Plant Production and Genetics
Vol. 4, No. 2, Autumn & Winter2023, p. 213-228
DOI: 10.22034/PLANT.2024.140825.1083

تولید و ژنتیک گیاهی
جلد ۴، شماره ۲، پاییز و زمستان ۱۴۰۲، صفحه ۲۲۸-۲۱۳
مقاله پژوهشی

اثر تیمارهای مختلف بر خواب شکنی بذرگیاه استویا (*Stevia rebudiana*)

لادن ده‌بزرگی[1] ، روح‌اله مرادی[2]، مهدی نقی‌زاده[3]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی بردسیر، دانشگاه شهید باهنر کرمان، بردسیر، ایران
۲. دانشیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشگاه تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران
۳. استادیار، گروه تولیدات گیاهی، مرکز آموزش عالی کشاورزی بردسیر، دانشگاه شهید باهنر کرمان، بردسیر، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۰۹
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۱/۱۶

چکیده

استویا به عنوان یک بخش مهم از صنعت شیرین کننده طبیعی در دنیاست که این امر منجربه تقاضای بیشتر برای تولید استویا شده است. بنابراین به منظور بررسی تیمارهای مختلف خواب شکنی بر بذورگیاه استویا آزمایشی بصورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملا تصادفی با دو فاکتور و چهار تکرار در سال ۱۴۰۰ در آزمایشگاه دانشگاه شهید باهنر کرمان انجام گرفت. فاکتور اول اسید جیبرلیک در سه سطح صفر، ۰/۵ و یک میلی‌مولار و فاکتور دوم در هفت سطح شامل: شاهد، تیمار با آب گرم، نیتروژن مایع، سرمادهی مرطوب به مدت هفت روز، سرمادهی مرطوب به مدت ۱۴ روز، سرمادهی خشک به مدت هفت روز و سرمادهی خشک به مدت ۱۴ روز بود. نتایج نشان داد که تاثیر تیمار دمایی و اسید جیبرلیک بر خصوصیات جوانه‌زنی گیاه استویا در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. در بین تیمارهای مورد مطالعه، برهمکنش سرمادهی خشک و یک درصد جیبرلیک اسید موثرترین تیمار بود و بالاترین درصد جوانه‌زنی (۷۴/۰۱ درصد) و سرعت جوانه‌زنی (۱۴/۱۵ بذر در روز) به تیمار مذکور تعلق داشت. نتایج مقایسات میانگین نشان داد اثر کاربرد اسید جیبرلیک منجر به افزایش معنی‌دار صفات پراکسیدهیدروژن، آلفا آمیلاز، پروتئاز و دهیدروژناز نسبت به شاهد شد. بنابراین، می‌توان چنین بیان نمود که تیمار سرمادهی خشک با یک درصد جیبرلیک اسید می‌تواند بر بهبود خصوصیات جوانه‌زنی در گیاه استویا موثر باشد.

کلیدواژگان: اسید جیبرلیک، آلفا آمیلاز، تیمار دمایی، سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی

*ایمیل نویسنده مسئول: r.moradi@torbath.ac.ir

مقدمه

استویا متعلق به خانواده افتابگردان است (Curry and Ashley, 2008) و در طبیعت به صورت خودرو در نواحی نیمه خشک چمنزارتا کوهستانی می‌روید (Kalpana *et al.*, 2010). استویا حساس به سرما است و برگ‌های کوچک آن بصورت متناوب روی ساقه قرار دارند (Richman *et al.*, *2005*) بذر آن یک فندقه کوچک، سبک و کرکدار است که توسط باد جا به جا می‌شود. وزن هزار دانه آن ۰/۳ تا ۱ گرم است (Kumar and sharma, 2012). بذرهای استویا قدرت جوانه‌زنی بسیار پایینی دارند که ناشی از پوکی، کوچک بودن بذر و خود ناسازگاری آن است و تکثیر از این طریق باعث ایجاد جمعیت همسان در گیاه نمی‌شود در نتیجه باعث تغییرات زیاد در ویژگی‌های مهم مانند ترکیبات شیمیایی می شود و درصد موفقیت در کشت با قلمه بیشتر است (Sivaram and Mukundan, 2003). تکثیر از طریق قلمه از گیاهان مسن استویا کار دشواری است از این رو با توجه به مشکلات فوق، کشت بافت گیاهی و ریزازدیادی بهترین راه تکثیر انبوه این گیاه می باشد که تولید گیاهان ژنتیکی یکسان و عاری از بیماری با دوره‌ی کوتاهی از زمان و هزینه کمتر و قابلیت تولید در تمام مناطق جغرافیایی و تمام فصول سال می‌نماید (Mindore *et al.*, 2002).

البته مطالعات ارائه شده نشان می دهد هیچ توافقی برای دلایل قدرت پایین جوانه زنی بذر استویا وجود ندارد، برخی از محققان خودناسازگاری را علت جوانه زنی ضعیف در بذر استویا عنوان نموده‌اند (Maiti and Purohit, 2008). در حالیکه برخی دیگر گزارش کرده اند که هیچ خودناسازگاری در این گیاه وجود ندارد (Goettemoeller and Ching, 1999). به هرحال جوانه زنی ضعیف در این گیاه مانعی برای کشت در مقیاس بزرگ بوده و سبب کمیاب شدن و گران قیمت بودن مواد مؤثره این گیاه دارویی شده است (Raji *et al.*, 2015; Afshari *et al.*, 2020).

گزارش شده است که پیش تیمار بذر با عناصر ریزمغذی (آهن و روی) و اسید سالیسیلیک در غلظت مناسب (۰/۵ درصد برای سولفات آهن و سولفات روی و ا میلی‌مولار برای اسید سالیسیلیک) می‌تواند به عنوان روشی آسان و کم هزینه در بهبود خصوصیات جوانه‌زنی ضعیف استویا در شرایط نرمال و نیز تنش خشکی مؤثر واقع شود و از اثرات سوء ناشی از این تنش بکاهد (Gorzi *et al.*, 2020). گزارش شده است تیمار بذر استویا با ۱/۵ میلی گرم بر لیتر IAA به همراه ۱ میلی گرم بر لیتر PBA توانست بالاترین درصد جوانه‌زنی را نشان دهد بنابراین این تیمار برای بهبود جوانه-زنی این گیاه توصیه است. علاوه براین، خیساندن بذرها با آب مقطر نیز در رسیدن به جوانه‌زنی بیشتر می تواند موثر باشد (صارمی و همکاران، ۲۰۱۵). ازطرف دیگر، پژوهشگران گزارش کردند که پرایمینگ بذر با اسید جیبرلیک به مدت ۲۴ و۴۸ ساعت، درصد جوانه‌زنی و سایر شاخص‌های جوانه-زنی بذر استویا را افزایش داد. همچنین بیان کردند این تیمار به دلیل تحریک جوانه‌زنی، باعث تعدیل اثرات منفی تنش شوری بر جوانه‌زنی بذور استویا شد. همچنین، مشخص نمودند که هیدورپرایمینگ تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های جوانه زنی بذر استویا ندارد (Aghighi Shahvardi and Omid, 2015) لیپوا- تسکالیدی و همکاران (Liopa-Tsakalidi *et al.*, 2015) به بررسی اثر پیش تیمار 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 جوانه زنی بذر را ایجاد نمود.

در آزمایشی، نتایج بررسی تأثیر تیمارهای مختلف شکست خواب روی بذر گیاه باریجه (*Ferula Gummosa*.) نشان داد که هم کاربرد اسیدجیبرلیک خارجی و هم سرمادهی مرطوب همراه باشستشو، موجب شکست خواب بذر و افزایش درصد جوانه‌زنی در آن شده است (Nadjafi *et al.*, 2006). تحقیقات روی بذرهای گیاه جاشیر (*Prangos ferulaceae*) نشان داد که سرمادهی در دمای پنج و ۱۲ درجه سانتی گراد، به ترتیب ۳۵ و ۲۶ درصد جوانه‌زنی را افزایش داد (Razavi & Hajiboland, 2006). نتایج آزمایشی روی دو جمعیت بذر آنغوزه (*Ferula assafoetida* L.) نشان داد که در هر دو جمعیت مورد بررسی، حداکثر درصد جوانه‌زنی در بذرهای تیمار شده با غلظت‌های کمتر اسیدجیبرلیک در ماه‌های دوم و سوم مشاهده شد (Rajabian *et al.*, 2007). تأثیر تیمارهای مختلف بر شکست خواب بذرهای بیلهر (*Dorema aucheri*) نشان داد که تیمار سرمادهی به مدت چهار هفته به همراه شستشو و ppm۱۵۰۰ اسید جیبرلیک، بیشترین تاثیر را بر شکست خواب فیزیولوژیک موجود در بذرهای این گونه داشته است (Salehi *et al.*, 2015). در تحقیقی روی جوانه‌زنی بذر گیاه جاشیر گزارش شد که تیمارسرمادهی به

مدت شش ماه موجب تفاوت معنی‌دار جوانه‌زنی بذرهای جاشیر نسبت به شاهد شد (Safaian & Azarnivand, 2010). بررسی‌ها نشان می‌دهد تا کنون هیچ گونه تحقیق و مطالعه جامعی در زمینه بررسی روش های مختلف خواب شکنی بر روی بذر گیاه استویا صورت نگرفته است. از این رو ضروری به نظر می‌رسد تا با مطالعه تکنیک‌های مختلف خواب شکنی به بهترین ماده یا روش برای حل این مشکل در گیاه استویا دست یافت و شرایط برای افزایش سطح زیر کشت این گیاه به شکلی ارزان و مقرون به صرفه برای کشاورزان فراهم گردد.

مواد روش‌ها

به‌منظور بررسی تیمارهای مختلف خواب شکنی بر روی بذورگیاه استویا در سال ۱۴۰۰ در آزمایشگاه دانشگاه شهید باهنر کرمان آزمایشی بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۲۸ تیمار و در چهار تکرار انجام گرفت. فاکتور اول اسید جیبرلیک در سه سطح صفر، ۰/۵ و یک میلی‌مولار و فاکتور دوم در هفت سطح شامل: شاهد، تیمار با آب گرم، نیتروژن مایع، سرمادهی مرطوب به مدت هفت روز، سرمادهی مرطوب به مدت ۱۴ روز، سرمادهی خشک به مدت هفت روز و سرمادهی خشک به مدت ۱۴ روز بود. ابتدا بذور گیاه استویا با محلول ۱۰٪ وایتکس به مدت ۵ دقیقه ضد عفونی و سپس سه مرتبه با آب مقطر استریل آبکشی شدند (Scott *et al*., 1984). برای جوانه‌زنی بذور استویا تعداد ۲۰ بذر در پتری دیش هایی بر روی کاغذ صافی قرار گرفت. تعداد بذور جوانه زده در هر پتری هر ۱۲ ساعت یکبار شمارش و یادداشت گردید. پس از پایان جوانه‌زنی، وزن تر ریشه‌چه و ساقه چه، وزن خشک ریشه‌چه و ساقه چه، درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی محاسبه شد (Scott *et al*., 1984)

$$GR= X1 / Y1+ (X2- X1) / Y2 +....+ (Xn – X\ n-1) / Yn$$

شاخص بنیه بذر نیز بعد از اعمال تیمارها با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (Demir *et al*., 2006).

درصد جوانه زنی× طول گیاهچه = شاخص بنیه بذر

برای استخراج عصاره بذری جهت اندازه گیری فعالیت آلفا آمیلاز، از روش مکار و همکاران (Makkar *et al*., 2007) استفاده شد. بدین منظور، از ۰/۵ گرم بذر و پنج میلی لیتر بافر فسفات سدیم ۰/۲ مولار سرد با PH=۷ استفاده شد. فعالیت آلفا آمیلاز در عصاره بذرها با روش بکر (Baker, 1991) و برنفیلد (Bernfeld, 1995) تعیین و جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۴۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر ثبت گردید. مقدار فعالیت آنزیم به‌صورت واحد میلی گرم مالتوز بر گرم وزن تر بذر گزارش گردید. فعالیت آنزیم پروتئاز با استفاده از روش کانتز (Kunitz, 1947) اندازه گیری شد. یک گرم از دانه های در حال جوانه‌زنی در پنج میلی لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار له شده و در دور ۱۲۰۰۰ و دمای ۴۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس از محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیمی استفاده شد. فعالیت آنزیم دهیدروژناز با استفاده از روش لاو و کیتوک (Law and Kittock, 1968) تعیین گردید. برای تخمین فعالیت دهیدروژنازی، دانه‌ها به دو بخش برش داده شد و محور جنینی خارج گردید. یک میلی‌لیتر محلول ۳، ۲ و ۵ تری فنیل تترازولیوم کلراید ۱٪ در داخل بافر فسفات ۰/۱ مولار با پی اچ ۷/۲ به ظرف محتوی محور جنینی اضافه و به مدت ۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و در محیط تاریک قرار داده شد. سپس محلول اضافه شده تخلیه و محورهای دانه با استفاده از آب مقطر شستشو شد. در ادامه محورهای دانه در متیل سلوسولو به مدت یک شبانه روز خیسانده شد و تا استخراج فورمازان قرمز رنگ شده بر روی شیکر قرار گرفت. در نهایت شدت رنگ تولید شده با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۸۰ نانومتر سنجیده شد.

آنالیز آماری

داده‌های بدست آمده با نرم افزار SAS نسخه ۹/۴ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد مقایسه گردید.

نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تاثیر تیمارهای اسید جیبرلیک، دمایی و برهمکنش آن ها بر درصد جوانه‌زنی استویا در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

نتایج مقایسه میانگین برهمکنش اسید جیبرلیک و تیمار دمایی نشان داد که در بین تیمارهای مورد بررسی، کاربرد سرمادهی خشک به مدت ۱۴ روز با یک میلی‌مولار اسید جیبرلیک بیشترین درصد جوانه‌زنی (۷۴/۰۱ درصد) را شامل شد (جدول ۲). این تیمار باعث افزایش حدود ۴۰ درصدی درصد جوانه‌زنی استویا نسبت به شاهد شد. نتایج نشان داد که سطح یک میلی‌مولار اسید جیبرلیک در تمام

تیمارهای دمایی، درصد جوانه‌زنی بیشتری نسبت به عدم کاربرد اسید جیبرلیک و سطح ۰/۵ میلی‌مولار آن دارا بود. در شرایط عدم استفاده از اسید جیبرلیک، فقط تیمارهای سرمادهی خشک به مدت ۷ و ۱۴ روز اختلاف معنی‌داری با شاهد نشان دادند. در سطح یک میلی‌مولار اسید جیبرلیک، کلیه تیمارها به استثنای تیمار یک میلی‌مولار جیبرلیک اسید، درصد جوانه‌زنی بیش از ۹۰ درصد را دارا بودند (جدول ۲). به نظر می رسد خواب استویا بیشتر از نوع فیزیولوژیک می‌باشد چراکه تایید شده است تیمارهای اسیدجیبرلیک و سرمادهی در از بین بردن خواب فیزیولوژیک بذر نقش دارند (Kwon *et al*., 2020). سرمادهی و اسید جیبرلیک سبب تسریع فرایندهای بیوشیمیایی و تجزیه نشاسته شده و انرژی کافی برای جوانه‌زنی با سرعت بیشتری در اختیار جنین قرار می‌گرد نقش مثبت جیبرلیک اسید و سرمادهی در شکستن خواب بذر گیاهان مختلف دارویی گزارش شده است (Mousavi Naserabad *et al*., 2020).

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تاثیر تیمارهای مختلف دمایی و اسید جیبرلیک بر برخی خصوصیات جوانه‌زنی

منابع تغییر	درجه آزادی	درصدجوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	میانگین جوانه‌زنی	بنیه بذر	وزن خشک ریشه چه	وزن خشک ساقه چه
اسیدجیبرلیک (A)	۲	۶۷۵**	۷۷/۷**	۸/۱۲**	۲۴۱۸**	۰/۱۲۵**	۱/۸۲**
تیمار دمایی (B)	۶	۴۶۴**	۳۵/۲**	۳/۷۳**	۵۴۲**	۰/۰۳**	۱/۷۷**
A×B	۱۲	۴۳/۷**	۶/۹۹**	۰/۲۱**	۴۷/۹**	۰/۰۰۶**	۱/۶۲**
خطا	۶۳	۷/۹۵	۰/۶۳	۰/۰۴	۱/۹۶	۰/۰۰۰۱	۰/۲۱
ضریب تغییرات	-	۴/۳	۸/۸	۳/۲	۶/۴	۲/۱	۱/۵

** نشان دهنده معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد

سرعت جوانه‌زنی: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تاثیر تیمارهای اسید جیبرلیک، دمایی و برهمکنش آن ها بر سرعت جوانه‌زنی در گیاه استویا در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

با توجه به مقایسات میانگین (جدول ۳) مشاهده شد گیاهان تیمار شده با تیمار سرمادهی خشک به مدت ۱۴ روز با یک میلی‌مولار اسید جیبرلیک بیشترین مقدار سرعت جوانه‌زنی (۱۴/۱۵ بذر در روز) را به خود اختصاص دادند، که اختلاف معنی‌داری با شاهد (۴/۶۵ بذر در روز) که کمترین سرعت جوانه‌زنی را دارا بود، داشت. بین تیمار آب گرم و یک میلی‌مولار اسید جیبرلیک با تیمار نیتروژن مایع و یک میلی‌مولار اسید جیبرلیک، اختلاف معنی‌داری از نظر سرعت جوانه‌زنی وجود نداشت. تیمار سرمادهی مرطوب پس از ۱۴ روز و یک میلی‌مولار اسید جیبرلیک نیز با تیمار سرمادهی خشک پس از ۷ روز و یک میلی‌مولار اسید جیبرلیک اختلاف معنی‌داری نداشتند. اگر چه سرمادهی مرطوب پس از هفت روز و یک میلی‌مولار اسید جیبرلیک با تیمار سرمادهی مرطوب پس از ۱۴ روز با یک میلی‌مولار اسید جیبرلیک اختلاف معنی‌داری نداشت، اما با با سرما دهی خشک به مدت ۷ روز و یک میلی‌مولار اسید جیبرلیک اختلاف معنی‌داری داشت. بطور کلی کاربرد تیمار اسید جیبرلیک یک میلی‌مولار باعث افزایش ۷۰ درصد سرعت جوانه‌زنی گردید. بین برهمکنش تیمارهای دمایی با کاربرد اسید جیبرلیک، تیمار سرمادهی خشک در ۱۴روز + اسید جیبرلیک یک میلی‌مولار بیشترین تاثیر را بر سرعت جوانه‌زنی داشت. اثر متقابل تیمار سرمادهی خشک و اسید جیبرلیک یک میلی‌مولار نسبت به تیمار برهمکنش اآب گرم در ۱۵ دقیقه + اسید جیبریک یک میلی‌مولار در سطح احتمال یک درصد معنی‌دارد بود (جدول۲). نتایج نشان داد در کلیه تیمارهای دمایی، پیش تیمار با یک میلی‌مولار اسید جیبرلیک سرعت جوانه‌زنی بالاتری نسبت به سطوح ۰/۵ و صفر میلی‌مولار آن داشتند (جدول ۲).

سرعت جوانه‌زنی گیاهان با محیط زندگی گیاه مادری آنها همبستگی دارد و می‌تواند تحت تأثیر شرایط محیطی و بیولوژیکی نظیر دما، شدت و کیفیت نور، فتوپریود، تغذیه و موقعیت بذر در هنگام رشد آن بر روی گیاه مادری قرار بگیرد (Eslami *et al*., 2007, Rosta and Parsayi 2017). عوامل متعددی روی قدرت بذر اثر دارند که مهم‌ترین آن‌ها شامل ساختار ژنتیکی، محیط و تغذیه گیاه مادر، ذخایر بذر،

مرحله رسیدگی در زمان برداشت و پاتوژن‌ها می‌باشند (Rosta and Parsayi, 2017) پرایمینگ یا آماده سازی بذر از جمله روش های افــزایش قدرت جوانه‌زنی بذر است (Farooq *et al.*, 2007).که به طور گسترده ای برای افزایش یکنواختی و درصد جوانه‌زنی مورد استفاده قرار می گیرد و از طــرف دیگــر باعــث کــاهش حساســیت جوانــه‌زنــی بــذر بــه عوامــل بیرونــی می‌شــود (Najafi *et al.*, 2006; Sharifi *et al.*, 2017). فرضیات متعددی در رابطه با تاثیر سرما در شکستن خواب بذر وجود دارد که از آن جمله می توان به تاثیر سرما در کاهش یا حذف بازدارنده‌های جوانه‌زنی درون بذر مانند فعال کردن آنزیم جیزلیک اسید و کاهش فعالیت آبسیزیک اسید اشاره کرد (Yamaguchi and Kamiya, 2000).

جدول ۲- مقایسه میانگین خصوصیات جوانه‌زنی گیاه استویا تحت تاثیر تیمارهای مختلف دمایی و اسید جیبرلیک

سطوح اسید جیبرلیک (mM)	تیمار دمایی	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	بنیه بذر	میانگین زمان جوانه‌زنی (روز)	وزن خشک ساقه چه (g)	وزن خشک ریشه چه (g)	وزن ریشه چه/ ساقه چه
	Control	۳۴/۵l	۴/۶۵e	۸/۴۶i	۱۷/۱۰a	۰/۱۲۸c	۰/۱۰۲c	۰/۷۷۳ab
	W80-15m	۴۷k	۴/۹de	۸/۹۲i	۱۳/۲b	۰/۱۳۱c	۰/۱۱۳c	۰/۸۲۹ab
	LN	۴۹j	۵/۶۵de	۹/۳۹hi	۱۳/۸۹b	۰/۱۴۸c	۰/۱۱c	۰/۷۴۱b
۰	CW-7D	۵۳i	۵/۹de	۱۰/۴۳hi	۱۳/۹b	۰/۱۵۱c	۰/۱۱۸c	۰/۷۷۹ab
	CW-14D	۵۴i	۵/۹۲de	۱۱/۲۳hi	۱۳/۱۰b	۰/۱۵۳c	۰/۱۱۳c	۰/۷۳۵b
	CD-7D	۵۴i	۶/۷۵d	۱۲/۱۳h	۱۱/۷۴c	۰/۱۶۷bc	۰/۱۱۳c	۰/۶۷۷cb
	CD-14D	۵۴i	۷/۹cd	۱۶/۹۰g	۱۱/۷۹c	۰/۱۸۴bc	۰/۱۳۹c	۰/۶۴۴cb
	Control	۵۲i	۵/۷۵de	۱۰/۹۲hi	۹/۵۹d	۰/۲۰۳bc	۰/۱۳۲c	۰/۶۵cb
	W80-15m	۵۷h	۶de	۱۶/۲۵g	۹/۲d	۰/۲۱۲bc	۰/۱۳۳c	۰/۶۲۷bc
	LN	۵۹g	۶/۹d	۱۷/۱۸g	۹/۴۷d	۰/۲۳۴bc	۰/۱۴۵c	۰/۶۱۶bc
۰/۵	CW-7D	۶۰fg	۷/۲۵cd	۲۲/۰۴f	۱۰/۰۴d	۰/۲۴bc	۰/۱۵۵bc	۰/۶۴۶cb
	CW-14D	۶۰f	۸/۷۵cd	۲۷/۱۳de	۱۰/۰۸d	۰/۲۵۶bc	۰/۱۶۲bc	۰/۶۳۳bc
	CD-7D	۶۱f	۱۰/۱۵bc	۲۸/۳۲de	۹/۱۲d	۰/۲۶b	۰/۱۵۹bc	۰/۶۱۲bc
	CD-14D	۶۲ef	۱۲/۴ab	۳۶/۲۲c	۹/۲۳d	۰/۳۰۷ab	۰/۱۶۳bc	۰/۵۲۹c
	Control	۶۰f	۶/۴de	۲۲/۲۵f	۷/۵۲e	۰/۳۴۵ab	۰/۱۷۸bc	۰/۵۱۴c
	W80-15m	۶۷/۵d	۶/۷۵d	۲۳/۶۱ef	۷/۶e	۰/۳۴۷ab	۰/۱۸۹bc	۰/۵۴۵bc
	LN	۶۷/۵d	۹/۱۵cd	۲۵/۷۴e	۷/۸۹e	۰/۳۶۶a	۰/۱۹۱bc	۰/۵۲۱c
۱	CW-7D	۶۹/۵c	۹/۲۵c	۳۰/۵d	۷/۳۰e	۰/۳۷۵a	۰/۲۵۵b	۰/۶۷۹bc
	CW-14D	۷۰/۵bc	۱۱/۹b	۳۵/۰۵c	۷/۶۱e	۰/۳۷۸a	۰/۲۷۸ab	۰/۷۳۵b
	CD-7D	۷۱/۵b	۱۱/۹b	۴۰/۳۷b	۷/۷۱e	۰/۳۸۱a	۰/۳۱۸ab	۰/۸۳۴ab
	CD-14D	۷۴/۱۰a	۱۴/۱۵a	۴۷/۵۱a	۷/۳۳e	۰/۳۸۵a	۰/۳۷۴a	۰/۹۷۱a

در هر ستون، میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک، اختلاف معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ندارند
شاهد (عدم تیمار دمایی): Control، تیمار آب گرم (۱۵ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد): W80-15m، تیمار نیتروژن مایع: LN، تیمار سرمادهی (۴ درجه سانتی گراد) مرطوب به مدت هفت روز: CW-7D، تیمار سرمادهی مرطوب به مدت ۱۴ روز: CW-14D، تیمار سرمادهی خشک به مدت هفت روز: CD-7D، تیمار سرمادهی خشک به مدت ۱۴ روز): CD-14D

بنیه بذر: با توجه به نتایج تجزیه واریانس، اثر تیمارهای دمایی و سطوح مختلف تیمار اسید جیبرلیک اسید و همچنین برهمکنش این دو تیمار بر صفت بنیه بذر در سطح احتمال یک در صد معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل پیش تیمارهای دمایی و اسید جیبرلیک نشان داد که کمترین میزان بنیه بذر مربوط به شاهد با میانگین ۸/۴۶۶ بود. اما تیمار سرما دهی خشک در ۱۴ روز با اسید جیبرلیک یک میلی‌مولار بیشترین میانگین (۴۷/۵۱) را به خود اختصاص داد و باعث افزایش حدود ۵/۵ برابری این شاخص نسبت به شاهد شد. شاهد با تیمارهای آب گرم، سرمادهی مرطوب به مدت هفت روز و سرمادهی مرطوب به مدت ۱۴روز اختلاف معنی‌داری نداشت ولی با سرمادهی خشک به مدت ۷ روز اختلاف معنی‌داری داشت. برهمکنش تیمارهای دمایی سرمادهی با اسید جیبرلیک

یک میلی‌مولار بیشترین تاثیر نسبت به سایر تیمارها بر بنیه بذر داشت. نتایج نشان داد که در هر سه سطح اسید جیبرلیک، تیمار سرمادهی خشک در ۱۴ روز بالاترین میزان بنیه بذر را دارا بود (جدول۳).

گزارش شده است که تیمار سرمادهی سبب کاهش میزان هورمون‌های بازدارنده و افزایش هورمون‌های محرک شده و به این ترتیب سبب افزایش پتانسیل جوانه زنی بذر می شود. کاهش تراز اسید آبسزیک سبب افزایش حساسیت رویان به اسید جیبرلیک در مرحله گذار از حال خواب به حالت غیر خواب در بذر بسیاری از گونه ها می‌شود (Kucera *et al*., 2005). از طرف دیگر، قرار دادن بذرها برای مدت مشخص در شرایط سرد و مرطوب، تأثیر قابل توجهی بر نرم شدن پوسته سخت بذرها و حذف و شستشوی مواد بازدارنده رشد موجود در پوسته دارند (Yalamalle *et al*., 2023). همچنین، تایید شده است تیمار بذرها با اسید جیبرلیک باعث افزایش نسبت اسید جیبرلیک به آبسزیک اسید درون بذر و در نتیجه افزایش بنیه و جوانه زنی بذرها می‌شود (Kwon *et al*., 2020).

میانگین زمان جوانه‌زنی: نتایج تجزیه واریانس زنی حاکی از آن بود که اثر متقابل سطوح مختلف تیمار اسیدجیبرلیک و تیمارهای مختلف دمایی بر روی صفت میانگین زمان جوانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دارد بود (جدول ۱). باتوجه به مقایسات میانگین برای صفت میانگین جوانه-زنی بیشترین میانگین (۱۷/۱۰) مربوط به شاهد بود و کمترین میانگین جوانه‌زنی مربوط به سرمادهی خشک با یک میلی‌مولار اسید جیبرلیک بود که اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشت. اگر چه تیمار سرمادهی خشک به مدت ۱۴ روز یک میلی‌مولار جیبرلیک اسید دارای کمترین میانگین (۷/۳۳) بود. اما این تیمار با تیمارهای یک میلی‌مولار جیبرلیک اسید، آب گرم و یک میلی‌مولار جیبرلیک اسید، نیتروژن مایع و یک میلی‌مولار جیبرلیک اسید، سرمادهی مرطوب به مدت هفت روز و ۱ میلی‌مولار اسید جیبرلیک، سرمادهی مرطوب به مدت ۱۴روز و یک میلی‌مولار جیبرلیک اسید، و سرمادهی خشک به مدت هفت روز و یک میلی‌مولار اسید جیبرلیک اختلاف معنی‌داری نداشت. لازم به ذکر است که تمام تیمارهای استفاده شده در این تحقیق در بررسی صفت مدت زمان جوانه‌زنی با شاهد اختلاف معنی‌داری داشت. بطوری که برهمکنش تیمار سرمادهی خشک به مدت ۱۴ روز و تیمار اسید جیبرلیک یک میلی‌مولار باعث کاهش حدود ۵۸ درصد میانگین زمان جوانه‌زنی بذرهای استویا گردید. تیمار سرمادهی خشک به تنهایی باعث کاهش ۲۸ درصدی زمان جوانه‌زنی نسبت به شاهد گردید اما با اضافه شدن اسیک جیبریک برهمکنش این دو تیمار باعث کاهش معنی‌دار میانگین جوانه‌زنی بذرو گردید. با افزایش سطوح اسید جیبرلیک از۰/۵ میلی‌مولار به یک میلی‌مولار در سرمادهی خشک به مدت ۱۴ روز کاهش ۲۰ درصدی میانگین زمان جوانه‌زنی گردید (جدول ۲). بررسی نحوه عمل بیوشیمیایی جیبرلین ها نشان می دهد که این مواد باعث تحریک فعالیت RNA پلی مراز شده و در نتیجه میزان و کیفیت رونویسی از DNA را بهبود می‌بخشد (Lv *et al*., 2021). هورمون جیبرلین با القاء تغییراتی در مراحل رونویسی و یا ترجمه برخی از ژن‌ها باعث ایجاد تغییرات مختلف کمی و کیفی در سوخت و ساز برخی از پروتئین‌ها می‌شوند و در نهایت سنتز آنزیم های هیدرولیز کننده مولکول‌های ذخیره ای بذر را تحریک می‌نمایند. این آنزیم‌ها واکنش ضروری جهت تولید انرژی و ترکیبات ساختمانی لازم برای رشد و ظهور جنین را کاتالیز می‌نمایند و به این ترتیب پدیده جوانه زنی را القاء می‌کنند (Peng and Harberd, 2002).

وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه: طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس تاثیر سطوح مختلف تیمار اسید جیبرلیک و تیمارهای مختلف دمایی بر وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه استویا در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. همچنین، نتایج نشان داد که اثر متقابل این تیمارها بر وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

مقایسات میانگین وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه نشان داد کمترین وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه مربوط به شاهد با میانگین (ریشه‌چه ۰/۱۰۲ و ساقه‌چه ۰/۷۷۸ گرم) بود. بیشترین وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه مربوط به تیمار سرما دهی خشک در ۱۴ روز توام با کاربرد ا میلی‌مولار اسید جیبرلیک با میانگین‌های ریشه‌چه ۰/۳۷۴ و ساقه‌چه ۰/۹۷۱ گرم بود. تیمارهای یک میلی‌مولار جیبرلیک اسید + آب گرم و یک میلی‌مولار جیبرلیک اسید + نیتروژن مایع و یک میلی‌مولار جیبرلیک اسید + سرمادهی مرطوب به مدت هفت روز، ۱ میلی‌مولار اسید جیبرلیک + سرمادهی مرطوب به مدت ۱۴روز، یک میلی‌مولار جیبرلیک اسید +

سرمادهی خشک به مدت هفت روز و یک میلی‌مولار اسید جیبرلیک اختلاف معنی‌داری باهم نداشتند. اگرچه بین این تیمارها بیشترین مقدار مربوط به سرمادهی خشک با یک میلی‌مولار اسید جیبرلیک بود اما اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نداشت. اما تمام این تیمارها با شاهد، اختلاف آماری معنی‌داری داشتند (جدول۲). در سطح صفر میلی‌مولار اسید جیبرلیک، اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف دمایی از نظر طول ریشه چه مشاهده نشد ولی از نظر وزن خشک ساقه چه، تیمار سرمادهی خشک به مدت ۱۴ روز افزایش معنی‌داری نسبت به دیگر تیمارها و شاهد را باعث شد. در سطح پیش تیمار با یک میلی‌مولار اسید جیبرلیک، سه تیمار سرمادهی مرطوب به مدت ۱۴ روز، سرمادهی خشک به مدت هفت روز و تیمار سرمادهی خشک به مدت ۱۴ روز بدون اختلاف معنی‌دار با یکدیگر، بیشترین وزن خشک ریشه چه را دار بودند و به ترتیب منجر به افزایش حدود ۶۳، ۶۳ و ۷۲ درصدی این شاخص نسبت به تیمار شاهد شدند. درخصوص وزن خشک ساقه‌چه نیز در سطح یک میلی‌مولار اسید جیبرلیک، تیمار سرمادهی خشک به مدت ۱۴ روز با اختلاف معنی‌دار نسبت به دیگر تیمارها منجر به افزایش ۶۰ درصدی نسبت به شاهد شد. احتمال داده می شود که افزایش جیبرلیک اسید خارجی از طریق پیش تیمار بذر استویا با این ماده سبب افزایش غلظت هورمون های محرک جوانه زنی و ایجاد تعادل هورمونی در داخل بذر شده و یا ممکن است با کاهش مقاومت پوسته بذر این گیاه باعث شروع فرآیند جوانه‌زنی در آن شده باشد (Mousavi Naserabad *et al*., 2020). تسریع در سرعت جوانه‌زنی خود نقش مهمی در افزایش طول و وزن ریشه‌چه و ساقه‌چه دارد.

نسبت وزن خشک ریشه چه به ساقه چه: نتایج مقایسه میانگین برهمکنش اسید جیبرلیک و تیمار دمایی نشان داد که در بین تیمارهای مورد بررسی، کاربرد سرمادهی خشک به مدت ۱۴ روز با یک میلی‌مولار اسید جیبرلیک بیشترین نسبت وزن خشک ریشه چه به ساقه چه (۰/۹۷۱) را شامل شد. همچنین نتایج مقایسات میانگین اثرات متقابل بین تیمارهای مورد بررسی بر صفت نسبت وزن خشک ریشه چه به ساقه چه حاکی از آن بود که برهمکنش تیمار سرمادهی خشک و اسید جیبرلیک تاثیر معنی‌داری بر این معنی‌داری بر این صفت داشت. برهمکنش سرمادهی خشک و اسید جیبرلیک یک میلی‌مولار سبب افزایش ۳۳ درصدی این صفت نسبت به کاربرد سرمادهی خشک به مدت ۱۴ روز را داشت (جدول۲).

فعالیت آنزیم دهیدروژناز

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تاثیر تیمارهای دمایی و سطوح مختلف اسید جیبرلیک و اثر متقابل این تیمارها بر فعالیت آنزیم دهیدروژناز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

نتایج مقایسات میانگین حاصل از این پژوهش نشان داد فعالیت آنزیم دهیدروژناز در تیمار سرمادهی خشک به مدت ۱۴ بیشترین میانگین (۲/۱۹ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) را به خود اختصاص داد. اما این تیمار با تیمارهای سرمادهی خشک به مدت هفت روز (۲/۱۷ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) و سرمادهی مرطوب طی ۱۴ روز (۲/۰۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، سرمادهی مرطوب طی ۷ روز (۲/۰۳ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) و نیتروژن (۱/۹۴ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) اختلاف آماری معنی‌داری نداشت (جدول۴).

از آنجائیکه پیش تیمار بذر استویا با تیمارهایی مانند سرما احتمالا منجربه نفوذپذیری پوسته بذر و تسریع در فرآیند آبنوشی و آماس بذر می‌گردد (Rasouli *et al*., 2020)، چون انتشار گاز اکسیژن در آب بشدت کاهش می‌یابد، بعد از فرایند آبنوشی و آماس بذر معمولا کمبود اکسیژن در بذر رخ می‌دهد و آبنوشی بذر نفوذپذیری اکسیژن را تضعیف می‌کند. در این شرایط تولید انرژی از طریق تخمیر اتفاق می‌افتد (Rosental *et al*., 2014). تایید شده است که فعالیت بیشتر آنزیم دهیدروژناز عامل بسیار مهمی در تأمین سریعتر انرژی بعد از آبنوشی بذر در شرایط کمبود اکسیژن جهت تامین انرژی سوخت و ساز فرآیند جوانه‌زنی می‌باشد. چرا که گزارش شده است فعالیت آنزیم دهیدروژناز NADPH برای واکنش های بیوسنتزی اکسیداسیون و احیا را تأمین می‌کند (Corpas *et al*., 2014).

جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تاثیر تیمارهای مختلف دمایی و اسید جیبرلیک بر صفات بیوشیمیایی

منابع تغییر	درجه آزادی	فعالیت پراکسیدهیدروژن	فعالیت آلفاآمیلاز	فعالیت آنزیم پروتئاز	فعالیت آنزیم دهیدروژناز
اسیدجیبرلیک (A)	۲	۳/۷۵**	۱/۱۹	۵۸/۶**	۰/۲۱۳**
تیمار دمایی (B)	۶	۰/۴۲۱**	۰/۷۵۳**	۱۴/۵**	۰/۵۱۶**
B ×A	۱۲	۰/۰۳۶**	۰/۰۱۹**	۳/۱**	۰/۰۱۴**
خطا	۶۳	۰/۰۰۹	۰/۰۰۴	۰/۵۵	۰/۰۰۲
ضریب تغییرات	-	۹/۹	۱/۸	۸/۲	۲/۴

** نشان دهنده معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد می باشد

فعالیت آنزیم پروتئاز: نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر سطوح مختلف اسید جیبریک و تیمار مختلف دمایی بر فعالیت آنزیم پروتئاز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳).

با توجه به نتایج حاصل از مقایسات میانگین، بیشترین میزان فعالیت آنزیم پروتئاز مربوط به تیمار یک میلی‌مولار جیبرلیک اسید به همراه سرمادهی خشک به مدت ۱۴ روز بود. این تیمار اختلاف معنی‌داری با شاهد که دارای کمترین میزان فعالیت آنزیم پروتئاز بود داشت. اما با تیمارهای سرمادهی خشک به مدت هفت روز و یک میلی‌مولار اسید جیبرلیک و سرمادهی مرطوب به مدت ۱۴روز و یک میلی‌مولار جیبرلیک اسید اختلاف آماری معنی‌داری نداشت. با کاربرد تیمار دمایی سرمادهی خشک به مدت ۱۴ روز، افزایش تقریبا ۵/۱ برابری آنزیم پروتئاز نسبت به شاهد مشاهده گردید. برهمکنش تیمار اسید جیبرلیک و سرمادهی باعث افزایش ۶۳ درصدی این آنزیم گردید برابری این آنزیم نسبت به شاهد شد. برهمکنش تیمارهای دمایی سرمادهی با اسید جیبرلیک یک میلی‌مولار، بیشترین تاثیر نسبت به سایر تیمارها بر فعالیت این آنزیم را داشت. نتایج نشان داد که در هر دو سطح اسید جیبرلیک، تیمار سرمادهی خشک در ۱۴ روز بالاترین میزان فعالیت این آنزیم را دارا بود (جدول۳).

آنزیم پروتئاز در تجزیه پیوندهای پپتیدی مولکول پروتئین و رهاسازی اسیدهای آمینه نقش اساسی دارد. همزمان با تجزیه پروتئین‌ها در حین جوانه‌زنی بذرها، میزان آمینواسیدها و آمیدها در لپه و به دنبال آن، میزان ساخت پروتئین در نقاط رشد جنین زیاد می‌شود. مواد هیدرولیز شده در نهایت جهت مصرف جنین بذرهای در حال رشد مورد استفاده قرار می‌گیرد (Rasouli *et al*., 2020; Ali & Elozeiri, 2017). در پژوهشی بر روی بذر گیاه *Ferula ovina* نشان داد که که با افزایش مدت زمان سرمادهی، محتوی آنزیم پروتئاز افزایش یافت؛ به طوریکه در هفته آخر، بیشترین مقدار خود را نشان داد (Fasih *et al*., 2018)

جدول۴- مقایسه میانگین صفات بیوشیمایی گیاه استویا تحت تاثیر تیمارهای مختلف دمایی و اسید جیبرلیک

سطوح اسید جیبرلیک (mM)	تیمار دمایی	فعالیت پراکسیدهیدروژن (mg g^{-1} FW)	فعالیت آلفاآمیلاز (mg g^{-1} FW)	فعالیت آنزیم پروتئاز (mM mg^{-1} $second^{-1}$)	فعالیت آنزیم دهیدروژناز (mg g^{-1} FW)
	Control	۸/۸۱bc	۶/۶۶c	۰/۶۷۵c	۱/۶۳bc
	W80-15m	۸/۲c	۶/۹۷c	۰/۶۹۵c	۱/۸۲۵b
	LN	۶/۶۶c	۷/۱۷c	۰/۸bc	۱/۹۲ab
۰	CW-7D	۶/۹۷c	۸/۲c	۰/۸۳bc	۲/۰۳ab
	CW-14D	۹/۲۲bc	۸/۸۱bc	۱/۰۸bc	۲/۰۵ab
	CD-7D	۷/۱۷۵c	۹/۲۲bc	۱/۲۴b	۲/۱۷۵a
	CD-14D	۹/۷۴bc	۹/۷۴bc	۰/۶۱۵c	۲/۱۹a
	Control	۱۰/۳۵ab	۸/۲c	۰/۸۳bc	۱/۱۳c
	W80-15m	۹/۵۳bc	۸/۶۱c	۰/۹bc	۱/۲۴c
	LN	۸/۲c	۸/۸۱bc	۰/۹۱bc	۱/۳۶c
۰/۵	CW-7D	۸/۶۱c	۹/۵۳bc	۱/۰۳bc	۱/۴۶c
	CW-14D	۸.۸۱bc	۱۰/۳۵ab	۱/۱۶bc	۱/۴۸c
	CD-7D	۱۰/۳۵ab	۱۰/۳۵ab	۱/۲۲b	۱/۴۸c
	CD-14D	۱۰/۸۶ab	۱۰/۸۶ab	۱/۵۵ab	۱/۵۹bc
	Control	۱۰/۷۶ab	۹/۴۳bc	۰/۹۷۵bc	۱/۰۰۵c
	W80-15m	۹/۸۴b	۹/۵۳bc	۰/۹۷bc	۱/۲۵c
	LN	۹/۵۳bc	۹/۶۳bc	۱/۰۵bc	۱/۲۶c
۱	CW-7D	۹/۴۳bc	۹/۸۴b	۱/۲۷b	۱/۲۸c
	CW-14D	۹/۶۳bc	۱۰/۷۶ab	۱/۴۰ab	۱/۳۳c
	CD-7D	۱۱/۷۹ab	۱۱/۷۹ab	۱/۴۱ab	۱/۳۳c
	CD-14D	۱۲/۰۹a	۱۲/۰۹a	۱/۸۱a	۱/۴۳c

در هر ستون، میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک، اختلاف معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ندارند
شاهد (عدم تیمار دمایی): Control، تیمار آب گرم (۱۵ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد): W80-15m، تیمار نیتروژن مایع: LN، تیمار سرمادهی (۴ درجه سانتی گراد) مرطوب به مدت هفت روز: CW-7D، تیمار سرمادهی مرطوب به مدت ۱۴ روز: CW-14D، تیمار سرمادهی خشک به مدت هفت روز: CD-7D، تیمار سرمادهی خشک به مدت ۱۴ روز): CD-14D

فعالیت آلفاآمیلاز: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تاثیر تیمارهای دمایی، اسید جیبرلیک و برهمکنش آن‌ها بر فعالیت آلفاآمیلاز در گیاه استویا در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳).

باتوجه به نتایج مقایسات میانگین، فعالیت آلفاآمیلاز در گروه شاهد با میانگین ۶/۶۶ دارای کمترین مقدار بود و اختلاف آماری معنی‌داری با سرمادهی خشک به مدت ۱۴ روز و ۰/۵ میلی‌مولار اسید جیبرلیک، سرمادهی خشک به مدت هفت روز و ۰/۵ میلی‌مولار اسید جیبرلیک، سرمادهی مرطوب به مدت ۱۴روز و ۰/۵ میلی‌مولار اسید جیبرلیک، سرمادهی خشک به مدت ۱۴ روز یک میلی‌مولار جیبرلیک اسید، سرمادهی خشک به مدت هفت روز و یک میلی‌مولار اسید جیبرلیک و سرمادهی مرطوب به مدت ۱۴روز و یک میلی‌مولار جیبرلیک اسید داشت. بیشترین میانگین این صفت مربوط به تیمار سرمادهی پس از ۱۴ روز و اسید جیبرلیک یک میلی‌مولار بود که دارای میانگینی برابر ۱۲/۰۹ میلی گرم بر گرم وزن‌تر بود. که اختلاف معنی‌داری نسبت به شاهد داشت. تاثیر تیمار سرمادهی خشک بر فعالیت آلفاآمیلاز نسبت به شاهد افزایش ۳۰ درصدی را نشان داد و از برهمکنش تیمار دمایی با اسید جیبرلیک در تیمار آب گرم بذور افزایش ۱۹ درصدی فعالیت آلفاآمیلاز را تجربه کردند اما این افزایش در برهمکنش تیمار سرمادهی خشک و اسید جیبرلیک یک میلی‌مولار حدود ۲۵ درصد افزایش یافت (جدول۴).

نتایج مقایسه میانگین برهمکنش اسید جیبرلیک و تیمار دمایی نشان داد که در بین تیمارهای مورد بررسی، کاربرد سرمادهی خشک به مدت ۱۴ روز با یک میلی‌مولار اسید جیبرلیک بیشترین فعالیت آلفا امیلاز را شامل شد (جدول ۲). این تیمار باعث افزایش حدود ۴۵ درصدی فعالیت آنزیم آلفا امیلاز استویا نسبت به شاهد گردید. همچنین نتایج نشان داد که سطح یک میلی‌مولار اسید جیبرلیک در تمام تیمارهای دمایی، فعالیت آلفا امیلاز بیشتری نسبت به عدم کاربرد اسید جیبرلیک و سطح ۰/۵ میلی‌مولار آن دارا بود. در شرایط عدم استفاده از اسید جیبرلیک، تیمارهای سرمادهی خشک به مدت ۷ و ۱۴ روز اختلاف آماری معنی-داری با شاهد نشان ندادند. در سطح یک میلی‌مولار اسید جیبرلیک، کلیه تیمارها به باعث افزایش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز گردید (جدول ۴).

بذرهای تیمار شده با اسید جیبرلیک و سرمادهی خشک نسبت به عدم استفاده از جیبرلیک اسید مقدار آلفا آمیلاز بیشتری داشتند. تحقیقات زیادی برای بررسی اثر جیبرلیک اسید بر روی خواب بذرهای گوناگونی صورت گرفته است که می توان به تحقیقات زانگ و گو اشاره کرد که انها بیان داشتند که فعالیت آنزیم آلفا آمیلار پس از اعمال سرمادهی افزایش پیدا کرد (Zhang and Gao, 2012). پیش تیمار بذر با اسید جیبرلیک، سبب تسریع فرآیندهای بیوشیمیایی و هیدرولیز قندها و فعال نمودن ژن‌های کد کننده آنزیم‌های دخیل در جوانه‌زنی بذر به ویژه آلفا آمیلاز می‌شود و بذر را برای جوانه‌زنی آماده‌تر می‌کند (Tavili *et al.*, 2008).

بنابراین می‌توان چنین بیان نمود سرمادهی با تأثیر بر فعالیت جنین و همچنین افزایش تولید هورمون جیبرلین و فعالیت آنزیم‌هایی که منجر به شکسته شدن مولکول‌های نشاسته و قند می‌شود باعث افزایش جوانه‌زنی و شکستن خواب بذر می‌شود (Faryabi , 2011). سرما دهی میتواند برای بذوری که دارای خواب داخلی هستند، دوره سرد زمستان را شبیه سازی کند. در برخی بذور نیز جنین به دلیل عدم نفوذ اکسیژن از پوسته بذر نمی‌تواند جوانه بزند. در دمای سرد، مقدار اکسیژن محلول در آب بیشتر می‌شود و در نتیجه نیاز جنین بذر به اکسیژن بهتر تامین می‌شود. شرایط دمایی سرد و مرطوب نیز می‌تواند دوره زمستان گذرانی را برای بذر بازسازی کند (Safaian & Azarnivand, 2010).

فعالیت پراکسیدهیدروژن: با توجه به نتایج تجزیه واریانس تاثیر تیمارهای اسید جیبرلیک، دمایی و برهمکنش آن‌ها بر فعالیت پراکسیدهیدروژن استویا در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳).

با توجه به مقایسات میانگین، تیمار سرمادهی خشک به مدت ۱۴ روز و یک میلی‌مولار اسید جیبرلیک دارای بیشترین میانگین ۱۲/۰۹۵ صفت مذکور بود. این تیمار با تیمارهای یک میلی‌مولار جیبرلیک اسید، سرمادهی خشک به مدت هفت روز و ۰/۵ میلی‌مولار اسید جیبرلیک، سرمادهی خشک به مدت ۱۴ روز و ۰/۵ میلی‌مولار اسید جیبرلیک، سرمادهی خشک به مدت هفت روز و ۰/۵ میلی‌مولار اسید جیبرلیک، سرمادهی خشک به مدت ۱۴ روز یک میلی‌مولار جیبرلیک اسید و سرمادهی خشک به مدت هفت روز و یک میلی‌مولار اسید جیبرلیک اختلاف معنی‌داری نداشت؛ اما با شاهد که دارای کمترین میانگین

۸/۱۸۸ بود اختلاف معنی‌داری داشت. فعالیت آنزیم پراکسیدهیدروژن در تیمار دهی با سرمای خشک در ۱۴ روز حدود ۹ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت. از برهمکنش تیمار سرمادهی خشک در ۱۴ روز با اسید جیبرلیک نیم میلی‌مولار، فعالیت آنزیم پراکسید هیدروژن، ۲۰/۲ درصد افزایش یافت با افزایش سطوح اسید جیبرلیک به یک میلی‌مولار این آنزیم افزایش ۴۱ درصدی داشت (جدول۴). در این پژوهش، نتایج مقایسه میانگین برهمکنش اسید جیبرلیک و تیمار دمایی نشان داد که در بین تیمارهای مورد بررسی، کاربرد سرمادهی خشک به مدت ۱۴ روز با یک میلی‌مولار اسید جیبرلیک بیشترین فعالیت پراکسید هیدروژن ۱۲/۰۹ (میکرو مول بر گرم وزن تر) را شامل شد (جدول ۴). می‌توان چنین بیان نمود که ممکن است پراکسید هیدروژن با تأثیر خود بر مهار آنزیم آبسیزیک اسید و بیان ژن‌های تولیدکننده آنزیم‌های هیدرولیز کننده نشاسته و قند باعث شکستن خواب فیزیولوژیکی و افزایش درصد جوانه‌زنی بذر استویا شده است. چراکه گونه های فعال اکسیژن مانند پراکسیدهیدروژن، باعث تجزیه ذخائر بذر در طی سرمادهی می شوند. هیدروژن سیانید (HCN) به شدت بر روی کاتابولیسم ذخائر اثر می‌گذارد و باعث رشد جنین در طی سرمادهی می‌شود (Lewak, 2011). نشان داده شده است که در طی شکست خواب بذر، هیدروژن سیانید تحت کنترل گونه‌های فعال اکسیژن است (Oracz *et al.*, 2009). علاوه بر این، ترکیبات فعال اکسیژن با سست کردن دیواره سلولی، به طویل شدن دیواره آن کمک می کنند (Muller *et al.*, 2009). توانایی اسید جیبرلیک برای کاهش خواب، توسط اکسید نیتریک کنترل می شود و افزایش ترکیبات گونه -های فعال اکسیژن مانند پراکسیدهیدروژن میتواند تولید اکسید نیتریک را در جنین تحریک کند (El-Maarouf-Bouteau & Bailly, 2008). علاوه بر آن، گونه‌های فعال اکسیژن، رشد جنین را تحریک می‌کنند و باعث شکست خواب مورفولوژیک می‌شوند.

همبستگی بین صفات

درصد جوانه‌زنی با سرعت جوانه‌زنی، میانگین زمان جوانه-زنی، بنیه بذر، وزن خشک ریشه چه، همبستگی مثبت و معنی‌داری داشت. همچنین با فعالیت پراکسیدهیدروژن و فعالیت آنزیم دهیدروژناز، همبستگی منفی و معنی‌داری داشت. فعالیت آنزیم پروتئاز با فعالیت پراکسیدهیدروژن همبستگی منفی و معنی‌داری داشت. میانگین زمان جوانه-زنی با بنیه بذر، وزن خشک ریشه‌چه، وزن خشک همبستگی منفی و معنی‌داری داشت. فعالیت آلفاآمیلاز با فعالیت آنزیم پروتئاز و فعالیت آنزیم دهیدروژناز هبستگی مثبت و معنی‌داری داشت (جدول ۵).

جدول۵- همبستگی بین صفات مورد مطالعه

	درصدجوانه‌زنی (۱)	سرعت جوانه‌زنی (۲)	میانگین جوانه‌زنی (۳)	بنیه بذر (۴)	وزن خشک ریشه چه (۵)	وزن خشک ساقه چه (۶)	فعالیت پراکسیدهیدروژن (۷)	فعالیت آلفاآمیلاز (۸)	فعالیت آنزیم پروتئاز (۹)	فعالیت آنزیم دهیدروژناز (۱۰)
۱	۱									
۲	۰/۹۲**	۱								
۳	۰/۸۸**	-۰/۹۷**	۱							
۴	۰/۸۹**	۰/۹۵**	-۰/۹۲**	۱						
۵	۰/۸۱**	۰/۹۲**	-۰/۹۰**	۰/۹۶**	۱					
۶	۰/۳۴ns	۰/۴۱ns	-۰/۳۹ns	۰/۳۳ns	۰/۳ns	۱				
۷	-۰/۸۱**	-۰/۷۷**	۰/۸۰**	-۰/۸۵**	-۰/۷۴**	-۰/۲۲ns	۱			
۸	۰/۲۰ns	۰/۲۲ns	-۰/۲۲ns	۰/۴۲ns	۰/۳۹ns	-۰/۱۲ns	-۰/۳۳ns	۱		
۹	۰/۹۱**	۰/۹۱**	-۰/۹۰**	۰/۹۲**	۰/۸۷**	۰/۲۵ns	-۰/۸۵**	۰/۴۵*	۱	
۱۰	-۰/۴۸*	-۰/۴۶*	۰/۴۹*	-۰/۳۹ns	-۰/۳۹ns	-۰/۳۲ns	۰/۴۴*	۰/۴۷*	-۰/۳۳ns	۱

ns,*,** به ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد، معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که در همه دماها، با افزایش زمان سرمادهی، شاخص‌های جوانه‌زنی اندازه‌گیری شده برای بذور استویا افزایش یافتند. همچنین پیش تیمار بذر با اسید جیبرلیک، باعث افزایش فعالیت آلفا آمیلاز در همه زمان‌های سرمادهی شد. پیش تیمار بذر با هورمون در زمان‌های سرمادهی ۱۴ و ۷ روزه در مقایسه با تیمار شاهد (بدون سرمادهی)، سبب بهبود محتوای پراکسیدهیدروژن بذر شد. به طورکلی نتایج این آزمایش حاکی ار این بود که پیش تیمار یک میلی‌مولار اسید جیبرلیک و تیمار دمایی ۱۴ و ۷ روزه باعث افزایش درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه-زنی و کاهش مدت زمان جوانه‌زنی گردید. مرحله جوانه‌زنی یکی از حساسترین مراحل رشد گیاه است و اگر بذور بتواند گیاهچه سالم تولید کند، می‌تواند مراحل بعدی رشد را پشت سر بگذارد

به طور کلی بر طبق تعریف، متوسط مدت زمان جوانه‌زنی مرتبط با مدت زمانی (روز) است که ریشه‌چه خارج می‌شود. هرچه مقدار عددی آن کوچکتر باشد؛ نشان دهنده جوانه زنی سریعتر می‌باشد و ضریب سرعت جوانه‌زنی عکس میانگین مدت زمان جوانه‌زنی است. بنابراین هر چه بذری در مدت زمان (روز)کمتری جوانه بزند؛ در واقع سرعت جوانه‌زنی بالاتری داشته است و عکس این مطلب نیز صادق می‌باشد .علاوه بر جوانه‌زنی، سرعت و یکنواختی سبز کردن، عوامل مهمی در کیفیت بذر محسوب می‌شوند. بنابراین نتایج حاصل از این مطالعه برای گیاه استویا چه از نظر جوانه‌زنی چه ازنظر یکنواختی در کاشت می‌تواند کارآمد می باشد. طبق نتایج این تحقیق، تیمار اسید جیبرلیک یک درصد + سرمادهی خشک سبب بهبود خصوصیات جوانه‌زنی بذر استویا گردید.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل نتایج پایان نامه کارشناسی ارشد می‌باشد که توسط دانشگاه شهید باهنر کرمان حمایت مالی شده است و بدینوسیله تشکر می‌شود.

منابع

Aghighi Shahvardi, M., & Omid, H. (2015). The effect of priming hormone and hydropriming on the germination of Stevia under salt stress. *Iranian Seed Research Sciences*, *3*(2), 97-108. (In Persian)

Ali, A. S., & Elozeiri, A. A. (2017). Metabolic processes during seed germination. *Advances in seed biology, 2017*, 141-166.

Afshari, F., Nakhaei, F., Mosavi, S., & Seghatoleslami, M. (2020). Evaluating the role of nutri-priming in improving PEG-induced drought stress tolerance of stevia (*Stevia rebuadiana*). *Iranian Journal of Plant Physiology*, *11*(1), 3509-3522. (In Persian)

Baker, J. E. (1991). Purification and partial characterization of α-amylase allozymes from the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica*. *Insect Biochemistry*, *21*(3): 303-311.

Basra A.S. (2006). Handbook of seed science and technology. *Haworth Press, NY*, p. 795. 3- Copland, L.O. and McDonald, M.B. 1995. Bernfeld, P. 1955. Amylases alpha and beta methods in enzymology. *Methods in Enzymology*, *1*, 149-158.

Carakostas M.C., Curry L.L., Boileau A.C., & Brusick D.J. (2008). The history, technical function and safety of rebaudioside A, a naturally occurring steviol glycoside, for use in food and beverages, *Food and Chemical Toxicology*, *46*, 1–10.

Corpas, F. J., & Barroso, J. B. (2014). NADPH-generating dehydrogenases: their role in the mechanism of protection against nitro-oxidative stress induced by adverse environmental conditions. *Frontiers in Environmental Science*, *2*, 55.

Curry L.L. & Ashley R. (2008). Subchronic toxicity of rebaudioside A. Cargill Incorporated. *Process Biochemeistry*, *83*, 115-117.

Demir Kaya, M., Okçu, Gamze., Atak, M., Çikili, Y., & Kolsarici, Ö. (2006). Seed treatment to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Eur. J. Agron*. 24, 291-29

Ellis, R.H., & Roberts, E.H. (1981). The quantification of aging and survival in orthodox seeds. *Seed Sci. Technol.*, *9*: 373-409

El-Maarouf-Bouteau, H., & Bailly, C. (2008). Oxidative signaling in seed germination and dormancy. *Plant Signaling & Behavior*, *3*(3), 175-182

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

Faryabi. E. (2011). Effect of different treatments on breaking municipality celery and okra seeds of two plants. *1st National Conference on New Concepts in Agriculture*.

Fasih, M., & Tavakkol Afshari, R. (2018). The morphophysiological dormancy of Ferula ovina seeds is alleviated by low temperature and hydrogen peroxide. *Seed Science Research*, *28*(1), 52-62.

Finch S.W.E., & Leubner MG. (2006). Seed dormancy and the control of germination. New Phytol. 171: 501-523. 7- Fischer J. C. 2013. Future of Stevia. In memory Extensive work in the VII International Symposium on Stevia. *Cirse-Cecodet. Inifap*. *Mérida, Yucatán*.

Gorzi, A., Omidi, H., & Bostani, A. (2020). Effect of stevia (*Stevia rebaudiana*) seed priming treatments with salicylic acid, iron, and zinc on some germination traits and photosynthetic pigments under drought stress. *Iranian Journal of Seed Research*, *6*(2), 125-135. (In Persian)

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

Jaroslov P., Brabora H. & Tuulia H. (2007). Characterisation of *stevia rebaudiana* by comprehensive two dimensional liquid chromatography time of flight mass spectrometry, 1150p.

Kalpana M., Anbazhagan M., Natarajan V., & Dhanavel D. (2010). Improved micropropagation method for the emhancement of biomass in Stevia RebaudianaBertoni. *Science and Technology*, *2*(1), 008–013.

Keshtkar A.R., Keshtkar H.R., Razavi S.M. & Dalfardi S. (2008). Methods to break seed dormancy of Astragalus cyclophyllon. *Afr. Journal Biotechnol*., *7*, 3874-3877.

Kittock, D.L. & Law, A.G. 1968. Relationship of seedling vigour to respiration and tetrazolium chloride reduction by germinating wheat seeds, *Agronomy*, *60*: 286-28.

Kucera, B., Cohn, M. A., & Leubner-Metzger, G. (2005). Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. *Seed science research*, *15*(4), 281-307.

Kumar R., & Sharma S. (2012). Effect of light and temperature on seed germination of important medicinal and aromatic plants in north wesrern Himalayas. *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, *2*(3): *468*-475.

Kumar, R., Sharma, S., & 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.

Kunitz, M. (1947). Crystalline soybean trypsin inhibitors II general properties, *GeneralPhysiology*, 30: 291-310.

Kwon, H. J., Shin, S. L., Kim, Y. R., & Kim, S. Y. (2020). Effects of temperature, gibberellic acid, and KNO3 treatments on seed germination of the wild plant Maesa japonica. *Seed Science and Technology*, *48*(1), 65-72.

Lewak, S. (2011). Metabolic control of embryonic dormancy in apple seed: Seven decades of research. *Acta Physiologiae Plantarum*, *33*(1), 1-24.

Liopa-Tsakalidi, A., Kaspiris, G., Salahas, G., & Barouchas, P. (2012). Effect of salicylic acid (SA) and gibberellic acid (GA1) pre-soaking on seed germination of Stevia (*Stevia rebaudiana*) under salt stress. *Journal of Medicinal Plants Research*, *6*: 416-423.

Loreto, F. & Velikova, V. (2001). Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone products & reduces lipid peroxidation of cellular membranes. *Plant Physiology*, *127*(4), 1781-1787.

Lv, Y., Pan, J., Wang, H., Reiter, R.J., Li, X., Mou, Z., Zhang, J., Yao, Z., Zhao, D., & Yu, D. (2021). Melatonin inhibits seed germination by crosstalk with abscisic acid, gibberellin, and auxin in Arabidopsis. *Journal of Pineal Research*, *70*(4), e12736.

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

Makkar, H.P.S., Siddhuraju, P. & Becker, K. (2007). *Plant Secondary Metabolites*. *Humana Press Inc, Totowa.*

Megeji N.W., Kumar J.K. Singh V., Kaul V.K. & Ahuja S. (2005). Introducing *Stevia Rebaudiana*, a natural Zero calorie Sweetener; *Current Science*, 88(5).

Michalik A., Hollinshead J., Jones L., George W.J., Fleet B., Yu C.Y., Huc X.G., Well R.V., Graeme H., Francis X., Wilson d., Kato A., Sarah F., & Jenkinson R.J. (2010). Steviamine.a new indolizidine alkaloid from *Stevia rebaudiana*, *Phytochemistry Letters*, *3*, 136–138.

Mindore D.J., Rank A. & Rirdc M. (2002). Rural Industries Research Development Corporation. publication *Australia and New-Zealand*, *August report*.

Mousavi Naserabad, M., Moradi, A., Masumiasl, A., & Balouchi, H. (2020). Effect of gibberellic acid, germination temperature and stratification on dormancy breaking and seed germination of *Smyrnium cordifolium*. *Iranian Journal of Field Crop Science*, *51*(2), 199-212. (In Persian)

Nadjafi, F., Bannayan, M., Tabrizi, L., & Rastgoo, M. (2006). Seed germination and dormancy breaking techniques for *Ferula gummosa* and Teucrium polium. *Journal of Arid Environments*, *64*(3), 542-547.

Nadjafi, F., Bannayan, M., Tabrizi, L., & Rastgoo, M. (2006). Seed germination and dormancy breakingtechniques for *Ferula gummosa* and Teucriumpolium. *Journal of Arid Environments*, *64*(3), 542-547.

Nematian, A. (2012). Stevia gold plant, Monthly Agriculture and Sustainable Development, 36. p. 15. (In Persian)

Omid Beigi, R. (2011). Production and processing of medicinal plants, *Astan Quds Razavi Publications*, *fifth edition*, p. 347. (In Persian)

Oracz, K., El-Maarouf-Bouteau, H., Kranner, I., Bogatek, R., Corbineau, F. & Bailly, C. (2009). The mechanisms involved in seed dormancy alleviation by hydrogen cyanide unravel the role of reactive oxygen species as key factors of cellular signaling during germination. *Plant Physiology*, *150*(1), 494-505.

Peng, J., & Harberd, N.P. 2002. The role of GA-mediated signalling in the control of seed germination. *Current Opinion* in *Plant Biology*, *5*(5): 376-381.

Perry, D. A., (1980). The concept of seed vigour and its relevance to seed production techniques, In: P.D. Hebblethwaite (ed.), Seed production, Butterworths, London, pp.585- 591.

Raeeszadeh, M., & 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.

Rajabian, T., Saboura, A., Hasani, B. & Falah, H. H. (2007). Effects of GA3 and chilling on seedgermination of *Ferula assa-foetida*, as a medicinal plant. *Iranian Journal of Medicinal and AromaticPlants*, *23*(3), 391-404. (In Persian).

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

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

Rasouli, F., Gholipour, M., Jahanbin, K., & Asghari, H. (2020). Effect of ultra-sonic waves on germination, some germination enzymes and biochemical parameters of *Echinacea purpurea* L. seed. *Iranian Journal of Seed Science and Research*, *7*(1): 41-54. (In Persian)

Rasti S., Omidi, H., & Jafarzadeh, L. (2012). The effect of growth accelerates hormone on seed dormancy and qualitative and Quantitative characteristics of the herbal Balngo *Lallemantia royleana* (wall.) Bth. *National Congress on Medicinal Plants 16, 17 May 2012 Kish Island.*

Razavi, S. M. & Hajiboland, R. (2009). Dormancy breaking and germination of prangos ferulacea Seeds.*Journal of Biosciences (EurAsian)*, *3*, 78-83.

Richman A., Swanson A., Humphrey T., Chapman R., Mcgarvey B., Pocs R. & Brindle J. (2005). Functional genomics uncovers threeglucosyltransferases involved in the synthesis of the major sweet glucosides of Stevia rebaudiana. *Plant.* J, 41, 56-67.

Rosental, L., Nonogaki, H., & Fait, A. (2014). Activation and regulation of primary metabolism during seed germination. *Seed science research*, *24*(1), 1-15.

Rosta, A. and S, Parsayi. (2017). Effect of hormonal priming on seed germination and seedling growth of cumin *(Cuminum cyminum* L.) Birjand native landmass under salinity and drought stress. *Seed Ecology*, *2*(1), 77-92.

Safaian, R. & Azarnivand, H. (2010). The effect of some treatments on seed dormancy breaking andgermination of Prangos ferulacea (L.) Lindl. *Iranian Journal of Range and Desert Research*, *17*(2), 331-339. (In Persian).

Salehi, A., Masoumiasl, A. & Moradi, A. (2015). Evaluation of the effective methods of seed dormancybreaking in medicinal plant of bilhar (Doremaaucheri). *Iranian Journal of Seed Research*, *2* (1), 65-72.

Sarmi, R. Omid, H. & Bostani, A. (2015). The effect of auxin and cytokinin on some morphological characteristics of seedlings and germination of stevia seeds. *Iranian seed research*. *3*(2), 57-70 (In Persian)

Scott, S. J., Jones, R. A., & Williams, W. (1984). Review of data analysis methods for seed germination 1. *Crop science*, *24*(6), 1192-1199.

Sharifi, H., Nemati, A. & Gerdakaneh, M. (2017). Effects of breaking dormancy on seed germination characteristics in two medicinal plants species *Allium altissimum & Rubia tinctorum*. *Journal of Seed Ecophysiology*, *1*(2),105-116. (In Persian)

Sivaram L. & Mukundan, U. (2003). In vitro culture studies on *Stevia rebaudiana. In Vitro Cell. Dev.Biol-Plant, 39*, 520-523.

Tavili, A., Safari, B. & Saberi, M. (2009). Comparing effect of gibberellic acid and potassium nitrate application on germination enhancement of Salsola rigida. *Rangeland*, 3(2), 272-280. (In Persian).

Yalamalle, V. R., Dunna, V., Chawla, G., Mishra, G. P., P, V. H., Ahmad, D., ... & Meena, R. P. (2023). Overcoming physiological dormancy in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum Moench*). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 1-14.

Yamaguchi, S., & Kamiya, Y. (20000. Gibberellin biosynthesis: its regulation by endogenous and environmental signals. *Plant Cell Physiology*, *41*(3), 251-257

Plant Production and Genetics **تولید و ژنتیک گیاهی**

Vol.4 , No. 2, Autumn & Winter2023, p. 213-228 **جلد ۴، شماره ۲، پاییز و زمستان ۱۴۰۲، صفحه۲۲۸-۲۱۳**

Research Article DOI: 10.22034/PLANT.2024.140825.1083

The effect of different treatments on the breaking seed dormancy of *Stevia rebudiana*

Ladan Dehbozorgi [1], Rooholla Moradi [2], Mehdi Naghizadeh

1. MS.C. student, Department of Plant Productions, Agricultural Faculty of Bardsir, Shahid Bahonar University of Kerman, Bardsir, Iran
2. Associate Professor, Department of Plant Productions, University of Torbat Heydarieh, Torbat Heydarieh, Iran
3. Assistant Professor, Department of Assistant Professor, Plant Productions, Bradsir Agricultural Excellence Training Center, Shahid Bahonar University of Kerman, Bardsir, Iran

Received: 28-02-2024
Accepted: 04-04-2024

Abstract

Stevia is an important natural sweetener in the world, which this issue has led to more demand for stevia production. In order to investigate various breaking dormancy treatments on stevia seeds this study was conducted as a factorial experiment based on the completely randomized design with three replications and two factors in the research laboratory of Shahid Bahonar University of Kerman in 2021. The factors were included gibberellic acid in three levels (0, 0.5 and 1 mM) and temperature treatment (control, warm water, liquid nitrogen, wet cooling treatment for seven days, wet cooling treatment for 14 days, dry cooling treatment for seven days and dry cooling treatment for 14 days). The results showed that the effect of temperature and gibberellic acid treatments on germination characteristics of stevia was significant at the probability level of 1%. Among the studied treatments, the interaction of dry cooling and 1% gibberellic acid was the most effective treatment, and the highest germination percentage (74.01%) and germination speed (14.15 seed day-1) belonged to the mentioned treatment. The results of mean comparisons showed that the effect of gibberellic acid application led to a significant increase in hydrogen peroxide, alpha-amylase, protease and dehydrogenase traits compared to the control. Therefore, it can be stated that dry cooling treatment with 1% gibberellic acid can be effective in improving germination characteristics in stevia plant.

Keywords: Gibberellic acid, alpha-amylase, temperature treatment, germination speed, germination percentage

Citation: Dehbozorgi, L., Moradi, R., & Naghizadeh, M. (2023). The effect of different treatments on the breaking seed dormancy of Stevia rebudiana. *Plant Production and Genetics*, 4(2), 213-228. https://doi.org/ 10.22034/PLANT.2024.140825.1083

Copyrights:
Copyrights rights for this article is retained by the author (s), with publication rights granted to Plant Production and Genetics. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

*Corresponding Author Email: r.moradi@torbath.ac.ir