می‌توانند اغلب با نیمه قندی مانند گلوکز نیز آمیخته شوند (کیبر و اسکالر^{۱۱}، ۲۰۱۴). سیتوکینین‌ها در بسیاری از جنبه‌های رشد و نمو گیاه از جمله تقسیم سلولی، رشد ساقه، پیری برگ، غالبیت انتهایی، روابط مبدأ - مقصد، جذب مواد غذایی، آرایش برگ و آوندی، توسعه گامتوفیت و جنین و همچنین پاسخ به عوامل زنده و غیرزنده نقش دارند (گاجوسوا و همکاران، ۲۰۱۱). در گیاه آرابیدوپسیس هورمون سیتوکینین نقش مثبتی را در عملکرد مریستم ساقه نشان داده است (عزیزی^{۱۲} و همکاران، ۲۰۱۵). اکسین و سیتوکینین در تنظیم فرایندهای حیاتی گیاه نقش دارند. اثرات آنتاگونیستی و سینرژیستی این دو هورمون بر هم سازمان‌دهی، تشکیل و نگهداری مریستم را کنترل می‌کند. سلول‌های مریستمی می‌توانند به بافت‌ها و اندام‌های جدید در محل پیش‌جنین تقسیم شوند. به‌طوری که اندام‌های گیاهی بالای سطح زمین به‌وسیله مریستم انتهایی ساقه ایجاد می‌شوند (عزیزی و همکاران،

شیرین‌کننده طبیعی برخوردار است که تا ۱۵۰ برابر شیرین‌تر از شکر است؛ اما در عین حال عملاً هیچ‌گونه کالری تولید نمی‌کند (ریس^۱ و همکاران، ۲۰۱۵). استویوساید موجود در برگ این گیاه به‌عنوان جایگزینی بجای ساکارز بکار می‌رود و در درمان دیابت، چاقی و فشارخون مؤثر است و از پوسیدگی دندان جلوگیری می‌کند (پل^۲ و همکاران، ۲۰۰۷). استویا را می‌توان به‌وسیله بذر تکثیر کرد اما جوانه‌زنی آن ضعیف (به‌طور معمول ۵۰-۴۰ درصد) است و کشت مستقیم بذرها به دلیل اندازه کوچک آن‌ها ممکن است منجر به شکست شود (کومار^۳ و همکاران، ۲۰۱۴). به‌طور کلی، جوانه‌زنی بذر در این گیاه یک مشکل مهم است و بذرهایی که در آب و هوای سرد کشت شوند جوانه‌زنی ضعیفی خواهند داشت (رامش^۴ و همکاران، ۲۰۰۶).

هورمون‌ها پیغام‌برهای شیمیایی هستند که در محل‌های هدف بر میزان تنظیم و مقدار رشد سلول‌ها در بافت‌های ریشه، ساقه، برگ، جوانه، گل‌ها و میوه‌ها نقش ایفا می‌کنند (قربانی‌جاوید^۵ و همکاران، ۲۰۱۱). اکسین به دلیل توانایی آن برای تحریک رشد متفاوت گیاه در پاسخ به محرک گرانش یا نور به‌عنوان یک هورمون رشد گیاه شناخته شد. بر اساس یافته‌های جدید موضع بیوسنتز اکسین نقش اساسی در بسیاری از فرایندهای تکاملی گیاه، از جمله گامتوزن، جنین‌زایی، رشد گیاهچه، الگودهی آوندی و توسعه گل ایفا می‌کند (زائو^۶، ۲۰۱۰). شناخت نقش فیزیولوژیکی اکسین در گیاهان از روی چگونگی پاسخ گیاهان به اکسین خارجی صورت گرفته است با این حال، یکی از جنبه‌های مهم بیولوژی اکسین شناخت اختلالات رشد و نمو ناشی از کمبود اکسین است که این شناخت در صورتی که درک درستی از مسیر بیوسنتز اکسین در دست نباشد اتفاق نمی‌افتد (وانست و فریمل^۷، ۲۰۰۹).

¹ Reis² Pol³ Kumar⁴ Ramesh⁵ GhorbaniJavid⁶ Zhao⁷ Vanneste and Friml⁸ indole-3-acetic acid⁹ Woodward and Bartel¹⁰ Gajdosova¹¹ Kieber and Schaller¹² Azizi

میانگین طول ۵ گیاهچه (بعد از ۴ هفته) با استفاده از خط‌کش مدرج بر حسب سانتی‌متر و وزن‌تر گیاهچه‌ها به وسیله ترازویی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم، بر حسب میلی‌گرم تعیین گردید. سپس برای اندازه‌گیری وزن خشک گیاهچه‌ها، پس از خشک‌کردن گیاهچه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد در درون آون، از ترازوی دقیق استفاده شد.

برای محاسبه درصد جوانه‌زنی از رابطه ۱ که توسط انجمن متخصصان بذر ارائه شده استفاده گردید (ایوب^۴ و همکاران، ۲۰۱۳).
رابطه ۱:

درصد جوانه‌زنی = (تعداد بذرها / جوانه‌زده / تعداد کل بذرها) × ۱۰۰

به منظور بررسی محتوی نسبی آب برگ، بافت تازه برگ را جدا کرده و پس از وزن نمودن برگ (وزن تر) نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در یک ظرف در بسته در آب مقطر شناور شده و وزن آن‌ها دوباره اندازه‌گیری شد (وزن اشباع). بعد از این مدت برگ‌ها به آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت منتقل شدند و وزن خشک برگ‌ها اندازه‌گیری شد. درصد محتوای نسبی آب برگ بر اساس رابطه زیر محاسبه گردید (قاسم^۵ و همکاران، ۲۰۰۳). در این رابطه FW وزن‌تر برگ‌ها، DW وزن خشک برگ‌ها و Tw وزن در تورگر کامل (پس از ۲۴ ساعت در آب مقطر) می‌باشد.

رابطه ۲: محتوای آب نسبی

$$RWC = \left(\frac{FW - DW}{TW - DW} \right) \times 100$$

ضریب آلومتری با محاسبه نسبت وزنی ساقچه به ریشه‌چه (باقری و همکاران، ۱۳۹۰) و ضریب جوانه‌زنی (GC) طبق معادله زیر محاسبه شد (فتحی امیر خیز و همکاران، ۱۳۹۱).

رابطه ۳: ضریب جوانه‌زنی

$$GC = \left(\frac{1}{MGT} \right) \times 100$$

برای تعیین میزان کلروفیل‌های a ، b ، کل و $a+b$ (در مرحله ۴-۲ برگ) بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ، ۰/۵ گرم از برگ تازه به همراه ۵ میلی‌لیتر استون

(۲۰۱۵). این تحقیق به منظور بررسی تأثیر دو هورمون اکسین (IAA) و سیتوکینین (PBA) بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی، خصوصیات جوانه‌زنی، محتوای کلروفیل و رطوبت نسبی برگ گیاه دارویی استویا انجام گردید.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی واکنش گیاه دارویی استویا به منابع هورمونی در مراحل اولیه جوانه‌زنی مطالعه‌ای در سطوح مختلف هورمونی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشگاه شاهد در سال ۱۳۹۴ انجام گرفت. تیمارهای آزمایش عبارت بودند از ۵ سطح هورمون IAA (ایندول-۳-استیک اسید) با غلظت‌های (صفر، ۰/۱، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر) و ۵ سطح هورمون PBA (تترا هیدرو پیرانیل بنزیل آدنین) با غلظت‌های (صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر). به منظور تهیه محلول‌های هورمونی موردنظر، مقدار مشخص از هر هورمون به دقت با ترازو وزن و در نهایت به حجم یک لیتر رسانده شد و با برچسب تفکیک گردیدند. پس از تهیه محلول‌ها، در هر تکرار از تیمار، ۱۰۰ عدد بذر در داخل هر پتری دیش شسته شده با هیپوکلریت سدیم به ابعاد (۱۰×۱/۵ سانتی‌متر) روی کاغذ واتمن شماره ۱ قرار گرفته و به هر پتری‌دیش آب مقطر یا محلول موردنظر (در مجموع ۱۰ میلی‌لیتر) بسته به نوع تیمار افزوده شد. به منظور کاهش میزان تبخیر آب دور پتری‌ها با پارافیلیم بسته شد. سپس پتری‌ها به درون ژرمیناتور با دمای 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد (رازک و همکاران^۱، ۲۰۱۴)، رطوبت نسبی ۷۰٪، ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی (زنگ^۲ و همکاران، ۲۰۱۳) منتقل شدند. شمارش روزانه بذرها جوانه‌زده از روز دوم تا زمان ثابت شدن جوانه‌زنی طی سه روز متوالی به صورت روزانه در ساعتی معین انجام و به هنگام شمارش، بذرهایی جوانه‌زده تلقی شدند که طول ریشه‌چه آن‌ها ۲ میلی‌متر یا بیشتر بود (ایستا^۳، ۲۰۱۰).

^۱ Razak

^۲ Zeng

^۳ ISTA

^۴ Ayub

^۵ Qasim

۸۰ درصد ساییده شد. پس از ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ در دور ۱۳۰۰۰ در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده و جذب عصاره حاصل در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید و در روابط زیر جهت اندازه‌گیری پارامترها وارد شد. در این روابط، V حجم محلول و W وزن نمونه برگ می‌باشد (آرنون^۱، ۱۹۴۹).

رابطه ۴: کلروفیل a

$$Ch_a = 12.7 (A663) - 2.69 (A645) \times V/1000W$$

رابطه ۵: کلروفیل b

$$Ch_b = 22.9 (A645) - 2.69 (A663) \times V/1000W$$

رابطه ۶: کلروفیل کل

$$Ch_T = 20.2 (A645) + 8.02 (A663) \times V/1000W$$

تجزیه داده‌های حاصل توسط نرم‌افزار MSTAT-C و مقایسه میانگین آن‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس صفات (جدول ۱) نشان داد که برهمکنش دو هورمون به درصد جوانه‌زنی از نظر آماری معنی‌دار است ($P < 0.01$). با توجه به نتایج شکل ۱، ترکیب تیماری ($1/5 + 1 \text{ mg/L}$) IAA+PBA با درصد جوانه‌زنی ۶۶/۶۶ بیشترین درصد جوانه‌زنی را نشان داد. با توجه به اینکه تعامل بین اکسین و سیتوکینین بسیاری از جنبه‌های رشد و نمو گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (سو^۲ و همکاران، ۲۰۱۱) و از آنجایی که سیتوکینین‌ها با تحریک سنتز DNA و RNA فرآیند تقسیم سلولی در رویان را افزایش می‌دهند (یاکیمووا^۳ و همکاران، ۲۰۰۰) و اکسین‌ها که به خودی خود هورمون لازم برای جوانه‌زنی بذرها نیستند (میرنسری و اسمیت^۴، ۲۰۱۴) و از طریق کمک به طویل شدن ساقه‌چه و ریشه‌چه (در گندمیان) و نیز با فعال نمودن زمین‌گرایی و نورگرایی، رشد رویان و در نهایت جوانه‌زنی را تنظیم می‌کنند (نبئی و همکاران، ۱۳۹۱). نتایج این تحقیق

نشان داد که تیمار دارای غلظت بالای سیتوکینین ($1/5$ میلی‌گرم بر لیتر) بدون حضور اکسین سبب کمترین درصد جوانه‌زنی گردید؛ بنابراین حضور این دو هورمون در کنار هم و در غلظت‌های مناسب برای فرآیند جوانه‌زنی می‌تواند مؤثر باشد. العربی و حجازی^۵ (۲۰۰۴) بیان داشتند 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 اعمال‌شده $1/5$ میلی‌گرم بر لیتر IAA به همراه ۱ میلی‌گرم بر لیتر PBA برای به حداکثر رسیدن پویایی اندوخته‌های غذایی موجود در بذر و در نهایت جوانه‌زنی سریع‌تر پس از تیمار مناسب باشد و درصد و سرعت جوانه‌زنی را بهبود بخشد.

طول ریشه‌چه و ساقه‌چه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اکسین و اثر متقابل اکسین و سیتوکینین به طول ریشه‌چه از نظر آماری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است (جدول ۱). با توجه به نتایج، ترکیب تیماری ($0.1 + 1 \text{ mg/L}$) IAA+PBA، بیشترین مقدار برای این صفت را نشان داد (جدول ۴). مشابه این نتایج، در بررسی دشموخ و ادی^۶ (۲۰۱۲) مشاهده شد به‌طوری که بهترین پاسخ برای ریشه‌زایی و بدست آوردن بالاترین طول ریشه‌چه در محیط کشت موراشیک و استوک به همراه 0.1 میلی‌گرم بر لیتر IAA مشاهده شد. در آزمایشی که روی ریزازدیادی کلیماتیس (*Clematis orientalis* L.) انجام شد با افزایش سطوح اکسین از طول ریشه‌چه کاسته شد به‌طوری که بیشترین طول ریشه‌چه در 0.4 میلی‌گرم بر لیتر اکسین مشاهده شد و بیشترین ریشه‌زایی و شاخه‌زایی در تیمار شاهد مشاهده گردید (ایزدی صادق‌آبادی و همکاران، ۱۳۹۲).

نتایج جدول ۴ نشان داد که بین این صفت با طول گیاهچه ($r^2 = 0.91^{**}$) و ضریب آلومتری ($r^2 = 0.45^{**}$) همبستگی معنی‌داری وجود دارد.

¹ Arnon

² Su

³ Yakimova

⁴ Miransari and Smith

⁵ El-Araby and Hegazi

⁶ Deshmukh and Ade

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف هورمون اکسین و سیتوکینین بر صفات جوانه‌زنی بذر استویا

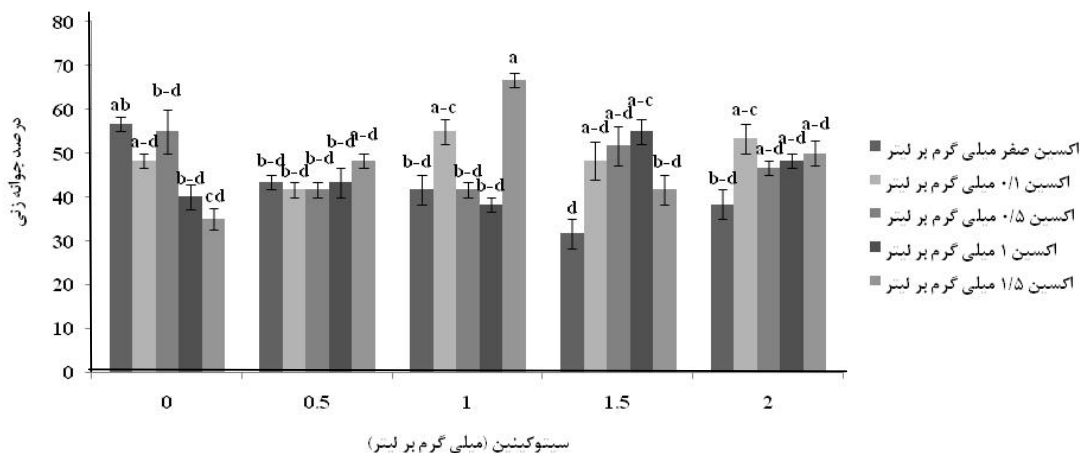
میانگین مربعات						درجه آزادی	منابع تغییرات
ضریب آلومتري	زیست‌توده	طول گیاهچه	طول ریشه‌چه	طول ساقه‌چه	درصد جوانه‌زنی		
۰/۴۸*	۰/۲۸ ^{ns}	۰/۳۸ ^{ns}	۰/۲۸ ^{ns}	۰/۲۱*	۵۸/۸۳ ^{ns}	۴	سیتوکینین
۰/۲۰ ^{ns}	۰/۷۵*	۱/۳۱**	۱/۲۹**	۰/۰۹*	۵۸/۸۳ ^{ns}	۴	اکسین
۰/۶۳**	۱/۵۸**	۰/۷۰*	۰/۷۶**	۰/۰۸ ^{ns}	۲۵۰/۰۸**	۱۶	سیتوکینین × اکسین
۰/۱۰	۰/۳۰	۰/۲۰	۰/۱۶	۰/۰۳	۱۰۵/۳۳	۵۰	خطا
۱۵/۱	۱۸/۲	۱۷/۲	۲۳/۱	۱۷/۱	۲۲/۰		درصد ضریب تغییرات

ns, * و ** به ترتیب غیرمعنی دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

ادامه جدول ۱-

میانگین مربعات					درجه آزادی	منابع تغییرات
کلروفیل کل	کلروفیل b	کلروفیل a	محتوای آب نسبی	ضریب جوانه‌زنی		
۰/۵۷**	۰/۰۴**	۰/۳۹**	۹۴۲/۸۶**	۴۲/۴۵*	۴	سیتوکینین
۰/۴۴**	۰/۱۸**	۰/۱۴**	۱۸۲/۳۸*	۶۶/۵۸*	۴	اکسین
۰/۱۰**	۰/۴۷**	۰/۸۸**	۹۰/۸۷ ^{ns}	۶/۰۰ ^{ns}	۱۶	سیتوکینین × اکسین
۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۰۸	۶۸/۱۹	۹/۵۳	۵۰	خطا
۳/۰	۶/۱	۴/۷	۲۴/۶	۱۰/۳		درصد ضریب تغییرات

ns, * و ** به ترتیب غیرمعنی دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.



شکل ۱- اثر متقابل اکسین و سیتوکینین بر درصد جوانه‌زنی بذر استویا

بر لیتر اکسین بر صفت طول ساقه‌چه بیشترین تأثیر مثبت را باعث شد این در حالی است که بر اساس آزمون دانکن این سطح از تیمار اکسین تفاوت معنی‌داری با سطوح شاهد و ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر اکسین ندارد (جدول ۳). در تحقیق دیگری نیز که بر روی استویا انجام گرفت، آنالیزهای آماری واریانس تفاوت معنی‌داری

با توجه به جدول ۱ نتایج نشان داد که دو هورمون اکسین و سیتوکینین در سطح احتمال ۵ درصد بر صفت طول ساقه‌چه معنی‌دار است. به‌طوری‌که بیشترین مقدار برای این صفت با تیمار ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر و کمترین مقدار آن در تیمار ۱ میلی‌گرم بر لیتر از هورمون سیتوکینین مشاهده شد (جدول ۲). تیمار ۰/۱ میلی‌گرم

زیست‌توده

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثرات متقابل اکسین و سیتوکینین از نظر آماری در سطح احتمال ($P < 0.01$) معنی‌دار است و بیشترین مقدار به‌دست آمده در ترکیب‌های تیماری ($0.1+2\text{mg/L}$)، ($0.1+0.5\text{mg/L}$) IAA+PBA مشاهده شد ($4/33$ میلی‌گرم) (جدول ۱ و ۴). در واقع این نتایج نشان می‌دهند که کمترین غلظت اکسین و دو غلظت بالای سیتوکینین بیشترین تأثیر مثبت را بر افزایش زیست‌توده داشتند. از آنجا که هورمون‌های اکسین و سیتوکینین از طریق تسریع تقسیم سلولی، افزایش ریشه‌های جانبی، بخش هوایی و تشکیل بافت آوندی، رشد و نمو گیاه را تنظیم می‌کنند (دلکر^۴ و همکاران، ۲۰۰۷) در غلظت‌های خاصی افزایش رشد را در پی خواهند داشت. همچنین در مشاهدات ومیل^۵ و همکاران همکاران (۲۰۱۱)، تیمار ۱۰ میکرومولار IAA و IBA وزن تر و خشک را در گیاهچه‌های *Bambusa arundinacea* به یک اندازه و به ترتیب حدود $56/35$ و $56/36$ درصد افزایش دادند. در گیاه صبر زرد (*Aloe vera* L. کاربرد بنزیل آدنین منجر به افزایش زیست‌توده گردید (حضرتی یاد کوری و طهماسبی سروستانی، ۱۳۹۰).

ضریب آلومتري

نتایج نشان داد که هورمون سیتوکینین و اثر متقابل اکسین و سیتوکینین به ترتیب در سطح احتمال ($P < 0.05$) و ($P < 0.01$) بر ضریب آلومتري از نظر آماری معنی‌دار است (جدول ۱). با توجه به جدول ۴، ترکیب تیماری IAA+PBA ($0.1+0.5\text{mg/L}$) بیشترین ترکیب IAA+PBA ($0.1+0.5\text{mg/L}$) کمترین مقدار برای ضریب آلومتري را نشان داد. در آزمایشی که توسط آقایی‌پور و همکاران (۱۳۹۱) بر روی جوانه‌زنی لوبیاجیتی انجام شد ضریب آلومتري صفتی بود که کاربرد ایندول بوتیریک اسید منجر به افزایش آن و در نتیجه کاهش تأثیر منفی تنش شوری شد. در گیاه

در میان تیمارهای IAA نشان نداد (ابراهیم^۱ و همکاران، ۲۰۰۸). به‌طور کلی با توجه به نتایج، برای رسیدن به طول ریشه‌چه و ساقه‌چه بیشتر، غلظت پایینی از اکسین می‌تواند مفید باشد. همچنین برای داشتن طول ساقه‌چه بیشتر غلظت‌های بالاتر از 0.5 میلی‌گرم بر لیتر سیتوکینین در این پژوهش منجر به کاهش طول گردید لذا توصیه نمی‌شود. با توجه به جدول ۵ همبستگی مثبت و معنی‌داری نیز بین طول ساقه‌چه و گیاهچه ($r^2 = 0.31^*$) وجود دارد.

طول گیاهچه

نتایج تجزیه واریانس صفات (جدول ۱)، نشان داد که برهمکنش دو هورمون از نظر آماری بر صفت طول گیاهچه معنی‌دار شد ($P < 0.05$). در اثر متقابل این دو هورمون بالاترین مقدار ($3/77$ سانتی‌متر) برای این صفت در ترکیب تیماری IAA+PBA ($0.1+0.5\text{mg/L}$) مشاهده شد؛ که با ترکیب‌های ($0.1+1/5\text{mg/L}$)، ($0.1+0.5\text{mg/L}$)، ($0.1+1\text{mg/L}$) و ($1+1\text{mg/L}$) تفاوت معنی‌داری نداشت. همچنین ترکیب ($1/5+1/5\text{mg/L}$) IAA+PBA کمترین مقدار ($1/97$ سانتی‌متر) برای صفت طول گیاهچه را نشان داد که با ترکیب‌های ($0.5+1/5\text{mg/L}$) و ($0.5+1\text{mg/L}$) تفاوت معنی‌داری نشان نداد (جدول ۴). نکته قابل توجه، تأثیر مثبت 0.1 میلی‌گرم بر لیتر هورمون اکسین بر طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و در نهایت طول گیاهچه می‌باشد؛ که علت آن را می‌توان به اثر محرک اکسین در غلظت‌های پایین بر روی رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه عنوان کرد. به‌طور کلی اکسین در تشکیل ریشه‌چه نقش دارد و سیتوکینین تحریک افزایش ساقه‌چه و تقسیم سلولی را تحریک می‌کند. وجسادوا^۲ (۲۰۰۶)، در مطالعاتش بر روی ارکیده زمینی^۳ نشان داد که تیمار بذرهای بالغ با IAA، NAA و سیتوکینین‌ها به محیط کشت، رشد گیاهچه‌ها را بهبود می‌بخشد. در این آزمایش مطابق با نتایج جدول ۵ طول گیاهچه با ضریب آلومتري همبستگی منفی و معنی‌داری ($r^2 = -0.47^{**}$) را نشان داد.

¹ Ibrahim

² Vejsadova

³ Terrestrial Orchids

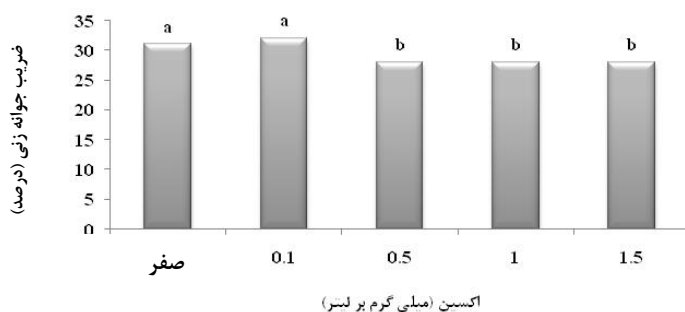
⁴ Delker

⁵ Vamil

سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی و توانایی بذر را جهت رویارویی با موانع جوانه‌زنی افزایش می‌دهد.

محتوای آب نسبی برگ

نتایج تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که تیمار سیتوکینین و اکسین به ترتیب از نظر آماری در سطح احتمال ($P < 0.01$) و ($P < 0.05$) معنی‌دار است (جدول ۱). شواهد موجود حاکی از آن است که تیمار بذر با PBA ۰/۵ میلی گرم بر لیتر بیشترین درصد محتوای آب نسبی (۴۲/۷۳ درصد) را نشان داد و با افزایش غلظت PBA از این مقدار حدود ۴۱/۱۸ درصد کاسته شد (جدول ۲). که احتمالاً می‌تواند به دلیل پتانسیل اسمزی ایجاد شده بوسیله هورمون باشد. هر چند پتانسیل ایجاد شده ناچیز باشد. همچنین استفاده از بالاترین غلظت IAA (۱/۵ میلی گرم بر لیتر) بیشترین محتوای نسبی آب را نشان داد.



شکل ۲- مقایسه اثر اکسین بر میانگین ضریب جوانه‌زنی بذر استویا، حروف مشابه بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال ۵ درصد دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

جدول ۲- مقایسه سطوح مختلف هورمون سیتوکینین برای میانگین خصوصیات جوانه‌زنی استویا

محتوای آب نسبی (درصد)	ضریب جوانه‌زنی (درصد)	طول ساقچه (سانتی‌متر)	غلظت سیتوکینین (میلی گرم بر لیتر)
۴۰/۲۶a	۳۱/۴۶a	۱/۰۳bc	۰
۴۲/۷۳a	۲۷/۶۰c	۱/۲۸a	۰/۵
۳۲/۶۲b	۳۱/۲۰a	۰/۹۷c	۱
۲۵/۱۳c	۳۰/۷۳ab	۱/۰۶bc	۱/۵
۲۶/۴۴c	۲۸/۸۰bc	۱/۱۱bc	۲

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند ($P \leq 0.05$).

استویا با توجه به ارزش اقتصادی اندام هوایی آن، حصول ضریب آلومتری بالا می‌تواند مورد توجه قرار گیرد.

ضریب جوانه‌زنی

نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که هورمون اکسین و سیتوکینین برای ضریب جوانه‌زنی از نظر آماری در سطح احتمال ($P < 0.05$) معنی‌دار هستند. بیشترین تأثیر مثبت هورمون سیتوکینین بر روی این صفت در عدم استفاده از این هورمون به دست آمد که با تیمارهای ۱ و ۱/۵ میلی گرم بر لیتر از این هورمون تفاوت معنی‌داری نشان نداد (جدول ۲). با توجه به شکل ۲، کاربرد هورمون اکسین بر روی این صفت از سطح شاهد تا سطح ۱/۵ میلی گرم بر لیتر کاهش ۱۰ درصدی نشان داد. در آزمایش نبئی و همکاران (۱۳۹۱)، بیشترین درصد و سرعت جوانه‌زنی در سطح ۱۰۰ پی‌پی‌ام برای دو هورمون اکسین و کینتین به دست آمد. به‌طور کلی بنا به گفته ریاضی و همکاران (۱۳۸۶) پیش تیمار کردن منجر به یکسری تغییرات در بذرهای گیاهان مختلف می‌شود که افزایش پتانسیل جوانه‌زنی،

صارمی و همکاران: اثر اکسین و سیتوکینین بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی...

جدول ۳- مقایسه سطوح مختلف هورمون اکسین برای میانگین خصوصیات جوانه‌زنی استویا

غلظت اکسین (میلی گرم بر لیتر)	طول ساقچه (سانتی متر)	محتوای آب نسبی (درصد)
۰	۱/۱۶ a	۳۲/۲۶ab
۰/۱	۱/۱۷ a	۲۸/۵۱b
۰/۵	۱/۰۰ b	۳۶/۰۳ a
۱	۱/۰۱ b	۳۲/۰۰ab
۱/۵	۱/۰۹ ab	۳۷/۳۸a

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند ($P \leq 0.05$).

جدول ۴- مقایسه برهمکنش سطوح مختلف هورمون سیتوکینین و اکسین برای میانگین خصوصیات جوانه‌زنی استویا

ضریب آلومتریک	زبست‌توده (میلی گرم)	طول گیاهچه (سانتی متر)	طول ریشه‌چه (سانتی متر)	IAA (mg/l)	PBA (mg/l)
۲/۳۷b-e	۲/۶۶bc	۲/۵۵c-g	۱/۴۴c-g	۰	
۱/۱۳g	۴/۳۳a	۳/۷۷a	۲/۷۷a	۰/۱	
۲/۲۵ b-f	۳/۳۳abc	۲/۵۴g-c	۱/۶۶c-f	۰/۵	
۲/۲۷b-f	۲/۶۶bc	۲/۷۴b-g	۱/۷۴b-f	۱	۰
۱/۹۸c-f	۲/۶۶bc	۲/۱۶efg	۱/۰۰fg	۱/۵	
۱/۸۵def	۲/۳۳c	۲/۵۸c-g	۱/۴۱c-g	۰	
۱/۹۹ c-f	۲/۳۳c	۳/۴۱abc	۱/۶۰c-f	۰/۱	
۲/۴۸a-d	۳/۳۳abc	۲/۶۳c-g	۱/۵۲c-f	۰/۵	
۱/۷۸ef	۳/۳۳ abc	۲/۹۱b-f	۱/۶۶c-f	۱	
۲/۳۰b-f	۲/۶۶bc	۲/۴۱ d-g	۱/۳۰d-g	۱/۵	۰/۵
۱/۷۷ef	۳/۳۳ abc	۳/۰۵a-e	۲/۰۵a-d	۰	
۲/۷۲ ab	۲/۳۳c	۲/۰۵ fg	۱/۰۵fg	۰/۱	
۲/۸۱ab	۳/۰۰bc	۲/۰۰ g	۱/۰۰fg	۰/۵	
۲/۲۵b-f	۳/۰۰bc	۲/۹۴a-f	۲/۱۱abc	۱	
۲/۷۷ ab	۳/۶۶ba	۲/۲۴d-g	۱/۲۲efg	۱/۵	۱
۳/۰۰ a	۴/۳۳a	۲/۱۰ fg	۰/۹۹ fg	۰	
۱/۶۶fg	۲/۶۶bc	۳/۵۵ ab	۲/۴۷ab	۰/۱	
۲/۰۸c-f	۳/۳۳abc	۲/۰۰ g	۱/۰۰fg	۰/۵	
۱/۸۰ef	۲/۳۳c	۲/۶۶ c-g	۱/۶۶c-f	۱	
۲/۲۱b-f	۲/۶۶bc	۱/۹۷g	۰/۶۸g	۱/۵	۱/۵
۱/۸۷def	۴/۳۳a	۲/۶۱c-g	۱/۱۶efg	۰	
۲/۸۶ abc	۳/۳۳abc	۲/۱۱fg	۱/۱۱efg	۰/۱	
۱/۸۷ def	۲/۳۳c	۲/۹۴ a-f	۱/۸۸b-e	۰/۵	
۲/۲۸ b-f	۳/۳۳abc	۳/۱۱ a-d	۲/۱۱abc	۱	۲
۱/۹۶ c-f	۲/۳۳c	۲/۶۰ c-g	۱/۵۵c-f	۱/۵	

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند ($P \leq 0.05$).

جدول ۵- ضرایب همبستگی ساده بین صفات مربوط به جوانه‌زنی بذر استویا تحت سطوح هورمونی

۸	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱
							۱- درصد جوانه‌زنی
						۱	۲- طول ریشه‌چه
					۱	-۰/۰۷ ^{ns}	۳- طول ساقه‌چه
				۱	۰/۳۱ ^{**}	۰/۹۱ ^{**}	۴- طول گیاهچه
			۱	۰/۰۱ ^{ns}	۰/۰۰ ^{ns}	۰/۱۳ ^{ns}	۵- زیست‌توده
		۱	۰/۰۴ ^{ns}	-۰/۴۷ ^{**}	-۰/۰۸ ^{ns}	-۰/۴۵ ^{**}	۶- ضریب آلومتري
	۱	۰/۱۸ ^{ns}	۰/۰۲ ^{ns}	-۰/۱۴ ^{ns}	۰/۰۵ ^{ns}	-۰/۱۳ ^{ns}	۷- کلروفیل a
۱	۰/۸۹ ^{**}	۰/۱۹ ^{ns}	۰/۱۰ ^{ns}	-۰/۱۹ ^{ns}	-۰/۰۳ ^{ns}	-۰/۲۰ ^{ns}	۸- کلروفیل b
۰/۹۶ ^{**}	۰/۹۷ ^{**}	۰/۲۰ ^{ns}	۰/۰۷ ^{ns}	-۰/۱۹ ^{ns}	-۰/۰۱ ^{ns}	-۰/۱۹ ^{ns}	۹- کلروفیل کل

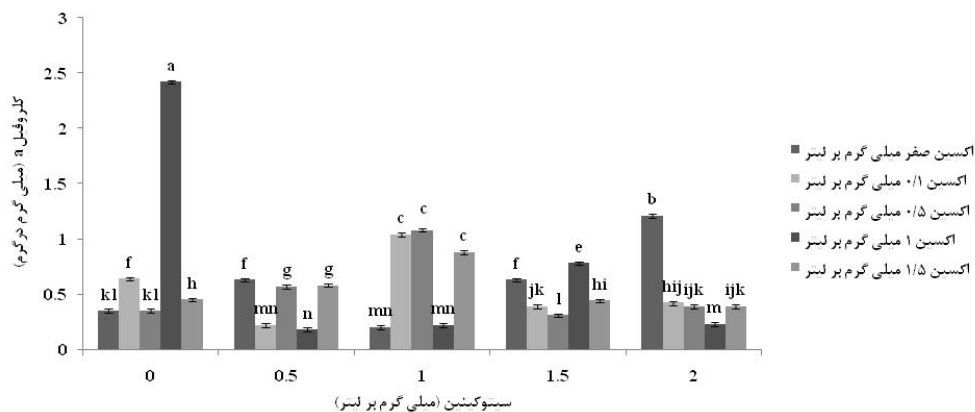
ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

با این حال، نتایج تفاوت معنی‌داری بین سطوح مختلف (به‌جز کاربرد ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر) نشان نداد (جدول ۴). می‌توان گفت اکسین با تأثیر بر جذب مقدار آب در گیاه سبب افزایش مقدار RWC می‌شود (صالحی‌فر و همکاران، ۱۳۹۳). محتوای نسبی آب برگ شاخص مناسبی برای بیان وضعیت آب در گیاهان بوده و وضعیت فراگیری از تعادل بین میزان عرضه آب نسبی برگ و میزان تعرق را نشان می‌دهد. چنانچه محتوای آب نسبی برگ بالا باشد گیاه تورم سلولی خود را حفظ کرده و رشد آن تداوم می‌یابد (مهدوی و صفری، ۱۳۹۴).

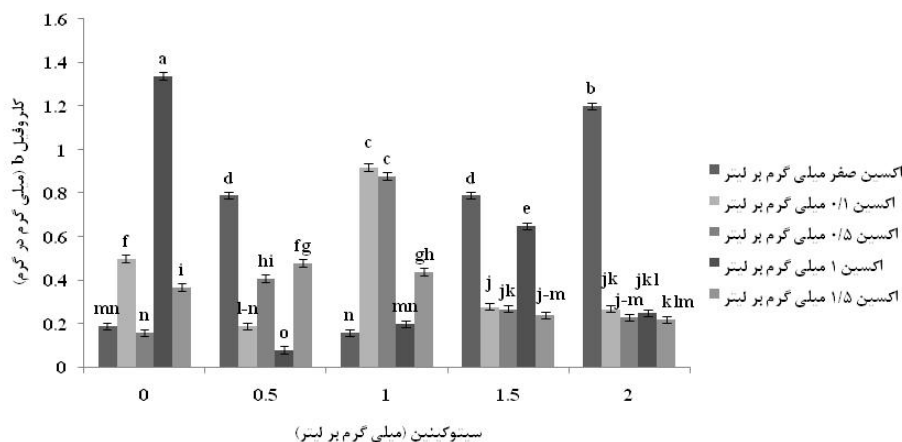
رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی

نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که اثرات متقابل بین هورمون‌ها از نظر آماری در سطح احتمال ($P < 0.01$) بر تمام کلروفیل‌ها معنی‌دار است. کلروفیل‌های a و b بیشترین مقدار (۲/۴۲ میلی‌گرم در گرم برای کلروفیل a و ۱/۳۴ میلی‌گرم در گرم برای کلروفیل b) را در ترکیب تیماری (۱+۰mg/L) IAA+PBA و بعد از آن در تیمار (۰+۲mg/L) IAA+PBA با مقادیر (۱/۲۱ میلی‌گرم در گرم برای

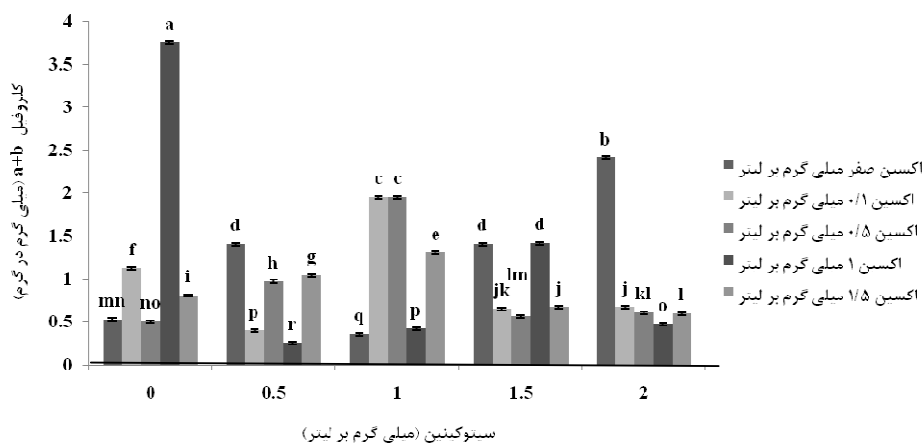
کلروفیل a و ۱/۲۰ میلی‌گرم در گرم برای کلروفیل b به‌دست آوردند (شکل‌های ۳ و ۴). در واقع این نتایج نشان می‌دهد که غلظت‌های بالای از دو هورمون به‌تنهایی توانسته‌اند تأثیر مثبت خود را بر روی این صفت نشان دهند. همچنین تأثیر IAA نسبت به PBA بر روی این دو صفت بهتر بوده به‌طوری که IAA در مقابل PBA برای کلروفیل a و b به ترتیب منجر به افزایش ۵۰ و ۱۰/۴۴ درصدی شد. در مورد کلروفیل کل نیز نتایج مشابه حالت قبل است (شکل ۵) به‌طوری که کاربرد ۱mg/L IAA و ۲mg/L PBA توانست بیشترین مقدار برای این دو صفت را ایجاد کند و افزایش کلروفیل کل تحت تیمار IAA در مقایسه با PBA بیشتر بود. این افزایش حدود ۳۴/۴۳٪ برای کلروفیل کل بود. به‌طور کلی نتایج نشان می‌دهند که اولاً هورمون اکسین بکار رفته در این پژوهش نسبت به سیتوکینین توانست مقادیر بالاتری از رنگیزه‌ها را ایجاد کند و ثانیاً غلظت‌های بالاتری از این دو هورمون بر روی این صفت مؤثرتر واقع شد.



شکل ۳- مقایسه برهمکنش اکسین و سیتوکینین برای میانگین مقدار کلروفیل a در گیاهچه‌های استویا (میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند ($P \leq 0.05$)).



شکل ۴- مقایسه برهمکنش اکسین و سیتوکینین برای میانگین مقدار کلروفیل b در گیاهچه‌های استویا (میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند ($P \leq 0.05$)).



شکل ۵- مقایسه برهمکنش اکسین و سیتوکینین برای میانگین مقدار کلروفیل کل در گیاهچه‌های استویا (میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند ($P \leq 0.05$)).

نتیجه‌گیری

و پویایی آن است و چنانچه در گیاه بالا باشد گیاه قادر خواهد بود تورم سلولی و در نهایت رشد خود را حفظ کند. با توجه به نتایج ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر PBA و IAA بیشترین RWC را نشان دادند که می‌تواند توصیه شود. از طرفی رنگیزه‌های فتوسنتزی در ۱ میلی‌گرم بر لیتر اکسین بیشترین مقادیر را ثبت کردند هر چند گزارشی برای تأثیر مستقیم هورمون اکسین ذکر نشده است، اما ممکن است هورمون اکسین به‌طور غیرمستقیم از طریق کمک به طویل شدن ساقچه‌چه و ریشه‌چه و فعال نمودن نورگرایی مثبت و سریع‌تر ساقچه‌چه و جایگزینی با نور زمینه سنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی را از طریق احیاء پورفیرین‌ها تحریک نماید. به‌طور کلی اعمال این دو هورمون به‌طور جداگانه (به‌خصوص تیمار با IAA) در مقابل تیمار ترکیبی آن‌ها بر بذرهای استویا مؤثرتر واقع شد و توانست نتایج مطلوب‌تری را ثبت کند.

با توجه به نتایج این پژوهش، تیمار بذر با ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر IAA به همراه ۱ میلی‌گرم بر لیتر PBA توانست بالاترین درصد جوانه‌زنی را نشان دهد که برای رسیدن به جوانه‌زنی بالا قابل توصیه است علاوه بر این، سطح شاهد از دو هورمون نیز از تیمارهایی بود که درصد جوانه‌زنی بالایی را نشان داد. بر این اساس احتمالاً خیساندن بذر با آب مقطر در رسیدن به جوانه‌زنی بیشتر می‌تواند مؤثر باشد. از طرفی ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر IAA افزایش در طول ریشه‌چه، ساقچه‌چه، گیاهچه و ضریب جوانه‌زنی را در پی داشت در نتیجه برای رسیدن به حد مطلوبی از این صفات و به‌موجب آن تولید زیست‌توده بیشتر (که یکی از صفات مهم در مورد این گیاه است) می‌تواند مورد توجه قرار گیرد. محتوای آب نسبی برگ نیز از عوامل مؤثر در رشد

منابع

- آقای‌پور، ن.، زواره، م. و خالدیان، م. ر. ۱۳۹۱. تأثیر پیش تیمار با ایندول بوتیریک اسید بر ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر لوبیاچیتی در تنش شوری. مجله تولید و فراوری محصولات زراعی و باغی، ۸(۳): ۹۱-۸۳.
- ایزدی صادق‌آبادی، ا.، خلیقی، ا.، قاسمی پیربلوطی، ا. و تقی‌پور دهکردی، م. ۱۳۹۲. ریزارزدیادی (کشت درون شیشه) کلیماتیس (*Clematis orientalis* L.). فصل‌نامه داروهای گیاهی، ۴(۱): ۴۸-۴۳.
- باقری، م.، جبار زارع، ا. و یاری، ر. ۱۳۹۰. بررسی اثر تنش خشکی بر رفتار جوانه‌زنی و ویژگی‌های مورفولوژیکی گیاهچه درمنه دشتی (*Artemisia sieberi* Besser). مجله پژوهش و سازندگی، ۲۴(۳): ۷۱-۶۵.
- حضرتی یاد کوری، س. و طهماسبی سروسستانی، ز. ا. ۱۳۹۰. بررسی اثر سطوح مختلف کود نیتروژن و محلول‌پاشی هورمون بنزیل آدنین (BA) بر رشد و تولید پاجوش گیاه صبر زرد (*Aloe vera* L.). فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۸(۲): ۲۲۳-۲۱۰.
- ریاضی، ا.، شریف‌زاده، ف. و احمدی، ع. ۱۳۸۶. تأثیر اسموپرایمینگ روی جوانه‌زنی بذرهای ارزن علوفه‌ای. پژوهش و سازندگی، ۲۰(۴): ۸۲-۷۲.
- صالحی‌فر، م.، ربیعی، ب.، افشارمحمدیان، م. و اصغری، ج. ۱۳۹۳. اثر محلول‌پاشی ایندول استیک اسید و کانتین بر صفات گیاهی و شاخص‌های فلورسانس کلروفیل گیاهچه‌های برنج در شرایط تنش خشکی. مجله علوم زراعی ایران، ۱۶(۴): ۲۹۳-۳۰۷.
- فتحی امیرخیز، ک.، امید، ح.، حشمتی، س. و جعفرزاده، ل. ۱۳۹۱. بررسی تأثیر تسریع‌کننده‌ها بر بنیه بذر و خصوصیات جوانه‌زنی گیاه دارویی سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) تحت تنش شوری. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران، ۱۰(۲): ۲۹۹-۳۱۰.
- مهدوی، ب. و صفری، ح. ۱۳۹۴. اثر کیتوزان بر رشد و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک نخود در شرایط تنش شوری. مجله فرآیند و کارکرد گیاهی، ۴(۱۲): ۱۲۷-۱۱۷.

- نبئی، م.، روشندل، پ. و محمدخانی، ع.ا. ۱۳۹۱. تأثیر مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی بر شکست خواب بذرهای گیاه خارمریم (*Silybum marianum* L.). مجله سلول و بافت، ۴(۱): ۴۵-۱۱۴.
- Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphenoxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology, 24(1): 1-15.
- Ayub, M., Ibrahim, M., Noorka, I.R., Tahir, M., Tanveer, A., and 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.
- Azizi, P., Rafii, M.Y., Maziah, M., Abdullah, S.N.A., Hanafi, M.M., Latif, M.A., Rashid, A.A., and Sahebi, M. 2015. Understanding the shoot apical meristem regulation: A study of the phytohormones, auxin and cytokinin, in rice. Mechanisms of Development, 135: 1-15.
- Delker, C., Zolman, B.K., Miersch, O., and Wasternack, C. 2007. Jasmonate biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* requires peroxisomal β -oxidation enzymes—Additional proof by properties of pex6 and aim1. Phytochemistry, 68(12): 1642-1650.
- Deshmukh, S.H., and Ade, R. 2012. In vitro rapid multiplication of *Stevia rebaudiana*: an important natural sweetener herb. Bioscience, 4(3): 105-108.
- El-Araby, M.M., and Hegazi, 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(1): 81-93.
- Gajdosova, S., Spichal, L., Kaminek, M., Hoyerova, K., Novak, O., Dobrev, P.I., and Motyka, V. 2011. Distribution, biological activities, metabolism, and the conceivable function of cis-zeatin-type cytokinins in plants. Journal of Experimental Botany, 62: 2827-2840.
- GhorbaniJavid, M., Sorooshzadeh, A., Moradi, F., Sanavy, S.A.M.M., and Allahdadi, I. 2011. The role of phytohormones in alleviating salt stress in crop plants. Australian Journal of Crop Science, 5(6): 726-734.
- Ibrahim, I.A., Nasr, M.I., Mohammed, B.R., and El-Zefzafi, M.M. 2008. Plant growth regulators affecting in vitro cultivation of *Stevia rebaudiana*. Sugar Technology, 10(3): 254-259.
- ISTA. 2010. International rules for seed testing. International seed testing association (ISTA). 543: 1-53.
- Karuppusamy, S. 2009. A review on trends in production of secondary metabolites from higher plants by in vitro tissue, organ and cell cultures. Journal of Medicinal Plants, 3(13): 1222-1239.
- Kieber, J.J., and Schaller, G.E. 2014. Cytokinins. In the Arabidopsis Book.
- Kumar, R., Sharma, S., and Sood, S. 2014. Yield components, light interception and marker compound accumulation of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) affected by planting material and plant density under western Himalayan conditions. Archives of Agronomy and Soil Science, 60(12): 1731-1745.
- Miransari, M., and Smith, D.L. 2014. Plant hormones and seed germination. Environmental and Experimental Botany, 99: 110-121.
- Pol, J., Ostra, E. V., Karasek, P., Roth, M., Benesova, K., Kotlarlkova, P. and Caslavsky, J. 2007. Comparison of two different solvents employed for pressurised fluid extraction of stevioside from *Stevia rebaudiana*: methanol versus water. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 388(8): 1847-1857.
- Qasim, M., Ashraf, M.M., Jamil, A.M., Rehman, Y.S.U., and Rha, E.S. 2003. Water relations and gas exchange properties in some elite canola (*Brassica napus* L.) lines under salt stress. Annual Application of Biology, 142(3): 307-316.

- Raina, R., Bh, S.K., and 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., and Megeji, N.W. 2006. Cultivation of stevia [*Stevia rebaudiana* (Bertoni)]: A comprehensive review. Advances in Agronomy, 89: 137-177.
- Razak, U. N.A.A., Ong, C.B., Yu, T.S., and Lau, L.K. 2014. In vitro micropropagation of *Stevia rebaudiana* Bertoni in Malaysia. Brazilian Archives of Biology and Technology, 57(1): 23-28.
- Reis, M., Coelho, L., Santos, G., Kienle, U., and Beltrão, J. 2015. Yield response of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) to the salinity of irrigation water. Agricultural Water Management, 152: 217-221.
- Su, Y.H., Liu, Y.B., and Zhang, X.S. 2011. Auxin–cytokinin interaction regulates meristem development. Molecular Plant, 4(4): 616-625.
- Vamil, R., Aniat-ul-haq, R., Agnihotri, K., and Sharma, R. 2011. Effect of certain plant growth regulators on the seedling survival, biomass production and proline content of *Bambusa arundinacea*. Science Research Reporter, 1(2): 44-48.
- Vanneste, S., and Friml, J. 2009. Auxin: a trigger for change in plant development. Cell, 136(6): 1005-1016.
- Vejsadova, H. 2006. Factors affecting seed germination and seedling growth of *Terrestrial Orchids* cultured in vitro. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica, 48: 109-113.
- Woodward, A.W., and Bartel, B. 2005. Auxin: regulation, action, and interaction. Annals of Botany, 95(5): 707-735.
- Yakimova, E., Kapchina, V., Groshkoff, I., and 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): 39-47.
- Zeng, J., Chen, A., Li, D., Yi, B., and 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.
- Zhao, Y. 2010. Auxin biosynthesis and its role in plant development. Annual Review of Plant Biology, 61: 49-64.

The Effect of Auxin and Cytokinin on Some Morpho-Physiological and Germination Characteristics of Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) Seeds

Razieh Sarami¹, Heshmat Omid^{2,*}, Abdolamir Bostani³

¹ M.Sc. Seed Science and Technology, Department of Agronomy, Shahed University Tehran, Tehran, Iran

² Assistant Professor, Agricultural College and Medicinal Plant Research Center, Shahed University Tehran, Tehran, Iran

³ Department of Soil Sciences, Faculty of Agriculture Science, Shahed University Tehran, Tehran, Iran

*Corresponding author, E-mail address: omidi@shahed.ac.ir

(Received: 17.01.2016 ; Accepted: 26.06.2016)

Abstract

The present study was conducted to investigate the efficiency of hormonal pretreatment on increasing germination and early growth of seedling in the Seed Technology Laboratory of Shahed University in 2015 as a factorial experiment, adopting a completely randomized design with 4 replications. The treatments were: 5 levels of IAA (indole-3-acetic acid) namely, zero, 0.1, 0.5, 1 and 1.5 mg/L and 5 levels of PBA (Tetra hydro pyranil benzyl adenine), which were zero, 0.5, 1, 1.5 and 2 mg/L. Analysis of variance showed that the use of the two hormones and their interactions had a significant effect on all traits such as seed germination, biomass, leaf relative water content and photosynthetic pigments. The highest percentage of germination (66.66%) was obtained in 1.5 mg/L IAA with 1 mg/L PBA. 0.5 mg/L PBA and in 0.1 mg/L IAA the longest shoot (1.28 and 1.17 cm, respectively) was obtained. Germination coefficient decreased by about 12.5% by increasing IAA from 0.1 to 1.5 mg/L. The greatest relative water content (42.73% and 37.38%) was obtained with 0.5 mg/L PBA and 1.5 mg/L IAA, respectively. Combination of IAA+PBA (0.1+0 mg/L) had a positive effect on both the length of the root and seedling. The high concentration of PBA and the lowest amount of IAA had similar results in terms of plant biomass. The highest plant biomass (4.33 mg) was obtained in seeds treated with 2 mg/L of cytokinin and 0.1 mg/L of auxin. Photosynthetic pigments were also affected by these two hormones though the IAA was more effective than PBA. The finding was that auxin and cytokinin increase germination and improve the morpho-physiological indicators and thus increase the yield of Stevia.

Keywords: *Indole-3-acetic acid, Tetra hydro pyranil benzyl adenine, Germination coefficient, Biomass*