

بهبود کیفیت فیزیولوژیک بذرهای زوال یافته علف گندمی بلند (*Agropyron elongatum* Host) با استفاده از پرایمینگ هورمونی برای شرایط تنش و بدون تنش خشکی

حمیدرضا عیسوند*^۱، رضا توکل افشاری^۲، فرزاد شریف زاده^۳، حسن مداح عارفی^۴
و سیدمحسن حسامزاده حجازی^۵

۱، ۲، ۳، دانشجوی دکتری و اعضای هیات علمی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۴، ۵، اعضا هیئت علمی موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

(تاریخ دریافت: ۸۵/۱۲/۲۲ - تاریخ تصویب: ۸۶/۷/۱۸)

چکیده

بذرهای اغلب گیاهان زراعی و مرتعی توانایی تحمل به پسابش^۱ و حفظ قوه نامیه در حالت خشک را دارند. با این وجود، این بذرها حتی تحت مناسب ترین شرایط نگهداری پیر می شوند و افت قوه نامیه و پارامترهای مرتبط با بینه بذر از خصوصیات بذور زوال یافته به شمار می رود. در این تحقیق که زمستان ۱۳۸۵ بصورت آزمایشگاهی در بانک ژن منابع طبیعی ایران (موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور) انجام شد، تاثیر پرایمینگ هورمونی با سیتوکینین، اکسین، جیبرلین و اسیدابسیسیک در غلظتهای صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ قسمت در میلیون (ppm)^۲ بر کیفیت فیزیولوژیک بذرهای زوال یافته علف گندمی بلند (*Agropyron elongatum*) مورد بررسی قرار گرفت. پس از پرایمینگ، جوانه زنی بذرها در دو شرایط بدون تنش (صفر MPa) و تنش خشکی (محلول پلی اتیلن گلیکول ۰/۵ MPa) بررسی شد. مشخص شد که درصد جوانه زنی، وزن خشک گیاهچه و تعداد ریشه های جنینی تحت تاثیر تنش خشکی قرار نگرفتند. تنش خشکی سبب کاهش سرعت جوانه زنی، بینه بذر، وزن تر گیاهچه، طول ریشه، طول ساقه و طول کل گیاهچه شد درحالی که متوسط زمان جوانه زنی و نسبت ریشه به ساقه را افزایش داد. پرایمینگ سبب افزایش درصد و سرعت جوانه زنی در شرایط تنش شد. در شرایط بدون تنش، جیبرلین و سیتوکینین سبب تسریع جوانه زنی شدند اما اکسین آن را کاهش داد. جیبرلین، اسیدابسیسیک و سیتوکینین در غلظتهای ۵۰ ppm و ۱۰۰ ppm، متوسط زمان جوانه زنی را در شرایط بدون تنش کاهش دادند در حالی که در شرایط تنش موجب افزایش آن شدند. بیشترین شاخص بینه در شرایط بدون تنش از بذرهای پرایم شده با جیبرلین ۱۰۰ ppm و در شرایط تنش از بذرهای پرایم شده با سیتوکینین ۵۰ ppm بدست آمد. اکسین گرچه طول ریشه را کاهش داد اما موجب افزایش تعداد ریشه های جنینی شد. همه تیمارهای پرایمینگ، نسبت ریشه به اندام هوایی گیاهچه را کاهش دادند. با توجه به نتایج بدست آمده می توان گفت کیفیت فیزیولوژیک بذرهای زوال یافته علف گندمی بلند با استفاده از پرایمینگ هورمونی قابل بهبود است. نتایج این تحقیق نشان داد پرایم کردن بذرهای پیر شده علف گندمی بلند با جیبرلین ۱۰۰ ppm برای شرایط بدون تنش خشکی و سیتوکینین ۵۰ ppm یا اسید ابسیسیک ۵۰ ppm می تواند برای بهبود نمود این بذرها در شرایط تنش خشکی متوسط (۰/۵ MPa)، مفید واقع شود.

واژه های کلیدی: بذر زوال یافته، پرایمینگ هورمونی، کیفیت فیزیولوژیک، علف گندمی بلند

1. Desiccation
2. Part per million

تلفن: ۰۹۱۲-۵۶۱۷۶۲۹

* نویسنده مسئول: حمیدرضا عیسوند

مقدمه

آگاهی از وقوع ترمیم در طی آبنوشی^۴ بذر، سبب شده است تا در صنعت بذر، پرایم کردن^۵ برای بسیاری از محصولات مورد استفاده قرار گیرد. پرایم کردن بذر شامل جذب آب بذر با استفاده از دستورالعمل‌های مختلف و سپس خشک کردن بذر به منظور مدیریت معمول آن می‌باشد. افزایش سرعت جوانه‌زنی، یکنواختی بیشتر در سبز شدن، جوانه‌زنی تحت دامنه وسیع تری از شرایط محیطی و بهبود بنیه و رشد بذر از مزایای پرایمینگ می‌باشند (۲۳).

مدت زمانی که بذرها می‌توانند قوه نامیه خود را حفظ کنند طول عمر بذر^۶ نامیده می‌شود. بذرها اغلب گیاهان زراعی و مرتعی رفتار ارتودوکس^۷ (ماندگاری بذر در شرایط خشک و خنک) داشته و توانایی تحمل به پسابش و حفظ قوه نامیه برای مدت نسبتاً طولانی در حالت خشک را دارند. فرایند زوال بذر^۸ حتی در صورت نگهداری آن در ایده آل ترین شرایط غیر قابل اجتناب است و در نهایت، بذر توانایی جوانه‌زنی را از دست می‌دهد. این فرایند، در ابتدا کیفیت فیزیولوژیک بذر را تحت تاثیر قرار می‌دهد، لذا افت قوه نامیه و عوامل مرتبط با بنیه بذر^۹ از خصوصیات بذرها زوال یافته به شمار می‌روند (۱۱، ۱۴). پرستلی (۱۹۸۶) گزارش کرد در شرایط انبار معمولی در یک آب و هوای معتدل، قوه نامیه بذر گراس *Bromus inermis* در مدت ۳/۴ سال، ۵۰٪ کاهش یافت.

مواد تنظیم کننده رشد گیاهی از عوامل مهم تاثیر گذار بر رشد و نمو گیاهچه محسوب می‌شوند بطوری که اکسین درونی برای نمو ریشه ضروری است. تیمار اکسین خارجی سبب القاء تشکیل ریشه‌های جانبی و ریشه‌های نابجا می‌شود، البته غلظت بهینه اکسین برای تشکیل ریشه‌های جانبی و نابجا با هم متفاوت است (۳۳). روحی و جیمسون (۱۹۹۱) در مطالعه‌ای در زمینه استقرار گیاهچه، گزارش کردند پرایم کردن بذور گراس مرتعی *Bouteloua gracilis*

از مشکلات احیاء و تکثیر بذرها نگهداری شده در بانک های ژن، ضعف بنیه بذرها زوال یافته و در نتیجه ضعیف بودن استقرار گیاهچه‌های مربوطه می‌باشد. در برنامه احیاء بذرها مشخص گردید که بذرها زوال یافته^۱ با وجود داشتن قوه نامیه نسبتاً بالا، قابلیت تولید گیاهچه‌های قوی و قابل استقرار پایین دارند (۱۴). عبدی و مداح عارفی (۲۰۰۱) نیز گزارش کردند با گذشت زمان و پیر شدن بذرها *Bromus tomentellus* صفاتی نظیر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، شاخص بنیه و ارتفاع گیاهچه کاهش می‌یابد. بخش عمده ای از بذرها بانک ژن منابع طبیعی را گونه‌های مختلف گرامینه تشکیل می‌دهد (حدود ۵۰۰۰ اکسشن که ۴۵۰ مورد از آنها از جنس آگروپیرون می‌باشند). ایران با مناطق خشک و نیمه خشک وسیع (۱۶) واجد حدوداً ۳۹۷ گونه گراس از ۱۱۵ جنس می‌باشد (۲۵).

علف گندمی بلند با نام علمی *Agropyron elongatum* Host و نامهای عمومی علف گندمی بلند، علف گندمی شور و علف گندمی خوشه‌ای، از خانواده پوآسه^۲ و متعلق به قبیله تریتیکاسه^۳ است. این گیاه یک گراس خوشه‌ای سردسیری چندساله با مسیر فتوسنتزی C₃ و ساقه‌های سفت و ایستاده می‌باشد که ارتفاع آن ۱۸۰-۷۵ cm است. سیستم ریشه افشان بوده و گیاه توانایی بقاء در شرایط دیم را دارد (۳۵).

وقتی غلظت نمک آب زیرزمینی منفی تر از -۱/۵ MPa نباشد و فراوانی غرقاب طبیعی خوب باشد علف گندمی بلند تکثیر شده و کلونی تشکیل می‌دهد. اما در صورت منفی‌تر شدن از -۱/۵ MPa، عملکرد آن کاهش یافته و اغلب توسط گونه‌هایی که تحمل بیشتری به شوری دارند جایگزین می‌شود. علف گندمی بلند در زمینه‌های هیبریداسیون و جداسازی ژن برای تحمل به شرایط قلیاء، خشکی، یخ‌زدگی، حشرات، سدیم، بر، زنگ، ویروس و غرقاب، بطور وسیعی مورد تحقیق قرار گرفته است (۹).

4. Imbibition
5. Priming
6. Seed longevity
7. Orthodox
8. Seed deterioration
9. Seed vigor

1. Deteriorated seeds
2. Poaceae
3. Triticaceae

آب در مناطق خشک و نیمه خشک، جوانه‌زنی بذر، استقرار گیاهچه و دوام گراسهای چندساله را شدیداً محدود می‌کند (۶). با توجه به اینکه گزارش‌های مختلفی به تاثیر مفید تیمارهای پرایمینگ معمولی و هورمونی بذر بر بهبود جوانه‌زنی در شرایط تنشهای مختلف خشکی، شوری و سرما اشاره شده است (۳، ۱۷، ۱۹). هدف این تحقیق علاوه بر یافتن راهکاری برای تقویت بنیه بذرهای پیر شده *Agropyron elongatum*؛ افزایش بنیه بذر این گیاه برای تحمل شرایط خشکی با استفاده از پرایمینگ هورمونی در طی جوانه‌زنی و استقرار می‌باشد.

مواد و روش‌ها

بذرهای علف گندمی بلند از بانک ژن منابع طبیعی موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور تهیه گردید. این بذرها در خرداد ۱۳۷۵ از استان آذربایجان شرقی جمع آوری و با ۸/۵ درصد رطوبت در دمای ۵+ درجه سانتیگراد در بانک ژن نگهداری شدند. قوه نامیه این نمونه بذری در شروع آزمایش ۶۸٪ بود. در آزمایش‌های مقدماتی؛ سرعت جوانه‌زنی، طول گیاهچه و وزن خشک گیاهچه در نمونه بذری مورد آزمایش، در مقایسه با نمونه تازه برداشت شده آن کاهش قابل توجهی داشت و خصوصیات یک نمونه بذر زوال یافته را دارا بود.

این تحقیق زمستان ۱۳۸۵ در آزمایشگاههای تکنولوژی و فیزیولوژی بذر بانک ژن منابع طبیعی ایران واقع در موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور انجام شد. بذرها در محلولهایی با چهار غلظت صفر، ۵۰، ۱۰۰، و ۱۵۰ ppm از هریک از هورمونهای اکسین، سیتوکینین، جیبرلین و اسید ابسیسیک بطور جداگانه در دمای $21 \pm 1^{\circ}\text{C}$ پرایم شدند. پس از گذشت ۱۴ ساعت، از محلولهای پرایمینگ خارج و به وسیله یک پنکه خشک شدند. مشخصات هورمونهای مورد استفاده در جدول زیر آورده شده است.

۵۰ عدد بذر از هر تیمار پرایمینگ پس از ضد عفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم ۱٪ به مدت ۵ دقیقه و دو بار شستشو با آب مقطر، روی یک لایه کاغذ صافی

با اکسین، سبب افزایش استقرار آن در شرایط تنش خشکی شد، زیرا اکسین فاصله زمانی بین جوانه‌زنی و تشکیل ریشه‌های نابجا^۱ را کاهش داد. در تحقیق دیگری نیز از پرایمینگ هورمونی^۲ برای تقویت بنیه بذر گندم برای مقابله با تنش شوری استفاده شد و بذرهای پرایم شده با اسید سالیسیلیک و اسید اسکوربیک، در مقایسه با بذرهای پرایم نشده از نمود^۳ بهتری تحت هردو شرایط تنش و شاهد برخوردار بودند (۲۰).

محل عمل جیبرلین در فرایند جوانه‌زنی بذرها، آندوسپرم یا لپه‌ها و جنین می‌باشد (۲۱). نتایج دسیلوا و همکاران (۲۰۰۵) نشان داد که جیبرلینها هم برای طویل شدن سلولهای جنین و هم شل کردن آندوسپرم در طی جوانه‌زنی بذر قهوه مورد نیاز هستند. جیبرلین از طریق افزایش آنزیم زایلوگلوکان آندوترانس گلوکوزیلاز (XET)^۴ که موجبات نفوذ پروتئین‌های اکسپنسن^۵ به دیواره سلولی را فراهم می‌کند موجب رشد سلول می‌شود (۲۷).

مشاهده گردید که تیمار بذر با اسید جیبرلیک و کاینترین، تاثیر تنش خشکی بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه نخود ایرانی را نسبتاً کاهش دادند و سبب بهبود جوانه‌زنی و رشد آن در پتانسیل آبی پایین شدند که در این رابطه، اسید جیبرلیک موثرتر از کاینترین بود. اسید جیبرلیک در شرایط تنش خشکی، فعالیت آمیلاز را در لپه‌ها بطور معنی‌داری افزایش داد در حالیکه کاینترین و ایندول استیک اسید، کمتر موثر بودند (۲۲). پرایمینگ بذرهای پیر شده^۶ نخود با اسید ابسیسیک (ABA)^۷، سبب افزایش جوانه‌زنی و کاهش میانگین زمان جوانه‌زنی گردید (۳۴).

گراسهای چندساله در ایران بعنوان گیاهان کلیدی از نظر اقتصادی و پایداری محیطی مراتع برای چرای دامها اهمیت دارند. جوانه‌زنی و سبز شدن بذر، از مهمترین مراحل در اصلاح مراتع، خصوصاً در مناطق خشک می‌باشد. کمبود

1. Adventitious roots
2. Hormonal priming
3. Seed performance
4. Xyloglucan endotransglycosylase
5. Expansin
6. Aged seeds
7. Abscisic acid

با استفاده از روابط زیر، سرعت جوانه‌زنی، متوسط زمان جوانه‌زنی و شاخص بنیه محاسبه گردید:
فرمول سرعت جوانه‌زنی (۳):

$$\text{سرعت جوانه زنی} = \sum_1^j \frac{n_i}{D_i}$$

n_i : تعداد بذور جوانه زده در روز i ام و D_i : تعداد روز پس از شروع آزمایش

فرمول متوسط زمان جوانه‌زنی (۱۲):

$$\text{متوسط زمان جوانه زنی} = \frac{\sum_{i=1}^k n_i t_i}{\sum_{i=1}^k n_i}$$

t_i : تعداد روز پس از کاشت، n_i : تعداد بذور جوانه زده در روز i ام و K : آخرین روز جوانه‌زنی

فرمول شاخص بنیه (۲):

$$\text{شاخص بنیه} = \frac{\text{درصد جوانه زنی} \times \text{میانگین طول گیاهچه (میلیمتر)}}{100}$$

بررسی نرمال بودن داده ها با نرم افزار Minitab انجام شد. داده‌های درصد جوانه‌زنی با استفاده از روش تبدیل زاویه‌ای^۱ و داده‌های سایر صفات نیز در صورت نیاز تبدیل شدند. تجزیه واریانس بر اساس آزمایش فاکتوریل (سه فاکتوره؛ رژیم رطوبتی، نوع هورمون و غلظت هورمون) در قالب طرح کاملاً تصادفی با نرم افزار MSTAT-C انجام شد.

نتایج

جوانه‌زنی

درصد جوانه‌زنی: درصد جوانه‌زنی تحت تاثیر کاهش پتانسیل اسمزی محیط جوانه‌زنی (-0.5MPa) قرار نگرفت. همچنین اثر متقابل معنی‌داری بین فاکتورهای مورد بررسی بر درصد جوانه‌زنی مشاهده نشد. نوع هورمون نیز بر درصد جوانه‌زنی تاثیری نداشت اما با افزایش غلظت هورمون، درصد جوانه‌زنی کاهش یافت. پرایمینگ، درصد جوانه‌زنی در شرایط بدون تنش را افزایش نداد اما بذورهای پرایم شده

(Schleicher & Schuell، ۹۰ میلیمتری، ساخت آلمان) داخل ظرف پتری استریل (با قطر ۹cm) قرار داده شدند.
جدول ۱- مشخصات هورمونهای استفاده شده برای

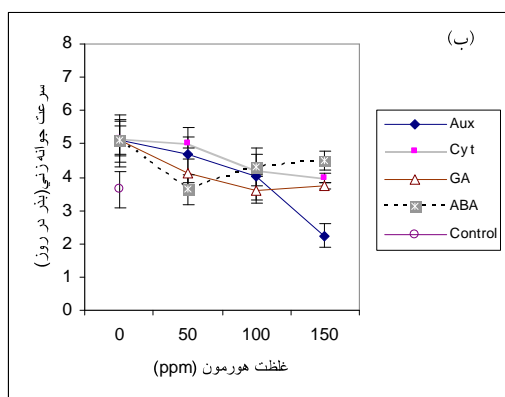
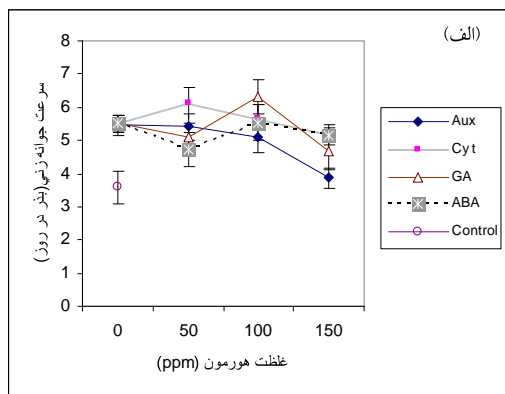
پرایم کردن بذرها			
نام ژنریک	نام شیمیایی	فرمول	شرکت سازنده
اکسین (Aux)	ایندول-۳-بوتیریک اسید	$C_{12}H_{13}NO_2$	Merk
سیتوکینین (Cyt)	۶-بنزیل آمینوپورین	$C_{12}H_{11}N_5$	Sigma
جیبیرلین (GA)	جیبیرلیک اسید	$C_{19}H_{22}O_6$	Merk
ابسیسیک (ABA)	ترانس-اسید ابسیسیک	$C_{15}H_{16}N_2O_2$	Sigma

بذورهای پرایم نشده نیز بعنوان شاهد کشت شدند. برای اعمال تنش خشکی از محلول پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ استفاده شد. پتانسیل اسمزی محلول پلی اتیلن برای آبیاری تیمارهای تنش خشکی، با استفاده از رابطه میشل و کافمن (۱۹۷۳) در سطح -0.5MPa تنظیم شد (۲۴). از آب مقطر (صفر Mpa) برای تیمارهای بدون تنش استفاده شد. سه تکرار برای هر تیمار در نظر گرفته شد. ظرفهای پتری حاوی بذرها به ژرمناتور (مدل Dipl.Ing.W.Ehret GmbH. D-783 ساخت آلمان) با دمای ثابت 21°C ، تناوب نوری ۱۲-۱۲ ساعت تاریکی - روشنایی و رطوبت نسبی ۵۰٪ منتقل شدند. ظرفهای پتری به طور روزانه سرکشی و تعداد بذورهای جوانه زده یادداشت گردید.

فرایند جوانه‌زنی با جذب آب توسط بذر خشک در حال استراحت، شروع و با خروج ریشه‌چه از ساختارهایی که آن را فرا گرفته‌اند کامل می‌شود (۷). براین اساس، خروج یک میلیمتری ریشه‌چه بعنوان معیار بذر جوانه زده در نظر گرفته شد. آزمون جوانه‌زنی تا زمانی ادامه یافت که در سه شمارش متوالی بر تعداد بذورهای جوانه زده افزوده نشد. بر همین اساس این آزمون ۱۸ روز طول کشید. در پایان آزمایش نیز طول ریشه و تعداد ریشه‌های جنینی تعیین شدند.

1. Arcsine transformation

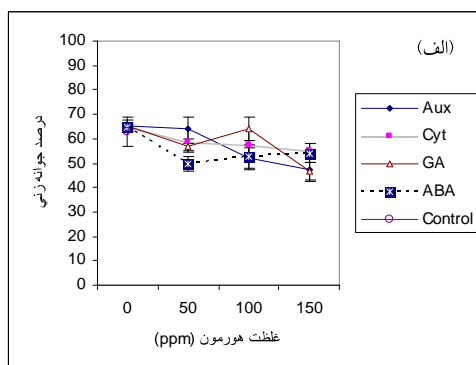
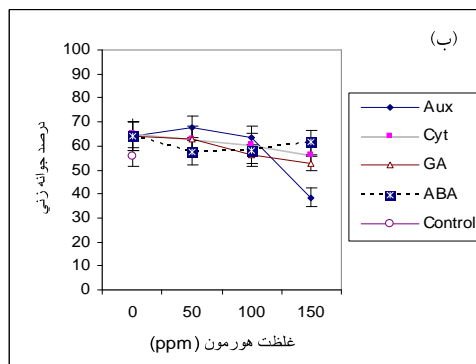
شده با آب مقطر و بذور پرایم شده با سیتوکینین ۵۰ ppm داشتند. اکسین ۱۵۰ ppm شدیداً سرعت جوانه‌زنی را کاهش داد (شکل ۲).



شکل ۲- اثر هورمونهای اکسین (Aux)، سیتوکینین (Cyt)، جیبرلین (GA) و اسیدابسیسیک (ABA) بر سرعت جوانه زنی بذرهای پیر شده علف گندمی در شرایط بدون تنش (الف) و شرایط تنش (ب).

متوسط زمان جوانه‌زنی: کاهش پتانسیل اسمزی سبب افزایش متوسط زمان جوانه‌زنی شد. یکی از دلایل احتمالی این امر، تاخیر در جذب آب توسط بذر می‌باشد. اثر متقابل تنش خشکی و غلظت هورمون بر این صفت معنی‌دار بود. اسید ابسیسیک، سیتوکینین و جیبرلین، در شرایط بدون تنش موجب کاهش متوسط زمان جوانه‌زنی شدند در حالیکه در شرایط تنش و خصوصاً در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ ppm موجب افزایش آن شدند (شکل ۳- ب). پرایم کردن بذور با آب مقطر گرچه در شرایط بدون تنش تفاوت

با آب مقطر و بذرهای پرایم شده با اکسین ۵۰ ppm در مقایسه با بذرهای پرایم نشده جوانه‌زنی بیشتری در شرایط تنش داشتند (شکل ۱).

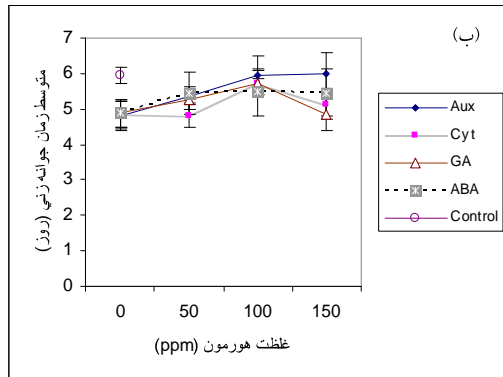
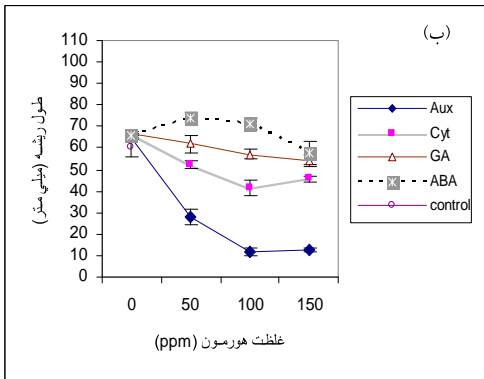
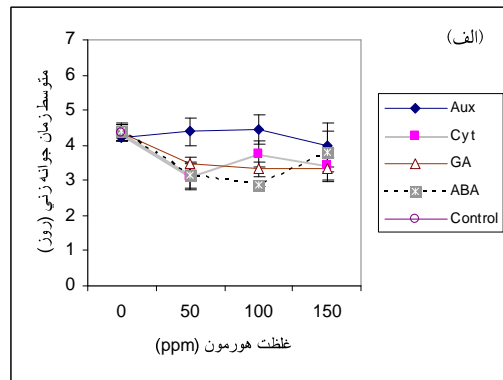
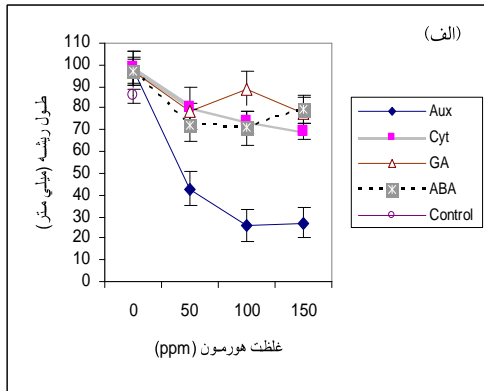


شکل ۱- اثر هورمونهای اکسین (Aux)، سیتوکینین (Cyt)، جیبرلین (GA) و اسیدابسیسیک (ABA) بر درصد جوانه‌زنی بذرهای پیر شده علف گندمی در شرایط بدون تنش (الف) و شرایط تنش (ب). منظور از Control در کلیه نمودارهای ارائه شده در این مقاله، بذر پرایم نشده می‌باشد.

سرعت جوانه‌زنی: تنش خشکی (-0.5Mpa) سرعت جوانه‌زنی را به میزان قابل توجهی کاهش داد. هورمون‌ها در غلظت‌های یکسان اثر متفاوتی بر سرعت جوانه‌زنی داشتند به گونه ای که اثر متقابل هورمون و غلظت، بر سرعت جوانه‌زنی در سطح یک درصد معنی‌دار بود. پرایم کردن بذر با آب مقطر، در هر دو شرایط تنش و بدون تنش خشکی موجب بهبود سرعت جوانه‌زنی شد. به استثنای تیمار اکسین ۱۵۰ ppm همه تیمارهای پرایمینگ موجب بهبود سرعت جوانه‌زنی در شرایط بدون تنش شدند و از این میان تیمار جیبرلین ۱۰۰ ppm، بیشترین سرعت را داشت. در شرایط تنش، بیشترین سرعت جوانه‌زنی را بذرهای پرایم

ریشه شد. اکسین رشد طولی ریشه را کاهش داد و این کاهش در غلظت‌های بالا بیشتر بود (شکل ۴).

معنی‌داری در متوسط زمان جوانه‌زنی ایجاد نکرد اما در شرایط تنش به میزان چشمگیری متوسط زمان جوانه‌زنی را کاهش داد (شکل ۳-الف).



شکل ۴- اثر هورمونهای اکسین (Aux)، سیتوکینین (Cyt)، جیبرلین (GA) و اسیدابسیسیک (ABA) بر طول ریشه بذرهای پیرشده علف گندمی در شرایط بدون تنش (الف) و شرایط تنش (ب).

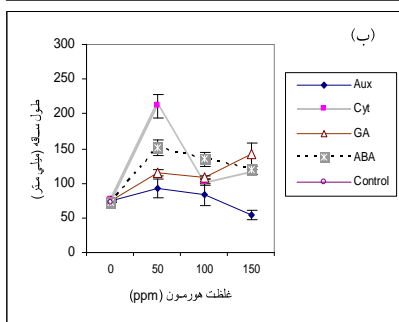
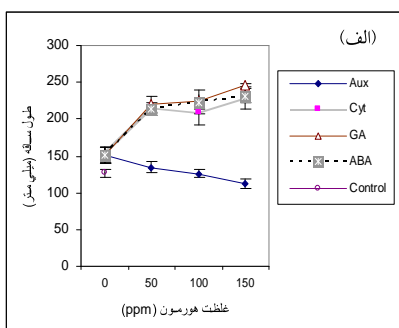
شکل ۳- اثر هورمونهای اکسین (Aux)، سیتوکینین (Cyt)، جیبرلین (GA) و اسیدابسیسیک (ABA) بر متوسط زمان جوانه زنی بذرهای پیرشده علف گندمی در شرایط بدون تنش (الف) و شرایط تنش (ب).

اکسین در هر دو شرایط تنش و بدون تنش، تعداد ریشه‌های جنینی را افزایش داد اما شدت افزایش در شرایط کنترل در مقایسه با شرایط تنش، بیشتر بود. سایر هورمون‌ها اثر بارزی بر این صفت نداشتند (شکل ۵). غلظت خیلی زیاد اکسین ۱۵۰ ppm در شرایط تنش هیچگونه افزایشی در تعداد ریشه‌های جنینی ایجاد نکرد.

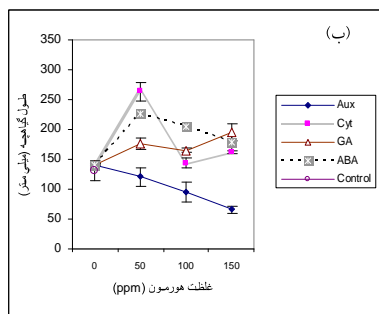
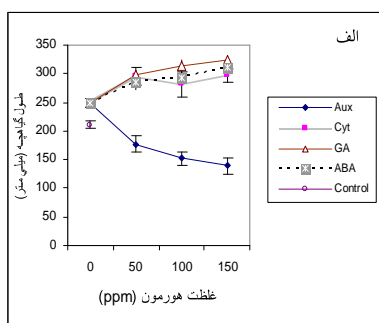
طول گیاهچه: تنش خشکی، طول گیاهچه را کاهش داد. در شرایط بدون تنش به استثنای اکسین که اثر بازدارندگی داشت، سایر هورمون‌ها سبب بهبود طول گیاهچه شدند و در این میان، جیبرلین ۱۵۰ ppm نقش بارزتری داشت. در شرایط تنش، تیمار بذرهای با سیتوکینین و

طول ریشه: در شرایط تنش، طول ریشه بذرهای پرایم شده با اسید ابسیسیک در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ ppm، در مقایسه با بذرهای پرایم شده با آب مقطر و بذور پرایم نشده بیشتر بود. جیبرلین در شرایط تنش خشکی اثر معنی‌داری بر طول ریشه نداشت اما سیتوکینین آن را کاهش داد. اکسین نیز در شرایط تنش از رشد طولی ریشه قویاً جلوگیری کرد (شکل ۴-ب).

تعداد ریشه: پتانسیل اسمزی ۵/۰ - MPa طول ریشه را کاهش داد اما اثر معنی‌داری بر تعداد ریشه‌های جنینی نداشت، گرچه تا اندازه‌ای سبب افزایش تعداد آنها شد. در شرایط کنترل، فقط پرایمینگ با آب مقطر سبب بهبود طول

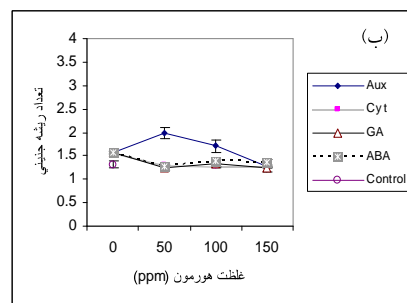
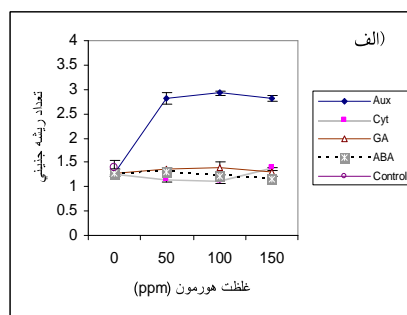


شکل ۶- اثر هورمونهای اکسین (Aux)، سیتوکینین (Cyt)، جیبرلین (GA) و اسیدابسیسیک (ABA) بر طول ساقه بذرهای پیرشده علف گندمی در شرایط بدون تنش (الف) و شرایط تنش (ب).



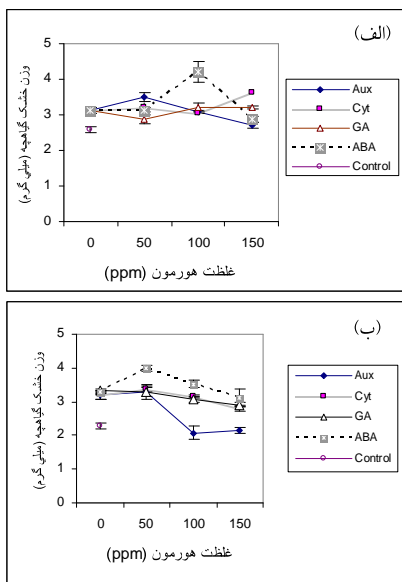
شکل ۷- اثر هورمونهای اکسین (Aux)، سیتوکینین (Cyt)، جیبرلین (GA) و اسیدابسیسیک (ABA) بر طول گیاهچه حاصل از بذرهای پیرشده علف گندمی در شرایط بدون تنش (الف) و شرایط تنش (ب).

اسیدابسیسیک در غلظت ۵۰ ppm طولیترین گیاهچه‌ها را تولید کردند (شکل ۷). طول گیاهچه در شرایط تنش افت شدیدی داشت. با این وجود، سیتوکینین و اسیدابسیسیک در غلظت پایین ۵۰ ppm و جیبرلین در غلظت بالا (۱۵۰ ppm) توانستند اثر تنش را تخفیف داده و سبب بهبود طول گیاهچه شوند (شکل ۷).



شکل ۸- اثر هورمونهای اکسین (Aux)، سیتوکینین (Cyt)، جیبرلین (GA) و اسیدابسیسیک (ABA) بر تعداد ریشه‌های جنینی بذرهای پیرشده علف گندمی در شرایط بدون تنش (الف) و شرایط تنش (ب).

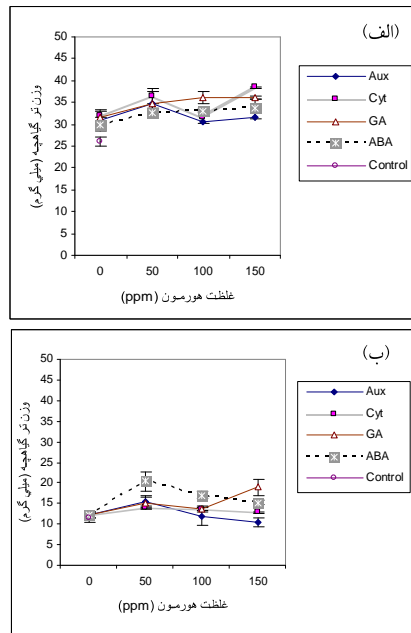
طول ساقه (بخش هوایی): طول ساقه با کاهش پتانسیل اسمزی، کاهش یافت. در مقایسه با ریشه، طول ساقه (در هردو شرایط بدون تنش و تنش) بسیار بهتر تحت تاثیر پرایمینگ هورمونی بهبود یافت که می‌تواند گواهی بر خسارت بیشتر به ریشه در طی پیری باشد. در شرایط کنترل، هورمونهای جیبرلین، اسیدابسیسیک و سیتوکینین در هر سه غلظت استفاده شده با روندی مشابه موجب افزایش قابل توجه طول ساقه شدند اما اکسین اثر معنی‌داری نداشت. در شرایط تنش، بیشترین اثر رونق بخش بر رشد ساقه مربوط به سیتوکینین ۵۰ ppm بود (شکل ۶).



شکل ۹- اثر هورمونهای اکسین (Aux)، سیتوکینین (Cyt)، جیبرلین (GA) و اسیدابسیسیک (ABA) بر وزن خشک گیاهچه حاصل از بذرهای پیرشده علف گندمی در شرایط بدون تنش (الف) و شرایط تنش (ب).

کنترل افزایش معنی‌داری نشان داد (شکل ۱۰). درصد کاهش رشد ناشی از افت پتانسیل آبی (-۰/۵ MPa) محیط جوانه‌زنی، در ریشه ۳۱٪ و در ساقه ۴۹٪ بود (جدول ۲). همه تیمارهای هورمونی سبب کاهش R/S شدند (شکل ۱۰). شاخص بنیه: شاخص بنیه با استفاده از درصد جوانه‌زنی و طول گیاهچه محاسبه می‌شود و با هر دوی آنها رابطه مستقیم دارد. این شاخص در پتانسیل اسمزی -۰/۵ MPa کاهش معنی‌داری نشان داد و ۴۹٪ کمتر از مقدار آن در شرایط بدون تنش بود. در شرایط بدون تنش، به استثنای اکسین، سه هورمون دیگر سبب بهبود این شاخص شدند و اثر مثبت جیبرلین ۱۰۰ ppm از بقیه بیشتر بود. شاخص بنیه حاصل از این تیمار، ۶۹٪ بیشتر از بذرهای پرایم نشده بود (شکل ۱۱ و جدول ۲). در پتانسیل اسمزی -۰/۵ MPa، بیشترین شاخص بنیه در تیمار سیتوکینین ۵۰ ppm مشاهده شد و در رده بعدی اسید ابسیسیک بود که در هر سه غلظت توانست اثرات مفیدی بر شاخص بنیه در شرایط تنش داشته باشد.

وزن تر گیاهچه: وزن تر گیاهچه در اثر تنش خشکی کاهش یافت. همه تیمارهای پرایمینگ در شرایط بدون تنش رطوبتی سبب افزایش وزن تر شدند. سیتوکینین ۱۵۰ ppm بیشترین وزن تر گیاهچه را در این شرایط موجب شد. در شرایط تنش، بیشترین وزن تر را اسیدابسیسیک ۵۰ ppm و جیبرلین ۱۵۰ ppm داشتند (شکل ۸).



شکل ۸- اثر هورمونهای اکسین (Aux)، سیتوکینین (Cyt)، جیبرلین (GA) و اسیدابسیسیک (ABA) بر وزن تر گیاهچه حاصل از بذرهای پیرشده علف گندمی در شرایط بدون تنش (الف) و شرایط تنش (ب).

وزن خشک گیاهچه: پرایمینگ وزن خشک گیاهچه را افزایش داد. اثر متقابل سه گانه تنش خشکی × هورمون × غلظت بر وزن خشک معنی‌دار بود. در شرایط کنترل، اسید ابسیسیک ۱۰۰ ppm و در شرایط تنش، اسید ابسیسیک ۵۰ ppm بیشترین وزن خشک را تولید کردند. اکسین در غلظت بالا (۱۰۰ و ۱۵۰ ppm) در شرایط تنش موجب کاهش شدید وزن خشک گیاهچه شد (شکل ۹).

نسبت طول ریشه به طول ساقه: نسبت طول ریشه به طول ساقه (R/S) در شرایط تنش در مقایسه با شرایط

جدول ۲- درصد تغییرات برخی صفات مورد بررسی در علف گندمی بلند تحت تاثیر پرایمینگ هورمونی در مقایسه با شاهد (بذر پرایم نشده)

صفات		درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	شاخص بنیه	متوسط زمان جوانه‌زنی	تعداد ریشه جنینی	وزن خشک گیاهچه	طول ریشه	طول ساقه	طول گیاهچه
تیمار	آب مقطر	GA100	GA100	GA100	ABA100	Aux100	ABA100	آب مقطر	GA150	GA150
	درصد تغییر	+۳/۴	+۴۳/۳۲	+۴۰/۸۴	-۵۰/۹	<u>+۵۲/۳۹</u>	+۲۸/۵۷	+۱۲/۸۴	+۴۸/۳۵	+۳۴/۹۶
تیمار	آب مقطر	Aux50	آب مقطر	Cyt50	GA150	Aux50	ABA50	ABA50	Cyt50	Cyt50
	درصد تغییر	+۱۸/۳	+۲۹/۸۳	<u>+۶۴/۴۶</u>	-۲۲/۶۹	+۳۴/۱۳	+۴۳	+۱۹/۱۱	+۶۶/۲۰	+۵۰/۰۷

موضوع در این آزمایش نیز مشاهده گردید.

بنابراین استفاده از غلظت‌های پایین‌تر از ۵۰ ppm این هورمون ممکن است بتواند اثرات مفیدی بر رشد گیاهچه داشته باشد. جالب اینکه هدایت الکتریکی محلولهای اکسین بعد از اتمام پرایمینگ، تفاوت زیادی با محلول شاهد (غلظت صفر) نداشت، اما هدایت الکتریکی در بقیه هورمونها خصوصاً جیبرلین، از شاهد کمتر بود (جدول ۳).

جدول ۳- درصد تغییرات هدایت الکتریکی محلول‌ها در پایان زمان پرایمینگ نسبت به شاهد (پرایمینگ با آب مقطر)

تیمار هورمونی	درصد تغییر هدایت الکتریکی
GA150 ppm	-۴۷/۱۳
ABA100 ppm	-۳۱/۷۴
GA100 ppm	-۲۳/۷۱
ABA50 ppm	-۲۲/۳۳
Cyt100 ppm	-۲۲/۰۲
Cyt150 ppm	-۲۱/۹۹
ABA150 ppm	-۱۷/۴۶
GA50 ppm	-۱۵/۲۶
Aux150 ppm	-۱۴/۹۳
Aux100 ppm	-۹
Cyt50 ppm	-۶/۲۷
Aux50 ppm	+۵/۰۷
شاهد (آب مقطر)	۰

بحث

اکسین (ایندول -۳- استیک اسید) نقش مهمی در کنترل نمو و توسعه ریشه نظیر توقف طویل شدن ریشه اولیه و تشدید تشکیل ریشه‌های نابجا، ریشه‌های جانبی و ریشه‌های مویین ایفاء می‌کند. همچنین ژنهای در گیر در مسیر انتقال پیام اکسین در آرابیدوپسیس، توانایی کنترل نمو ریشه‌ها را دارند (۲۹). غلظت زیاد اکسین بر بسیاری از صفات اندازه‌گیری شده از جمله درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه اثر بازدارندگی داشت. منحنی عکس‌العمل بافت زنده به همه هورمونهای شناخته شده زنگوله ای شکل می‌باشد. یعنی در غلظت‌های پایین اثر تحریک‌کنندگی داشته و به حداکثر خود می‌رسد و در غلظت‌های بالاتر از آن اثر بازدارندگی خواهد داشت (۵). اثر بازدارندگی اکسین در غلظت‌های بالا، تولید اتیلن دانسته شده است (۱۰، ۱۸). اکسین در غلظت‌های بسیار کم (10^{-8} مول یا کمتر) محرک طویل شدن ریشه می‌باشد و در غلظت‌هایی که محرک طویل شدن اندام هوایی است (10^{-6} تا 10^{-5} مول)، رشد ریشه را متوقف می‌کند. این توقف رشد ریشه بخشی بخاطر تولید اتیلن در اثر غلظت زیاد اکسین می‌باشد (۱۸). هاپکینز و هانر (۲۰۰۴) بیان کردند با وجودی که اکسین در غلظت زیاد رشد ریشه را متوقف می‌نماید اما تشکیل ریشه‌های ثانویه را تحریک می‌کند. این

کیفیت بذرهای پیر شده در نظر گرفته شود. با نگاهی به نتایج می‌توان گفت شاخص بنیه در هر دو شرایط رطوبتی این آزمایش، بخوبی توسط پرایمینگ هورمونی در بذرهای پیر شده قابل بهبود است. سیتوکینین 50 ppm سبب افزایش طول ساقه شد. که ممکن است ناشی از افزایش تقسیم سلولی باشد. یکی از اثرات بارز سیتوکینین کنترل چرخه سلولی در یوکاریوتها است و در غلظت بهینه سبب افزایش تقسیم سلولی می‌شود (۵، ۱۸). یکی از دلایلی که اکسین با وجود اثر مفید نسبی بر درصد جوانه‌زنی بذرهای پیر شده نتوانست شاخص بنیه را افزایش دهد، اثر بازدارندگی شدید آن بر رشد طولی گیاهچه و خصوصاً بازداری رشد طولی ریشه بود.

نرخ بهبود بنیه در اثر تیمارهای هورمونی، در شرایط تنش بیشتر از شرایط بدون تنش بود (۶۴٪ در مقایسه با ۴۸٪) (جدول ۲). بذرهای پیری که با جیبرلین 100 ppm پرایم شده بودند آشکارا بنیه بهتری ارائه داشتند (افزایش ۶۴ درصدی نسبت به پرایم نشده‌ها - جدول ۲). همچنین این تیمار توانست سرعت جوانه‌زنی را بیش از ۴۳٪ افزایش دهد. این اثرات مفید پرایمینگ با جیبرلین ممکن است بواسطه نقش غلظت بهینه آن در تسریع و بهبود جوانه‌زنی از یک طرف و افزایش طولیل شدن و تقسیم سلولی در گیاهچه تولیدی از طرف دیگر باشد (۵، ۱۳).

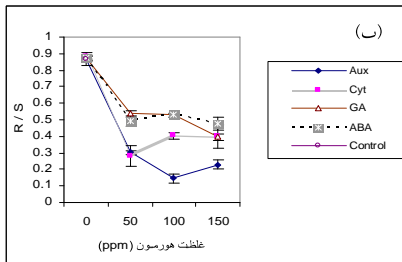
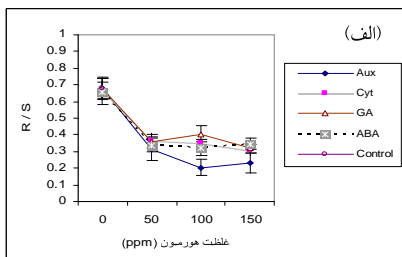
افزایش معنی‌دار R/S در شرایط تنش، منعکس کننده این واقعیت است که رشد اندام هوایی خصوصاً برگ‌ها در مقایسه با رشد ریشه، به کاهش پتانسیل اسمزی حساس تر است و آستانه فشار ترگر برای رشد سلول ریشه، کمتر از آستانه فشار ترگر برای رشد سلول اندام هوایی است. مثلاً در ذرت وقتی پتانسیل آب بافت به -0.45 MPa رسید، رشد برگ کاهش یافت و در -1 MPa کاملاً متوقف شد اما رشد عادی ریشه تا -0.85 MPa ادامه یافت و در -1.4 MPa بطور کامل متوقف شد (۱۸). اسید اسیسیک و جیبرلین بواسطه کاهش کمتر R/S ممکن است برای شرایط تنش مفید تر باشند زیرا بالاتر بودن این نسبت بواسطه نقش مثبتی که در جذب آب دارد سبب تحمل شرایط تنش خشکی توسط گیاه می‌شود (۱۸). اکسین از طریق کاهش طول ریشه و دیگر هورمونها از طریق افزایش رشد ساقه موجبات کاهش این نسبت را فراهم آوردند.

خسارت به ساختار غشاهای سلولی در طی پیری بذر ممکن است عامل مهمی در تشریح علل زوال و پیری بذر باشد (۳۲). لذا اثرات مفید تیمارهای موفق نظیر جیبرلین 100 ppm ممکن است بخشی بواسطه بهبود ساختار غشاء بذرهای پیر شده باشد. با این وجود، غلظت بالای جیبرلین، جوانه‌زنی را کاهش داد. کاهش جوانه‌زنی در غلظت‌های بالای جیبرلین، به رهاسازی یک یا چند عامل از اندوسپرم که القاء کننده مرگ سلول در بافتهای جنینی هستند ربط داده شده است. رهاسازی این عوامل در مراحل آخر جوانه‌زنی و درست قبل از خروج ریشه اولیه صورت می‌گیرد. یک دلیل احتمالی دیگر این است که غلظت زیاد جیبرلین سبب جلو انداختن مرگ سلولهای اندوسپرم شده و مرگ اندوسپرم خیلی زودتر از رشد محور جنینی اتفاق می‌افتد. به بیان دیگر، غلظت زیاد جیبرلین همزمانی فرایندهای جوانه‌زنی در محور جنینی و اندوسپرم را به هم می‌زند (۱۳). اثرات مفید اسیداسیسیک در شرایط تنش را می‌توان به نقش ویژه ای که این هورمون در تحمل تنش ایفا می‌کند نسبت داد. میزان اسیداسیسیک داخلی در پاسخ به بسیاری از تنشها خصوصاً آنهایی که القاء کننده تنش خشکی هستند افزایش می‌یابد. در اکثر منابع این هورمون را هورمون تنش نام نهاده‌اند. هنگامی که جوانه‌زنی در محیط رطوبتی با پتانسیل اسمزی -0.5 MPa انجام شد، پرایم نمودن بذرها با اسیداسیسیک در غلظت های ۵۰ و ۱۰۰ ppm توانست اثر مفیدی بر رشد طولی ریشه داشته باشد. وقتی جوانه‌زنی و رشد گیاهچه در محیط بدون تنش رطوبتی صورت گرفت، پرایم کردن بذرها با هیچ یک از هورمونها نتوانست اثر رونق بخشی بر رشد طولی ریشه بذرهای پیر شده داشته باشد اما پرایمینگ بذرها با آب مقطر سبب افزایش طول ریشه شد.

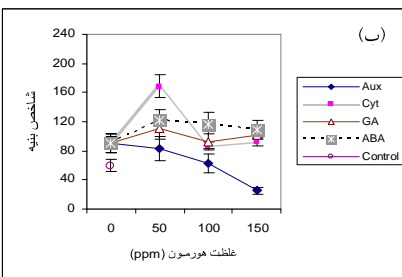
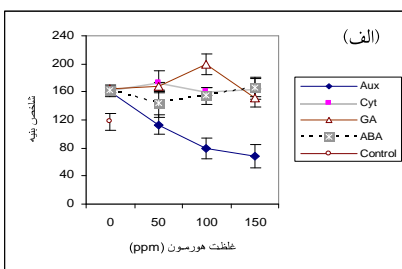
شاخص بنیه تابعی از درصد جوانه‌زنی و طول گیاهچه است و ارتباط مستقیم با این دو صفت دارد. عیسوند و علیزاده (۲۰۰۳) نشان دادند پیری زودرس، شاخص بنیه بذر بادرشبو را بیشتر از درصد جوانه‌زنی کاهش می‌دهد. افزایش این شاخص، می‌تواند نشانه خوبی از روند بهبود

1. *Dracocephalum moldavica* L.

طبیعی موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، آقای مهندس سیدیان و خانم فلاح حسینی کارشناس آزمایشگاه، بخاطر همکاری صمیمانه آنها تشکر و قدردانی می‌شود.



شکل ۱۰- اثر هورمونهای اکسین (Aux)، سیتوکینین (Cyt)، جیبرلین (GA) و اسیدابسیسیک (ABA) بر نسبت R/S گیاهچه حاصل از بذرهای پیرشده علف گندمی در شرایط بدون تنش (الف) و شرایط تنش (ب).



شکل ۱۱- اثر هورمونهای اکسین (Aux)، سیتوکینین (Cyt)، جیبرلین (GA) و اسیدابسیسیک (ABA) بر شاخص بنیه بذرهای پیرشده علف گندمی در شرایط بدون تنش (الف) و شرایط تنش (ب).

گرچه با پرایم کردن بذرهای پیر شده توسط اکسین ۵۰ ppm و کاهش جزئی پتانسیل اسمزی، اندکی درصد جوانه‌زنی افزایش یافت اما این افزایش معنی‌دار نبود. از نقطه نظر پارامترهای مرتبط با بنیه خصوصاً سرعت جوانه‌زنی و رشد گیاهچه، نتایج امیدوار کننده بود. به گونه‌ای که برای بهبود کیفیت فیزیولوژیک این بذر، در شرایط بدون تنش، تیمار جیبرلین ۱۰۰ ppm، و در شرایط تنش، تیمارهای سیتوکینین ۵۰ ppm و اسید ابسیسیک ۵۰ ppm بسته به هدف قابل توصیه هستند. اقبال و همکاران (۲۰۰۶-الف) نیز نشان دادند پرایم کردن بذر دو رقم گندم حساس و متحمل به شوری با کاپنتین و BAP سبب افزایش جوانه‌زنی، رشد و نهایتاً عملکرد در آنها شد، البته کاپنتین از BAP موثرتر بود (۱۹).

بدین ترتیب برآیند نتایج از امکان‌پذیر بودن افزایش کیفیت بذرهای زوال یافته حکایت دارد. به هر حال نباید از نظر دور داشت که بررسی تیمارهای ترکیبی هورمونهای فوق نیز می‌تواند افق جدیدی در مبحث بهبود کیفیت بذرهای زوال یافته بگشاید، چرا که در صورت عدم بروز اثرات آنتاگونیستی^۱، می‌توان از اثرات مفید همه هورمونها بهره مند شد و یا در صورت وجود اثرات سینرژیستی^۲، نتایج بسیار بهتری بدست آورد. در برخی تحقیقات در مورد بذر گندم بیان شده است که اثر مفید پرایمینگ هورمونی (مثلاً کاپنتین) بذر در تحمل تنش شوری، بواسطه متعادل شدن وضعیت هورمونی بذر/ گیاهچه می‌باشد (۲۰). لذا برای شناخت دقیق‌تر اثرات متقابل هورمونها در این زمینه، اندازه‌گیری میزان هورمونهای درونی در بافتهای مختلف بذر، قبل و بعد از پرایمینگ نیز گزینه تحقیقاتی مناسبی خواهد بود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت پژوهشی و فناوری پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران در فراهم نمودن هزینه‌های انجام این تحقیق طی طرح شماره ۷۱۰۱۰۲۷/۶/۰۹ قدردانی می‌گردد. همچنین از ریاست محترم موسسه جناب آقای دکتر عصاره، آقای مهندس نصیری مسئول آزمایشگاه تکنولوژی بذر بانک ژن منابع

1. Antagonistic effects
2. Synergistic effects

REFERENCES

1. Abdi, N. & H. Maddah Arefi. 2001. Study of variation and seed deterioration of *Bromus lomentellus* germplasm in natural resources genebank. Iranian Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 7: 22-25.
2. Abdul-baki, A. A. & J. D. Anderson. 1973. Vigor determination in soybean seed by multiplication. Crop Science, 3: 630-633.
3. Agrawal, R. L., 2004. Seed technology. Oxford and IBH Publishing Co. LTD. New Delhi.
4. Ajouri, A., H. Asgedum, & M. Becker. 2004. Seed priming enhances germination and seedling growth of barley under conditions of P and Zn deficiency. J. Plant Nutr. Soil Science, 167: 630-636.
5. Arteca. N. R., 1995. Plant growth substances: principles and applications. Springer, 352 pages.
6. Bassiri, M., A. M. Wilson, & B. Grami. 1988. Dehydration effect on seedling development of four range species. Journal of Range Management. 41: 383-386.
7. Bewley, J.D., 1997. Seed germination and dormancy. Plant Cell. 9:1055-1066.
8. Bingham, I. J., A. Harris, & L. MacDonald. 1994. A comparative study of radicle and coleoptile extension in maize seedlings from aged and unaged seeds. Seed Science and Technology, 22, 127-139.
9. Cai, X., S.S. Jones, & T. D. Murray. 1996. Characterization of an Agropyron elongatum chromosome conferring resistance to cephalosporium stripe in common wheat. Genome 39:56-62.
10. Cobb, A. 1992. Herbicides and plant physiology. Chapman & Hall / CRC Press, USA.
11. Copeland, L. O., & M. B. McDonald. 1985. Principles of seed science and technology. John Wiley and Sons, New York.
12. Czabator, F. J. 1962. Germination value: an index combining speed and completeness of pine seed germination. Forest Science 8:386-396.
13. Da Silva, E.A.A., P. E. Toorop, J. Nijse, J. D. Bewley, & H. W. M. Hilhorst. 2005. Exogenous gibberellins inhibit coffee (*Coffea arabica* cv. Rubi) seed germination and cause cell death in the embryo. Journal of Experimental Botany, 56 (413):1029-1038.
14. Eisevand, H. R. and M. A. Alizadeh. 2002. Evaluation some physiological quality characters (percentages of germination, speed of germination & vigore index) of *Dracocephalum moldavica* L., by accelerated aging test. Iranian Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 11: 249-256.
15. Eisevand, H. R., H. Maddah Arefi, & M. Nasiri. 2004. Seed production challenges in some species of Bromus, Aegilops and Onobrychis in Natural Resources GeneBank of Iran. 31 Aug-2exp. 204. Proceedings of the 12th Iranian Biology Conference, Bu Ali Sina University of Hamedan- Department of Biology.
16. FAO (Food and Agriculture Organization). 2003. Statistical data base. The state of Iran Agri-Food country profile. Rome.
17. Hardegee, S.P. & S. S. Van Vactor. 2000. Germination and emergence of primed grass seeds under field and simulated-field temperature regimes. Annals of Botany, 85: 379-390.
18. Hopkins, W.G., & N. P. A. Huner. 2004. Introduction to plant physiology. 3rd edition, John Wiley and Sons, Inc.
19. Iqbal, M., Ashraf M., Jamil A. and Rehman S., 2006b. Dose seed priming induce changes in the levels of some endogenous plant hormones in hexaploid wheat plants under salt stress? Journal of Integrative Plant Biology, 48 (2): 181-189.
20. Iqbal, M., M. Ashraf, & A. Jamil. 2006a. Seed enhancement with cytokinins: changes in growth and grain yield in salt stressed wheat plants. Plant Growth Regulation, 50:29-39.

21. Karssen CM, Zagorski S, Kepczynski J, Groot, SPC. 1989. A key role for endogenous gibberellins in the control of seed germination. *Annals of Botany*, 63, 71–80.
22. Kaur, S., Gupta K. A. and Kaur N., 1998. Gibberellic acid and kinetin partially reverse the effect of water stress on germination and seedling growth in chickpea. *Plant Growth Regulation* 25: 29–33.
23. McDonald MB., 1999. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. *Seed Science and Technology*, 27: 177-237.
24. Michel. B. E., and Kaufmann M. R., 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiology*, 51: 914-916.
25. Mozaffarian, V. 1996. A dictionary of Iranian Plant names. Farhang Moaser Publisher, Tehran.
26. Pandey, P. K., Goyal, R. D., Parakash, V., Katiyar, R. P. and Singh, C. B., 1990. Association between laboratory vigour tests and field emergence in cucurbits. *Seed Research*, 18: 40-43.
27. Potter, L., and Fry S. C., 1993. Xyloglucan endotransglycosylase activity in pea internodes: Effects of applied gibberellic acid. *Plant Physiology*, 103: 235-241.
28. Priestly, D.A., 1986. Seed aging. Cornell University Press.
29. Reed, J.W., 2001. Roles and activities of Aux/IAA proteins in Arabidopsis. *Trends Plant Sci.* 6: 420–425.
30. Robertson, J.H., 1955. Penetration of roots of tall wheat grass in wet saline-alkali soil. *Ecology* 36:755-757.
31. Roohi, R. and Jameson D. A., 1991. The effect of hormone, dehulling and seedbed treatments on germination and adventitious root formation in blue grama. *Journal of Range Management*, 44: 237-241.
32. Senaratna, T., Gusse, J. F. and McKersie, B. D., 1988. Age-induced changes in cellular membranes of imbibed soybean seed axes. *Physiologia Plantarum* 73: 85-90.
33. Schiefelbein, J.W., 2003. Cell-fate specification in the epidermis: A common patterning mechanism in the root and shoot. *Current Opinion in Plant Biology*, 6: 74–78.
34. Sivritepe, H. O., and Dourado A. M., 1995. The effect of priming treatments on viability and accumulation of chromosomal damage in aged pea seeds. *Annals of Botany*, 75:165-171.
35. Taboada, M.A., G. Rubio, and Lavado R. J., 1998. The deterioration of tall wheat grass pastures on saline sodic soils. *Journal of Range Management*, 51:241-246.