Archive of SID

تأثیر پیش تیمار متیل جاسمونات بر شاخص‌های جوانه‌زنی و ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاهچه استویا (*Stevia rebuadiana*) تحت تنش شوری

الناز محمدیان [۱،*]، هرمز کیانمهر [۲]، حجت عطایی سماق [۳]، ندا آزاد نفس مهجور [۴]، فاطمه صفری [۴]، آرزو صفرزاده [۴]

چکیده مبسوط

مقدمه: استویا گیاهی چندساله، روز کوتاه و متعلق به خانواده آستراسه است که گیاه شکر برگ نیز نامیده می‌شود. جوانه‌زنی ضعیف در این گیاه مانعی برای کشت در مقیاس بزرگ بوده و سبب کمیاب شدن و گران‌قیمت بودن مواد مؤثره این گیاه دارویی شده است. در بسیاری از گیاهان مرحله جوانه‌زنی بذر به شوری حساس بوده و تعیین کننده بقای گیاهان در خاک‌های شور می‌باشد. سطوح بالای شوری خاک می‌تواند به طور معنی داری از جوانه‌زنی و رشد گیاهچه به دلیل اثرات مربوط به پتانسیل اسمزی بالا و سمیّت ویژه یون، جلوگیری نماید. از طرفی جاسمونات‌ها از تنظیم کننده‌های رشد گیاهی جدید به شمار می‌روند که در افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی از جمله تنش شوری نیز از نقش مهمی برخوردارند. به همین دلیل این آزمایش با هدف بررسی تأثیر پیش تیمار بذر با متیل جاسمونات بر شاخص‌های جوانه‌زنی و صفات بیوشیمیایی گیاهچه‌های گیاه دارویی استویا تحت تنش شوری انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: این تحقیق به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۵ در آزمایشگاه زیست شناسی گیاهی مجتمع پروفسور حسابی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلام شهر اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل پیش تیمار متیل جاسمونات در ۵ سطح (صفر، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۱۵ میکرومولار) و تنش شوری در ۴ سطح (صفر، ۳، ۶ و ۹ دسی زیمنس بر متر) بودند. در پایان آزمایش صفات درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی، میانگین زمان جوانه‌زنی، ارزش جوانه‌زنی، طول گیاهچه، شاخص قوه نامیه بذر، کلروفیل کل، میزان پرولین، فعالیت آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز اندازه‌گیری شدند.

یافته‌ها: نتایج تحقیق نشان داد که اثرات تنش شوری، متیل جاسمونات و اثر متقابل شوری و متیل جاسمونات بر درصد و سرعت جوانه‌زنی، میانگین زمان جوانه‌زنی، ارزش جوانه‌زنی، شاخص بنیه بذر، کلروفیل کل، پرولین و فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار بود. پرایمینگ بذر با ۵ میکرومولار متیل جاسمونات در سطح شوری با هدایت الکتریکی صفر دسی زیمنس بر متر، بیشترین درصد و سرعت جوانه‌زنی، ارزش جوانه‌زنی، شاخص بنیه بذر و میزان کلروفیل کل را داشت. با افزایش تنش شوری و میزان متیل جاسمونات فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش معنی‌داری نشان داد. شوری باعث کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه استویا و افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز گردید، ولی پرایمینگ بذر با متیل جاسمونات از طریق افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر، رشد گیاهچه را بهبود بخشیده و اثرات ناشی از تنش شوری را تعدیل نمود.

نتیجه‌گیری: به طور کلی با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان اظهار داشت که متیل جاسمونات، به عنوان بهبود دهنده، می‌تواند باعث کاهش اثرات منفی شوری شود و با افزایش شاخص-های جوانه‌زنی مثل درصد و سرعت جوانه‌زنی در بهبود رشد گیاه استویا مؤثر باشد، البته برای دست یابی به نتایج دقیق‌تر، باید تحقیقات بیشتری انجام گیرد.

واژه‌های کلیدی: پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، شاخص بنیه بذر، کاتالاز، کلروفیل کل

جنبه‌های نوآوری:

۱- تیمار شوری اثر منفی و متیل جاسمونات اثر مثبتی بر شاخص‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت بذر استویا داشت.

۲- استفاده از متیل جاسمونات در غلظت ۵ میکرومولار می‌تواند در بهبود رشد گیاه استویا و کاهش اثرات منفی شوری مؤثر باشد.

[۱] دانشجوی دکترای فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات
[۲] استاد تمام دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد
[۳] کارشناسی ارشد زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد تهران
[۴] کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلام شهر
[*] پست الکترونیک نویسنده مسئول: Elnazmohamadian85@gmail.com

DOI: 10.29252/yujs.5.1.101
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۱/۰۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۳/۳۱)

CrossMark
www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

استویا[1] گیاهی چند ساله از خانواده آستراسه[2] و بومی پاراگوئه است (کومارپال[3] و همکاران، ۲۰۱۳). گلیکوزیدها ترکیب غالب این گیاه را تشکیل داده که حدود ۳۰۰ برابر شیرین‌تر از ساکارز می‌باشد (حاجی-هاشمی و احسان‌پور[4]، ۲۰۱۴). به دلیل خود ناسازگاری این گیاه، گرده‌افشانی گل‌ها توسط باد و حشرات (بخشنده[5] و همکاران، ۲۰۱۶) انجام می‌گیرد، از اینرو درصد گل‌های بارور و زنده در این گیاه کم بوده و بذر حاصل از آن درصد جوانه‌زنی پایینی دارند (لیوپا-تسکالیدی[6] و همکاران، ۲۰۱۲). البته مطالعات ارائه شده نشان داد که هیچ توافقی برای قدرت پایین جوانه‌زنی بذر استویا وجود ندارد، از یک سو برخی از محققین خودناسازگاری را علت جوانه‌زنی ضعیف در بذر استویا عنوان نموده‌اند (میتی و پروهیت[7]، ۲۰۰۸). از سویی دیگر برخی گزارش کرده‌اند که هیچ خودناسازگاری در این گیاه وجود ندارد (گوتمولر و چینگ[8]، ۱۹۹۹). به هر حال جوانه‌زنی ضعیف در این گیاه مانعی برای کشت در مقیاس بزرگ بوده و سبب کمیاب شدن آن و گران‌قیمت بودن مواد مؤثره این گیاه دارویی شده است (رجی[9] و همکاران، ۲۰۱۵).

یکی از مشکلات کشاورزی ایران شوری اراضی است. حدود ده درصد از خاک‌های ایران را خاک‌های شور و سدیمی تشکیل می‌دهد (برزگر[10]، ۲۰۰۰). با توجه به محدود بودن منابع آبی در دسترس، استفاده از آب‌های شور می‌تواند ضمن حفاظت از منابع آبی، بخشی از کمبود آب را نیز جبران نماید. شرایط محیطی از عوامل تأثیرگذار و بسیار مهم در جوانه‌زنی و تولید گیاهچه بوده و هر دو این مراحل نسبت به تنش‌های محیطی حساس می‌باشند (کورنیف[11] و همکاران، ۲۰۰۲). یکی از اثرات بازدارنده شوری بر جوانه‌زنی بذر به‌دلیل کاهش پتانسیل اسمزی و یا ایجاد سمیت یونی است (تابی[12] و همکاران، ۲۰۰۴). تحمل شوری در مرحله جوانه‌زنی بذر بسیار مهم است، زیرا جوانه‌زنی ضعیف و کاهش رشد گیاهچه منجر به استقرار ضعیف و از بین رفتن محصول خواهد گردید (سلطانی[13] و همکاران، ۲۰۰۶).

هر چند گیاه استویا می‌تواند در شرایط مختلف آب و هوایی و خاک، به‌طور موفقیت‌آمیزی رشد کند (نوری اکندی[14] و همکاران، ۲۰۱۶) اما افزایش شوری آب آبیاری موجب کاهش رشد رویشی استویا، ازجمله تعداد شاخه، تعداد، سطح برگ، وزن‌تر و خشک ساقه می‌گردد (ابتسام[15] و همکاران، ۲۰۱۴). گزارش شده که افزایش غلظت شوری از صفر تا ۱۲۵ میلی‌مولار، افزایش میزان قند و پرولین و کاهش میزان کلروفیل این گیاه را به-دنبال داشته است (نوری اکندی و همکاران، ۲۰۱۶). گیاهان پس از درک شرایط تنش، با ارسال پیام‌هایی به جریان‌های مختلف متابولیکی سلولی مکانیزم‌های دفاعی خود را فعال می‌کنند.

مولکول‌های زیادی از جمله اسید جاسمونیک، اتیلن و اسید سالیسیلیک به عنوان انتقال دهنده پیام در شرایط تنش معرفی شده‌اند (سناراتنا[16] و همکاران، ۲۰۰۰). اسید جاسمونیک و متیل استر آن (متیل جاسمونات)، ژن‌های دخیل در عکس‌العمل گیاهان به تنش‌های زنده و غیر زنده را القاء می‌کنند. همچنین گزارش شده است که جاسمونات‌ها خسارت ناشی از کم آبی، سرما و شوری را کاهش می‌دهند (سلیمی[17] و همکاران، ۲۰۱۴؛ منصور[18] و همکاران، ۲۰۰۷). پرایمینگ بذر لوپن زرد[19] با متیل جاسمونات، درصد و سرعت جوانه‌زنی را در این گیاه بهبود بخشید (زالوسکی[20] و همکاران، ۲۰۱۰). استفاده خارجی از متیل جاسمونات می‌تواند اثرات ناشی از تنش‌های

[1] *Stevia rebaudiana* Bertoni
[2] Asteraceae
[3] Kumar Pal
[4] Hajihashemi and Ehsanpour
[5] Bakhshandeh
[6] Liopa-Tsakalidi
[7] Maiti and Purohit
[8] Goettemoeller and Ching
[9] Raji
[10] Barzegar
[11] Koornneef
[12] Tobe
[13] Soltani
[14] Noori Akandi
[15] Ebtsam
[16] Senaratna
[17] Salimi
[18] Mansor
[19] *Lupinus luteus* L.
[20] Zalewski

www.SID.ir

Archive of SID

مختلف از جمله شوری و خشکی را از طریق افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و افزایش رنگیزه‌های گیاهی تعدیل نماید (محمود[1] و همکاران، ۲۰۱۲؛ سلیمی[2] و همکاران، ۲۰۱۴؛ نفیه[3] و همکاران، ۲۰۱۱). از این رو، مطالعه حاضر به منظور ارزیابی اثر تعدیل کنندگی پیش تیمار متیل جاسمونات بر برخی شاخص‌های جوانه‌زنی و بیوشیمیایی گیاهچه استویا در شرایط تیمار شوری انجام شده است.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر پیش‌تیمار متیل جاسمونات بر شاخص‌های جوانه‌زنی و صفات بیوشیمیایی گیاهچه‌های استویا تحت تیمار شوری، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۵ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلامشهر اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل پنج پیش تیمار متیل جاسمونات (صفر، دو و نیم، پنج، ده و پانزده میکرومولار) و چهار تیمار شوری (صفر، سه، شش و نه دسی زیمنس بر متر) بودند. بذرهای استویا از یک شرکت هندی[4] تهیه و با هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به مدت ۳۰ ثانیه ضدعفونی شده و سپس با آب مقطر شستشو داده شدند (یوسفی تنها[5]، ۲۰۱۴). در پایان اعمال پرایمینگ (۲۴ ساعت در دمای چهار درجه سلسیوس)، بذرها به مدت ۲۴ ساعت در آزمایشگاه در هوای آزاد خشک گردیدند (پارمون[6] و همکاران، ۲۰۱۳). در هر پتری دیش ۱۰۰ عدد بذر روی کاغذ واتمن شماره یک قرار داده شد و به هر پتری ۵ میلی‌لیتر براساس تیمارهای مختلف آب مقطر (برای شاهد) و یا محلول NaCl با غلظت مورد نظر که براساس فرمول وانت هوف $\Psi_S = -mRiT$ اضافه گردید. در معادله وانت هوف Ψ_S پتانسیل اسمزی بر حسب بار، m مولاریته محلول، I ضریب یونیزاسیون، R ثابت عمومی گازها ۰/۰۸۳۱۴۳ (لیتر بار بر مول درجه کلوین)، T دما بر حسب درجهٔ کلوین (T+273°C) می‌باشد. برای جلوگیری از تبخیر آب در پتری‌ها به وسیله پارافیلم بسته شد (فتحی امیرخیز[7] و همکاران، ۲۰۱۲). جوانه‌زنی بذرها داخل اتاقک رشد کنترل شده با دمای ۲±۲۳ درجه سلسیوس تحت شرایط نوری متناوب ۱۶ روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ۵±۷۰ درصد انجام شد (رینا[8] و همکاران، ۲۰۱۳). شمارش بذرهای جوانه‌زده از روز دوم به صورت روزانه در ساعت معین صورت گرفت (لیوپا- تساکالیدی و همکاران، ۲۰۱۲)؛ و در پایان دوره ۱۱ روزه آزمایش درصد جوانه‌زنی (لیوپا- تساکالیدی و همکاران، ۲۰۱۲)، سرعت جوانه‌زنی (پاگر[9] و همکاران، ۲۰۰۹)، میانگین زمان جوانه‌زنی (آلیس و روبرتس[10]، ۱۹۸۱)، ارزش جوانه‌زنی (قاسمی‌گلذانی و دلیل[11]، ۲۰۱۱) و شاخص بنیه بذر (اگروال[12]، ۲۰۰۳) بر طبق روابط ارائه شده در جدول ۱ محاسبه گردید.

برای اندازه‌گیری غلظت کلروفیل کل از روش لیچتنتالر[13] (۱۹۸۷) استفاده شد. بر طبق این روش، ۰/۲۵ گرم برگ گیاه مورد نظر در هاون چینی حاوی پنج میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد کاملاً هموژنیزه گردید. سپس محلول حاصل بعد از صاف کردن داخل کووت ریخته شد و با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Unico 4802 UV/Vis) در طول موج‌های ۶۶۳/۲ و ۶۴۶/۸ قرائت و با استفاده از رابطه ۱ میزان کلروفیل کل محاسبه شد (واحد میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر برگ).

رابطه ۱:

$$\text{Chl Total} = (7.15\times A_{663.2}+18.71\times A_{646.8})\times(v/w)$$

برای اندازه‌گیری پرولین از روش بیتس[14] و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. برای سنجش پرولین، ابتدا ۰/۲ گرم از برگ‌تر وزن شد و سپس سه میلی‌لیتر سولفو سالیسیلیک اسید سه درصد به آن اضافه و به طور کامل

[1] Mahmood
[2] Salimi
[3] Nafi*e*
[4] Global Horticulture Products
[5] Yosefi-Tanha
[6] Parmoon
[7] Fathei Amirkhiz
[8] Raina
[9] Pagter
[10] Ellis and Roberts
[11] Ghasemi Golozani and Dalil
[12] Agrawal
[13] Lichtenthaler
[14] Bates

www.SID.ir

Archive of SID

در هاون سائیده شد. عصاره‌های حاصل در دور ۱۸۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد.

جدول ۱- رابط محاسباتی پارامترهای مورد بررسی در آزمایش

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

۱- درصد جوانه‌زنی	Germination percentage	GP = (N×100) / M
۲- سرعت جوانه‌زنی	Germination rate	GR =∑ni / Ti
۳- میانگین زمان جوانه‌زنی	Mean time germination	MTG= ∑(ni) / ∑N
۴- ارزش جوانه‌زنی	Germination value	GV = GP × MTG
۵- شاخص بنیه بذر	Seed vigor index	SVI= GP×Mean SL

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

N=All germinated seeds at the end of the experiment, M= All the planted seeds, T= Total length of germination, Ti= Number of days after germination, n= Number of germinated seeds in Ti, SL= Seedling length

سپس دو میلی‌لیتر از عصاره‌های صاف شده به لوله‌های درب‌دار منتقل و به تمام لوله‌ها دو میلی‌لیتر معرف ناین هیدرین و دو میلی‌لیتر استیک اسید گلاسیال اضافه شد. محلول حاصل به مدت یک ساعت در بن ماری دمای ۱۰۰ درجه سلیسیوس قرار داده شدند. پس از سرد کردن لوله‌ها به هر کدام مقدار چهار میلی‌لیتر تولوئن اضافه گردید و لوله‌ها به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه با استفاده از دستگاه ورتکس تکان داده شد. پس از آن فاز روئی را که به رنگ قرمز و حاوی پرولین محلول در تولوئن بوده و هم‌زمان با نمونه‌های استاندارد در دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Unico 4802 UV/Vis) قرار گرفت و اعداد در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید. غلظت پرولین بر حسب میکرو مول بر گرم بافت تازه برگ با استفاده از منحنی استاندارد تعیین شد.

روش عصاره گیری برای سنجش فعالیت آنزیمی به این شکل بود که ۰/۲ گرم از بافت گیاهی تازه منجمد شده در نیتروژن مایع در بافر پتاسیم فسفات ۰/۰۵ مولار، pH=۶/۸ در دمای زیر چهار درجه سلیسیوس ساییده و عصاره‌گیری شد و سپس محلول همگن حاصل در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای چهار درجه سلیسیوس به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیم‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز بر طبق روش پاندولفینی[1] و همکاران (۱۹۹۲) انجام شد. در این روش روش از بافر پتاسیم فسفات ۰/۰۵ مولار در حضور گایاکول با غلظت نهایی ۲۸ میلی‌مولار و پراکسید هیدروژن با غلظت نهایی پنج میلی‌مولار استفاده شد، فعالیت آنزیمی به ازای تغییرات جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر در دقیقه بیان شد.

سنجش فعالیت کاتالاز به روش ککمک و هورست[2] (۱۹۹۱) انجام شد. مخلوط واکنش شامل عصاره آنزیمی، بافر و پراکسید هیدروژن با غلظت نهایی ۱۰ میلی‌مولار بود. تجزیه آب اکسیژنه با کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر در واحد دقیقه گزارش شد. برای اندازه-گیری میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از روش بیچامپ و فریدوویچ[3] (۱۹۷۱) استفاده شد. ۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراج را با یک میلی‌لیتر محلول اندازه‌گیری سوپراکسید دیسموتاز که شامل ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات پتاسیم (pH=۷/۸)، ۷۵ میکرومولار NBT، ۱۳ میلی‌مولار ال-متیونین ۰/۱ مولار EDTA و دو میکرومولار ریبوفلاوین بود، مخلوط گردید. جهت انجام واکنش، این مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه در اتاقک نور قرار گرفت و سپس محلول حاصل در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار داده و میزان جذب نوری آن در طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت خواهد شد.

برای تجزیه آماری داده‌ها از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۲ استفاده و با مشاهده تفاوت معنی‌دار در آنالیز واریانس (ANOVA)، مقایسه میانگین با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

درصد و سرعت جوانه‌زنی

جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر شوری، متیل جاسمونات و اثر متقابل این دو بر درصد

[1] Pandolfini
[2] Cakmak and Horst
[3] Beauchamp and Fridovich

www.SID.ir

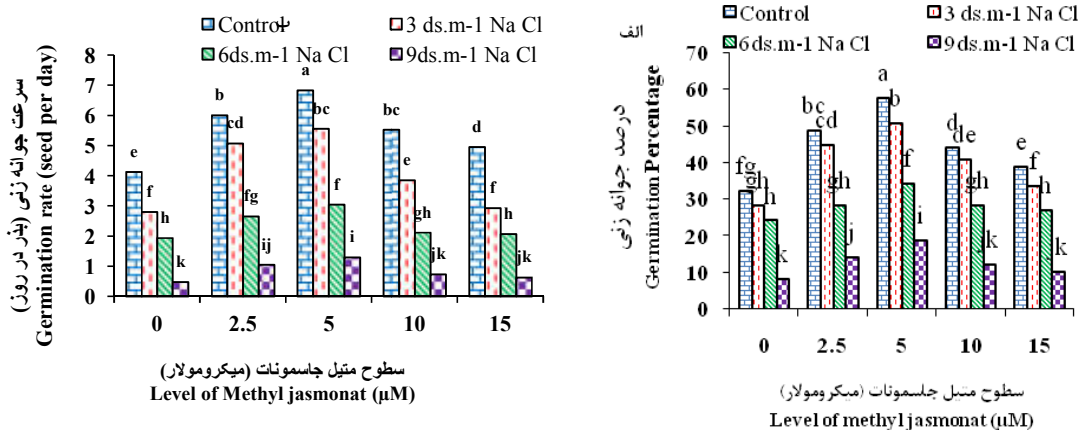
جدول ۲- تجزیه واریانس اثر جاسمونیک اسید بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر گیاه استویا تحت تیمار شوری

Table 2. Analysis of variance of the effect of jasmonic acid on germination indices of Stevia seedling under salinity treatment

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares					
		درصدجوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	میانگین زمان جوانه‌زنی Mean germination time	ارزش جوانه‌زنی Germination value	طول گیاهچه Seedling length	شاخص بنیه بذر Seed vigor
شوری (S) Salinity	3	2966.9**	61.27**	23.98**	0.00032**	1.22**	47184668**
متیل جاسمونات Methyl jasmonate (MJ)	4	512.2**	6.48**	1.14**	0.00005**	0.16**	9766103**
S×MJ	12	33.1**	0.64**	0.38**	0.000003**	0.01^{ns}	1515574**
خطای آزمایش Error	40	7.8	0.10	0.08	0.00000008	0.01	330132
ضریب تغییرات (٪) CV (%)	-	8.89	10.28	4.66	8.98	17.24	23.02

ns= غیرمعنی‌دار، *= معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و **= معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

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



شکل ۱ الف) اثر متقابل متیل جاسمونات در سطوح شوری بر درصد جوانه‌زنی **ب)** سرعت جوانه‌زنی بذر استویا. اعداد با حروف مشابه در هر ستون براساس آزمون LSD (P<0.05) اختلاف معنی‌داری ندارد.

Figure 1. A) Interactional effect of jasmonate and salinity on germination percentage; **B)** on germination rate. The numbers with the same letters in each column do not have a significant difference, based on the LSD test (P<0.05).

جوانه‌زنی بذر استویا در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. با افزایش هدایت الکتریکی تنش شوری، کاهش معنی‌دار در درصد جوانه‌زنی بذر استویا مشاهده گردید. درصد جوانه‌زنی بذر استویا در سطح شوری با هدایت الکتریکی صفر دسی زیمنس بر متر در پرایمینگ ۵ میکرومولار متیل جاسمونات بیشترین مقدار بود (۵۷/۳۳ درصد) (شکل ۱ الف). سطوح پرایمینگ ۱۰ و ۱۵ میکرومولار متیل جاسمونات نسبت به سطح ۵ میکرومولار اثرات مثبت کمتری در مورد درصد جوانه‌زنی داشتند.

شوری، متیل جاسمونات و اثر متقابل شوری در متیل جاسمونات بر سرعت جوانه‌زنی اثر معنی‌داری داشت (جدول ۲). بیشترین سرعت جوانه‌زنی در سطح شوری با هدایت الکتریکی صفر دسی زیمنس بر متر (شاهد) در پرایمینگ با متیل جاسمونات با غلظت ۵ میکرو مولار با میانگین ۶/۸۳ بذر در روز به‌دست آمد.

www.SID.ir

Archive of SID

سطوح شوری با هدایت الکتریکی بالا (به‌ویژه سطح ۹ دسی زیمنس بر متر) و همچنین پرایمینگ با متیل جاسمونات ۱۰ و ۱۵ میکرو مولار اثرات منفی و کاهش دهنده داشتند (شکل ۱ ب).

بسیاری از تنش‌های محیطی در نتیجه تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در گیاهان باعث تنش اکسیداتیو می‌شوند (شارما[1] و همکاران، ۲۰۱۲). تنش شوری به عنوان یکی از تنش‌های اصلی که در فرآیندهای مختلف گیاهی از جمله، اختلالات تغذیه‌ای، تنش اکسیداتیو، تغییر فرآیندهای متابولیکی، به هم ریختگی غشاء، کاهش تقسیم و رشد سلولی و سمیت ژنی تداخل ایجاد می‌کند (کور[2] و همکاران، ۲۰۱۳). برای تعدیل کنندگی اثرات مضرر تنش شوری بر رشد گیاهان، از پیش تیمار بذر با محافظت کننده‌های خارجی همچون اسمولیت‌های ثانویه (پرولین، گلایسین بتائین و غیره) (نونجا[3] و همکاران، ۲۰۱۲)، هورمون‌های گیاهی (جیبرلیک اسید، جاسمونیک اسید، سالیسیلیک اسید و غیره) (اقبال[4] و همکاران، ۲۰۱۲؛ یوسف[5] و همکاران، ۲۰۱۲)، آنتی اکسیدانت‌ها و غیره استفاده می‌کنند که در کاهش اثرات شوری بر رشد گیاهان مؤثر گزارش شده است (حمیدا[6] و همکاران، ۲۰۱۴).

داده‌های بدست آمده به وضوح نشان داد که شوری با کلرید سدیم به طور معنی‌داری درصد و سرعت جوانه-زنی بذر گیاه استویا را در همه سطوح کاهش داد (شکل ۱ الف و ۱ ب). کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر گیاهان در معرض شوری، ممکن است به سبب تجمع نمک در بافت‌های بذر باشد که تأثیرات سمی جبران‌ناپذیری را بر جای می‌گذارد و جذب آب توسط بذر برای جوانه‌زنی را مختل می‌کند (کایا[7] و همکاران، ۲۰۰۶).

شیوه‌های مختلف پرایمینگ باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیزی کننده، به علت قابلیت دسترسی آسان گیاهک به مواد غذایی در طول جوانه‌زنی، دانه‌های پرایمینگ شده، بهتر قادر به کامل کردن فرآیند جوانه‌زنی در زمان کوتاه‌تر و در شرایط تنش شوری می‌شوند (پاندیا[8] و همکاران، ۲۰۰۴).

میانگین زمان جوانه‌زنی و ارزش جوانه‌زنی

براساس جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) اثرات اصلی (شوری و متیل جاسمونات) و اثر متقابل آنها بر میانگین مدت جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. براساس نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل، بیشترین زمان لازم برای جوانه‌زنی در سطوح شوری با هدایت الکتریکی ۹ دسی زیمنس در شرایط پرایمینگ بذر با متیل جاسمونات در سطوح صفر، ۱۰ و ۱۵ میکرو مولار بود (شکل ۲ الف). با افزایش سطوح شوری زمان لازم برای جوانه‌زنی افزایش یافت.

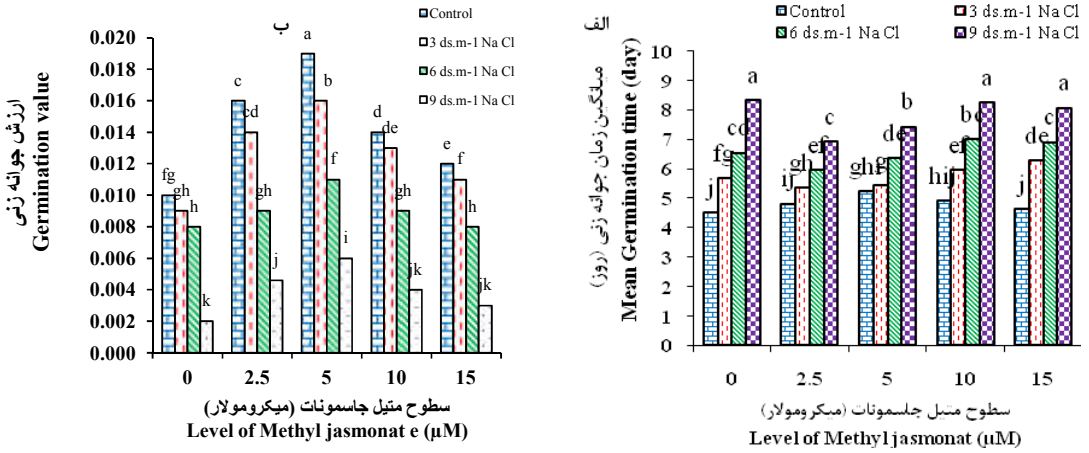
اثر شوری، پرایمینگ با متیل جاسمونات و اثر متقابل این دو فاکتور بر ارزش جوانه‌زنی بذر معنی‌دار بود ($P\leq0.01$) (جدول ۲). در مقایسه میانگین اثر متقابل، پیش تیمار بذر با ۵ میکرومولار متیل جاسمونات در سطح شوری صفر دسی زیمنس بر متر بیشترین و عدم پرایمینگ بذر در سطح شوری ۹ دسی زیمنس بر متر کمترین ارزش جوانه‌زنی را داشت (شکل ۲ ب).

در سال‌های اخیر تعدادی از گزارش‌ها نشان می‌دهد که پیش تیمار بذر و گیاهان با ترکیبات طبیعی و مصنوعی که الیستورها[9] نامیده می‌شوند، باعث القای منحصر به فرد حالت فیزیولوژیکی بنام پرایمینگ می‌شود که به گیاه اجازه فعال‌سازی کارآمدتر در پاسخ به تنش‌های مختلف را می‌دهد (تاکور و سوحال[10]، ۲۰۱۳؛ کورال[11] و همکاران، ۲۰۱۵). کاربرد خارجی جاسمونات‌ها اثرات متنوعی می‌تواند داشته باشد. اثر کاربرد خارجی جاسمونات‌ها بر فرآیند جوانه‌زنی بذر بسیار وابسته به ترکیبات شیمیایی داخلی بذر است (زالوسکی و همکاران، ۲۰۱۰). در این تحقیق نیز غلظت‌های بالای شوری باعث شد که مدت زمان جوانه‌زنی افزایش یابد و پرایمینگ بذر با متیل جاسمونات مخصوصاً در سطح ۵ میکرومولار نسبت به

[1] Sharma
[2] Kaur
[3] Nounjan
[4] Iqbal
[5] Yusuf
[6] Hemida
[7] Kaya
[8] Pandya
[9] Elicitors
[10] Thakur and Sohal
[11] Koral

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲ الف) مقایسه میانگین اثر متقابل متیل جاسمونات در سطوح شوری بر میانگین زمان جوانه‌زنی **ب)** ارزش جوانه‌زنی بذر استویا. اعداد با حروف مشابه در هر ستون براساس آزمون LSD ($P<0.05$) اختلاف معنی‌داری ندارد.

Figure 2. A) Interactional effect of jasmonate and salinity on mean germination time; **B)** on germination value. The numbers with the same letters in each column do not have a significant difference, based on the LSD test ($P<0.05$).

عدم پرایمینگ (کنترل) این مدت زمان را کاهش داد و بذرها در مدت زمان کمتری جوانه زدند.

طول گیاهچه و شاخص بنیه بذر

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر شوری و متیل جاسمونات بر طول گیاهچه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). با افزایش سطوح شوری کاهش طول گیاهچه حاصل شد به‌طوری که سطوح صفر و ۳ دسی زیمنس بر متر دارای بیشترین طول (به ترتیب ۰/۹۳۷ و ۰/۹۰۸ سانتی‌متر) و سطح ۹ دسی زیمنس بر متر کمترین طول گیاهچه را داشتند (جدول ۴). در بین سطوح مختلف پرایمینگ بذر با متیل جاسمونات نیز، بیشترین طول گیاهچه در سطح ۵ میکرومولار بود که با سطح ۲/۵ میکرو مولار در یک گروه قرار داشت (جدول ۴).

نتایج بدست آمده نشان داد که اثرات شوری، متیل جاسمونات و برهمکنش آنها بر شاخص بنیه بذر معنی-دار بود (جدول ۲). با افزایش سطوح تنش شوری، کاهش معنی‌دار شاخص بنیه بذر مشاهده گردید. به-طوری که در اثر متقابل شوری در پرایمینگ بذر، بیشترین شاخص بنیه بذر در سطح شوری صفر دسی زیمنس بر متر (شاهد) در پرایمینگ با ۵ میکرومولار متیل جاسمونات بدست آمد (شکل ۳ الف).

با توجه به اهمیت استقرار مطلوب گیاهچه‌ها در شرایط مزرعه، انتخاب گیاهچه‌هایی که علاوه بر دارا بودن درصد جوانه‌زنی مطلوب، از طول ریشه‌چه و ساقه‌چه بالاتری برخوردارند حائز اهمیت است که این پارامتر تحت عنوان شاخص بنیه بذر اندازه‌گیری می‌شود. در شوری‌های زیاد کاهش پتانسیل آب و یا افزایش غلظت املاح مضر در محیط گیاه باعث کاهش طول ریشه‌چه می‌گردد. در چنین شرایطی بخش عمده انرژی ریشه صرف جذب فعال عناصر غذایی مورد نیاز شده و در نتیجه انرژی اختصاص یافته به رشد ریشه کاهش می‌یابد. همچنین شوری تأثیرات منفی بر فرآیندهای تنفس و فتوسنتز دارد و در نتیجه در سطوح بالای شوری طول ساقه‌چه نیز کاهش می‌یابد (مونس[1]، ۲۰۰۲).

در این آزمایش شوری ناشی از کلرید سدیم باعث کاهش معنی‌دار شاخص بنیه بذر گردید، ولی پرایمینگ بذر با متیل جاسمونات توانست اثرات منفی ناشی از تنش شوری را تعدیل نماید به‌طوری که در اکثر سطوح پرایمینگ بذر با متیل جاسمونات، شاخص بنیه بذر

[1] Munns

www.SID.ir

Archive of SID

نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری در هر کدام از سطوح شوری نشان داد. به‌طور کلی به نظر می‌رسد در شرایط تنش به علت کاهش هورمون‌های رشد از قبیل اکسین، سیتوکنین و اسید جیبرلیک و افزایش مواد بازدارنده رشد نظیر اسید آبسیزیک که خود ناشی از کاهش پتانسیل آب است، کاهش رشد و جوانه‌زنی در گیاه در محیط تنش‌زا رخ می‌دهد (گنجعلی[1] و همکاران، ۲۰۱۰).

جاسمونات‌ها فرآیندهای فیزیولوژیکی شامل جوانه‌زنی، به عنوان یک تنظیم‌کننده رشد گیاهی عمل می‌کند. اثر تحریک کنندگی یا بازدارندگی متیل جاسمونات بر جوانه‌زنی به غلظت متیل جاسمونات به کار برده شده بستگی دارد، بطوری که در غلظت‌های بالا اثر بازدارندگی و در غلظت‌های پایین اثر تحریک کنندگی دارد (انتشاری و جعفری[2]، ۲۰۱۳). با افزایش متیل جاسمونات از میزان مطلوب، پراکسیداسیون غشاء و آسیب به غشای سلولی اتفاق می‌افتد و به همین خاطر در سطوح بالاتر اثرات کاهنده از خود نشان می‌دهد (کریلمن و مولت[3]، ۱۹۹۷). از طرف دیگر جاسمونات‌ها ساختار شبه هورمونی داشته و به شدت اثر هورمون وابسته به غلظت‌ها آنهاست. در این آزمایش نیز با افزایش میزان کاربرد متیل جاسمونات تا سطح ۵ میکرو مولار روند افزایشی در شاخص‌های جوانه‌زنی مشاهده گردید، ولی بعد از این میزان، در سطوح ۱۰ و ۱۵ میکرو مولار شاخص‌های جوانه‌زنی کاهش پیدا کرد. در تحقیقات بسیاری اثر تحریک کنندگی متیل جاسمونات در شرایط شوری گزارش شده است که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد (جاسیک و کلرک[4]، ۲۰۰۶؛ انتشاری و جعفری، ۲۰۱۳).

کلروفیل کل و میزان پرولین آزاد

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر شوری، متیل جاسمونات و برهمکنش این دو فاکتور در سطح احتمال یک درصد بر میزان کلروفیل کل گیاهچه معنی‌دار بودند (جدول ۳). با افزایش هدایت الکتریکی تنش شوری، کاهش معنی‌دار در میزان کلروفیل کل مشاهده شد. بیشترین میانگین این صفت در ترکیب تیماری ۵ میکرومولار متیل جاسمونات در سطح شوری صفر دسی زیمنس بر متر بوجود آمد که با تیمار ۲/۵ میکرومولار متیل جاسمونات در سطح شوری صفر دسی زیمنس بر متر در گروه مشترکی قرار داشت (شکل ۳ ب). کمترین میزان کلروفیل در شرایط عدم پرایمینگ با متیل جاسمونات و شرایط شوری ۹ دسی زیمنس بر متر بدست آمد.

اثر شوری، پرایمینگ و شوری در پرایمینگ با متیل جاسمونات در سطح احتمال یک درصد بر میزان پرولین معنی‌دار بود (جدول ۳). برعکس میزان کلروفیل کل، با افزایش هدایت الکتریکی تنش شوری، افزایش معنی‌دار در میزان پرولین آزاد مشاهده گردید. بیشترین میانگین این صفت در شرایط پرایمینگ با سطوح ۵ و ۱۰ میکرومولار متیل جاسمونات هر دو در سطح شوری ۹ دسی زیمنس بر متر (به ترتیب با میانگین ۳۸۱/۹۶ و ۳۷۹/۳۳ میکرومول بر گرم وزن‌تر) بود. کمترین میانگین پرولین آزاد هم در شرایط عدم شوری و عدم پرایمینگ بدست آمد (شکل ۴ ب).

جاسمونیک اسید به عنوان یک مولکول‌های سیگنال در پاسخ به تحریک کننده[5] خارجی مانند نیروهای مکانیکی، زخم شدن گیاه، حمله پاتوژن‌ها و تنش‌های اسمزی تولید می‌شوند (لوپز مولینا[6] و همکاران، ۲۰۰۲). در صورت پرایمینگ بذر با متیل جاسمونات، این ترکیب در داخل بذر وجود داشته و در شرایط تنش شوری بدون نیاز به تولید مکانیزم‌های دفاعی، وظایف خود را انجام خواهد داد و تحمل گیاه در مقابل با تنش افزایش خواهد یافت. افزایش در جاسمونیک اسید بیوسنتز ترکیباتی مانند پرولین و پوترسین در تنش‌های محیطی را کنترل خواهد کرد (انتشاری و جعفری، ۲۰۱۳). در این آزمایش با افزایش تنش شوری و میزان متیل جاسمونات، میزان پرولین آزاد در گیاهچه‌ها افزایش معنی‌داری نشان داد، به‌طوری که در پرایمینگ بذر با سطوح ۵ و ۱۰ میکرومولار در سطح شوری ۹ دسی زیمنس بر متر، بیشترین میزان پرولین آزاد مشاهده

[1] Ganjali
[2] Enteshari and Jafari
[3] Creelman and Mullet
[4] Jasik and Klerk
[5] Stimulator
[6] Lopez-Molina

www.SID.ir

Archive of SID

گردید. پرولین نه تنها به عنوان یک تنظیم کننده اسمزی بلکه به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی و بازدارنده مرگ سلولی شناخته می‌شود؛ بنابراین پرولین می‌تواند به عنوان یک آنتی اکسیدان غیر آنزیمی در گیاهان در نظر گرفته شود تا اثرات نامطلوب ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش دهد (چن و دیکمن[1]، ۲۰۰۵). متیل جاسمونات به گیاهان کمک می‌کند تا از طریق تنظیم اسمزی و افزایش پرولین و سنتز پروتئین‌های تنشی با تنش مقابله کنند (فدینا و تسونو[2]، ۱۹۹۷؛ خاوری‌نژاد[3] و همکاران، ۲۰۱۴).

در اثر تنش شوری میزان کلروفیل کل کاهش یافت ولی استفاده از پرایمینگ بذر با سطوح ۲/۵ و ۵ میکرومولار متیل جاسمونات باعث تعدیل این اثر تنش گردید. شوری از طریق کاهش جذب آب (تنش خشکی) و بدنبال آن کاهش تقسیم و بزرگ شدن سلول‌های گیاهی رشد و متابولیسم سلول را تحت تأثیر قرار می‌دهد. میزان کلروفیل بذر گیاهان زنده یکی از فاکتورهای مهم حفظ ظرفیت فتوسنتزی است و حفظ غلظت کلروفیل تحت شرایط تنش بسیار حائز اهمیت است. به نظر می‌رسد کاهش میزان کلروفیل تحت تنش شدید، به علت افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز و پراکسیداز (احمدی[4] و همکاران، ۲۰۰۴)، تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و در نتیجه پراکسیداسیون و تجزیه کلروفیل (اسچوتز و فانگمی[5]، ۲۰۰۱) و همچنین هیدرولیز پروتئین‌های تیلاکوئیدی باشد (عباسی[6] و همکاران، ۲۰۱۵).

فعالیت آنزیم کاتالاز[7]، پراکسیداز[8] و سوپراکسید دیسموتاز[9]

نتایج تجزیه داده‌ها حاکی از اثر معنی‌دار شوری، متیل جاسمونات و برهمکنش آنها در سطح احتمال یک درصد بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بود (جدول ۳). در بالاترین سطح شوری و پرایمینگ با متیل جاسمونات (سطح شوری ۹ دسی زیمنس بر متر و سطح ۱۵ میکرومولار متیل جاسمونات) بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز مشاهده شد (شکل ۴ الف). به طور کلی با افزایش سطح پرایمینگ با متیل جاسمونات و همچنین افزایش هدایت الکتریکی تنش شوری، افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاتالاز دیده شد. کمترین فعالیت در شرایط عدم تنش شوری و عدم پرایمینگ بدست آمد.

نتایج تجزیه واریانس برای آنزیم پراکسیداز نشان داد شوری و متیل جاسمونات در سطح احتمال یک درصد اثر معنی‌داری بر میزان فعالیت این آنزیم دارد (جدول ۳). بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در سطح شوری ۹ دسی زیمنس بر متر مشاهده گردید که نشانگر روند افزایشی با افزایش تنش شوری در میزان فعالیت این آنزیم بود (جدول ۴). در بین سطوح پرایمینگ بذر با متیل جاسمونات نیز این روند دیده شد، به‌طوری که کم‌ترین فعالیت در سطح صفر میکرو مولار (عدم پرایمینگ) و بیشترین فعالیت در سطح ۱۵ میکرومولار به‌دست آمد.

براساس نتایج بدست آمده اثر شوری و متیل جاسمونات بر میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ($P\leq0.01$) (جدول ۳). در بین سطوح مختلف تنش شوری، با افزایش میزان هدایت الکتریکی، افزایش معنی‌دار در میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز مشاهده گردید، به‌طوری که بیشترین فعالیت در بالاترین سطح تنش شوری (۹ دسی زیمنس بر متر) و کمترین فعالیت در پایین‌ترین سطح تنش شوری (صفر دسی زیمنس بر متر) بود (جدول ۴). براساس جدول مقایسه میانگین (جدول ۴) در پرایمینگ بذر با ۲/۵ و ۵ میکرومولار متیل جاسمونات، بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسیددسموتاز دیده شد و پرایمینگ با ۱۵ میکرومولار متیل جاسمونات کمترین فعالیت این آنزیم را نشان داد.

[1] Chen and Dickman
[2] Fedina and Tsonev
[3] Khavarinezhad
[4] Ahmadi
[5] Schutz and Fangmei
[6] Abasi
[7] CAT
[8] POX
[9] SOD

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر جاسمونیک اسید بر شاخص‌های بیوشیمیایی گیاهچه استویا تحت تیمار شوری

Table 3. Analysis of variance of the effect of jasmonic acid on biochemical traits of Stevia seedling under salinity treatment

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares				
		کلروفیل کل Total chlorophyll	پرولین Proline	کاتالاز Catalase	پراکسیداز Peroxidase	سوپراکسید دیسموتاز SOD
شوری Salinity(S)	3	0.0043**	68083.7**	58916.6**	7899.4**	3746.9**
متیل جاسمونات Methyl jasmonat(MJ)	4	0.0012 **	8614.1**	12367.5**	4619.9**	1136.1**
S×MJ	12	0.0001 **	351.8**	246.28**	43.34 ^{ns}	35.54 ^{ns}
خطای آزمایش Error	40	0.00003	91.82	53.11	36.50	33.09
ضریب تغییرات (٪) CV (%)	-	6.26	6.20	6.59	5.86	5.55

ns = غیرمعنی‌دار، *= معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و **= معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

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

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر اصلی شوری و جاسمونیک اسید بر طول گیاهچه و فعالیت آنزیم پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز گیاهچه استویا

Table 4. Mean comparison of the main effect of salinity and methyl jasmonate on seedling length, peroxidase and SOD

سطوح مختلف شوری (دسی زیمنس بر متر) Level of salinity(ds.m^{-1})	طول گیاهچه (سانتی‌متر) Seedling length (cm)	فعالیت آنزیم پراکسیداز (میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم وزن‌تر) Peroxidase (µMol/ mgr FW)	فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم وزن‌تر) SOD (µMol/ mgr FW)
صفر (کنترل) Control	0.937 ^{a}	180.85 ^{d}	85.49 ^{d}
3	0.908 ^{a}	207.04 ^{c}	95.63 ^{c}
6	0.562 ^{b}	221.57 ^{b}	112.43 ^{b}
9	0.345 ^{c}	234.31 ^{a}	120.34 ^{a}
سطوح متیل جاسمونات (میکرومولار) Level of methyl jasmonate (µM)			
صفر (کنترل) Control	0.646 ^{c}	186.33 e	98.92 ^{b}
2.5	0.757 ^{ab}	198.79 ^{d}	114.46 ^{a}
5	0.835 ^{a}	209.77 ^{c}	112.47 ^{a}
10	0.681 ^{bc}	224.15 ^{b}	100.08 ^{b}
15	0.520 ^{d}	235.66 ^{a}	91.43 ^{c}

اعداد با حروف مشابه در هر ستون براساس آزمون LSD (P<0.05) اختلاف معنی‌داری ندارد.SOD : سوپر اکسید دیسموتاز

The numbers with the same letters in each column do not have a significant difference, based on the LSD test (P<0.05).

براساس نتایج بدست آمده اثر شوری و متیل جاسمونات بر میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (P≤0.01) (جدول ۳). در بین سطوح مختلف تنش شوری، با افزایش میزان هدایت الکتریکی، افزایش معنی‌دار در میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز مشاهده گردید، به‌طوری که بیشترین فعالیت در بالاترین سطح تنش شوری (۹ دسی زیمنس بر متر) و کمترین فعالیت در پایین‌ترین سطح تنش شوری (صفر دسی زیمنس بر متر) بود (جدول ۴). براساس جدول مقایسه میانگین (جدول ۴) در پرایمینگ بذر با ۲/۵ و ۵ میکرومولار متیل جاسمونات، بیشترین فعالیت آنزیم

www.SID.ir

Archive of SID

سوپراکسیددسموتاز دیده شد و پرایمینگ با ۱۵ میکرومولار متیل جاسمونات کمترین فعالیت این آنزیم را نشان داد. متیل جاسمونات باعث القای تنش اکسیداتیو در گیاهان تحت تیمار می‌شود (فتحی امیرخیز و همکاران، ۲۰۱۲). به دلیل اینکه متیل جاسمونات تولید ROS را در گیاهان القا می‌کند، بنابراین یک دستگاه آنتی اکسیدانی مؤثر برای حفظ عملکردهای متابولیسم در شرایط القاء ضروریست. آنزیم‌های آنتی اکسیداتیو اولین مکانیزم پاسخ گیاهان در برابر تنش‌های محیطی می‌باشند. نتایج نشان از افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در نتیجه افزایش تنش شوری بود، بطوری که روند افزایشی با افزایش میزان هدایت الکتریکی سطوح مختلف شوری، در فعالیت‌های هر یک از آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز مشاهده گردید. در آزمایش‌های مختلفی نیز نتایج مشابه گزارش شده است (شی[1] و همکاران، ۲۰۰۷؛ شیوکاند[2] و و همکاران، ۲۰۱۰). ترکیبات آنتی اکسیدان منجر به افزایش قابل ملاحظه در جوانه‌زنی و رشد گیاه از طریق کاهش گونه‌های فعال اکسیژن براساس نتایج گزارش شده می‌گردد (حمیدا[3] و همکاران، ۲۰۱۴). افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز با افزایش تنش شوری احتمالاً به دلیل سنتز از نو (De-novo) پروتئین‌های آنزیمی و القای بیان ژن رمزگذاری سوپراکسیددیسموتاز می‌باشد (ورما و دوبی[4]، ۲۰۰۳). فعالیت سوپراکسیددیسموتاز موجب تبدیل رادیکال سوپراکسید به H_2O_2 می‌گردد.

سپس H_2O_2 توسط آنزیم کاتالاز در پراکسی زوم و آسکوربات پراکسیداز در سیتوپلاسم، میتوکندری و کلروپلاست سم‌زدایی می‌گردد (فویر[5] و همکاران، ۱۹۹۷؛ آساداً[6]، ۱۹۹۹). در گیاهچه‌های بادام زمینی، آرابیدوپسیس و کلزا، تیمار متیل جاسمونات فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز را افزایش داد (جانگ[7]، ۲۰۰۴؛ کوماری[8] و همکاران، ۲۰۰۶).

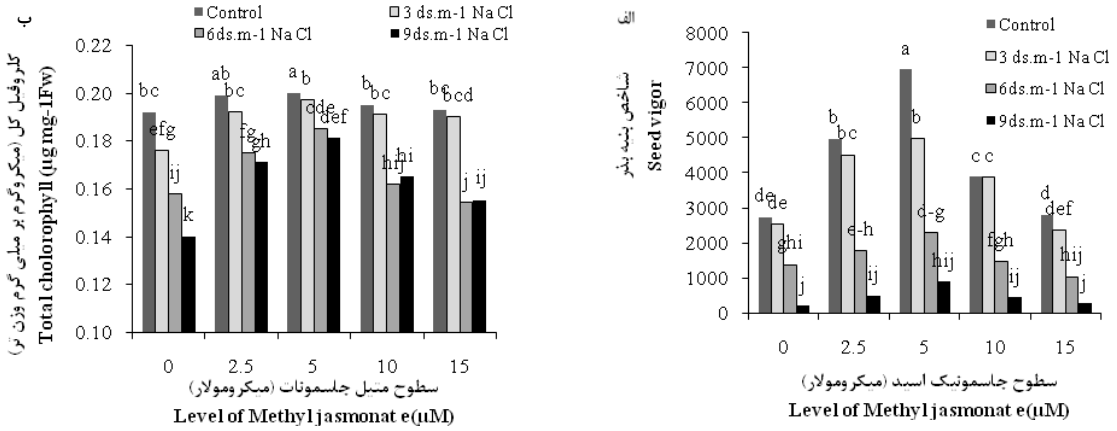
نتیجه‌گیری

به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که تنش شوری اثر منفی بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه استویا دارد. در این آزمایش اثرات مثبت کاربرد متیل جاسمونات به صورت پرایمینگ بذر بر شاخص‌های جوانه‌زنی و بیوشیمیایی گیاهچه نیز اثبات گردید. بطوری که کاربرد سطح ۵ میکرومولار متیل جاسمونات توانست بیشترین شاخص‌های مطلوب جوانه‌زنی و بیوشیمیایی گیاهچه را نشان دهد. اکثر پارامترهای جوانه‌زنی و رشد گیاهچه و همچنین شاخص‌های فیزیولوژیکی همچون میزان کلروفیل در سطح تنش شوری صفر دسی زیمنس بر متر و پرایمینگ بذر با متیل جاسمونات ۵ میکرومولار بیشترین مقدار بودند و متیل جاسمونات توانست اثرات منفی ناشی از تنش شوری در گیاه استویا را تعدیل نماید.

[1] Shi
[2] Sheokand
[3] Hemida
[4] Verma and Dubey
[5] Foyer
[6] Asada
[7] Jung
[8] Kumari

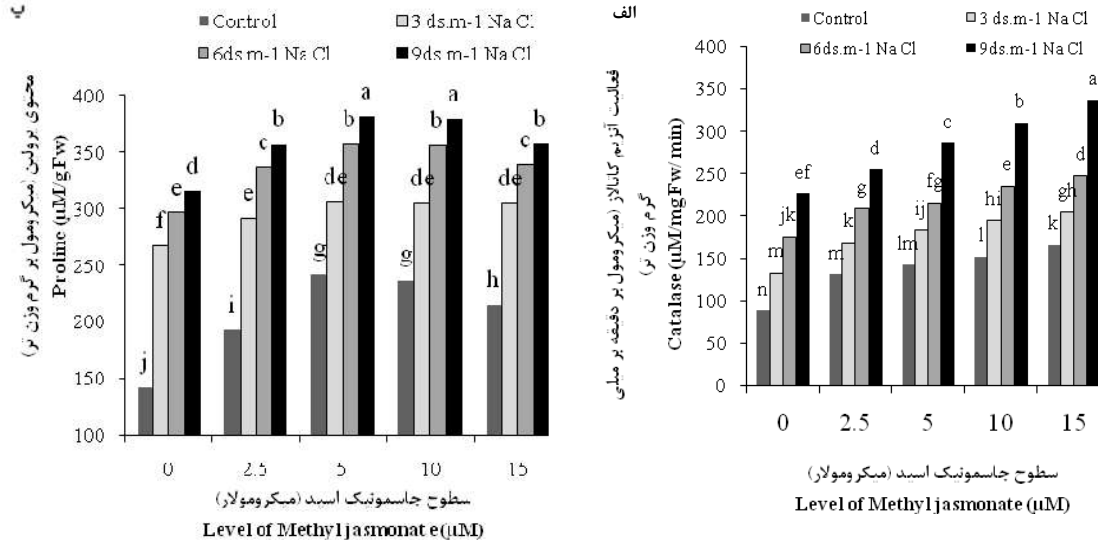
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳ الف) مقایسه میانگین اثر متقابل متیل جاسمونات در سطوح شوری بر شاخص بنیه **ب)** میزان کلروفیل بذر استویا. اعداد با حروف مشابه در هر ستون براساس آزمون LSD (P<0.05) اختلاف معنی‌داری ندارد.

Figure 3. A) Interactional effect of jasmonate and salinity on seed vigor; **B)** on chlorophyll total. The numbers with the same letters in each column do not have a significant difference, based on the LSD test (P<0.05).



شکل ۴ الف) مقایسه میانگین اثر متقابل متیل جاسمونات در سطوح شوری بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه **ب)** پرولین آزاد استویا. اعداد با حروف مشابه در هر ستون براساس آزمون LSD (P<0.05) اختلاف معنی‌داری ندارد.

Figure 4. A) Interactional effect of jasmonate and salinity on catalase content; **B)** on proline. The numbers with the same letters in each column do not have a significant difference, based on the LSD test (P<0.05).

منابع

Abasi, K.A., Shamshiri, M.H., and Esmaeilizadeh, M. 2015. Effects of jasmonic acid and Arbuscular mycorrhiza on growth and ecophysiological parameters of pistachio seedlings under drought stress, Iranian Journal of Horticultural Science, 46(3): 441-453. [In Persian with English Summary].

Agrawal, R. 2003. Seed Technology. Publication Co. PVT. LTD. New Delhi. India.

www.SID.ir

Ahmadi, A., Postini, K., and Ebrahimzadeh, H. 2004. Stomatal and non-stomatal factors controlling photosynthesis and its relationship with drought resistance in wheat cultivars. Agricultural Science, 35: 106-93. [In Persian with English Summary].

Asada, K. 1999. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 50: 601-639. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.50.1.601

Bakhshandeh, A.M., Gharine, M.H., Abdali, A.R., Moradi telavat, M.R., and Raeiszadeh, M. 2016. Effect of different levels of nitrogen and natural zeolite on the quantitative and qualitative properties of stevia in terms of Ahvaz climate. Iranian Journal of Field Crops Research, 14(2): 244-254. [In Persian with English Summary].

Barzegar, A. 2000. Saline and sodium soils. Knowledge and Productivity. Shahid Chamran University Publishers, 273. [In Persian with English Summary].

Bates, L.S., Waldren, R.P., and Teare, F.D. 1973. Rapid determination of free proline from water stress studies. Plant and Soil, 39: 205-207. https://doi.org/10.1007/BF00018060

Beauchamp, C., and Fridovich, I. 1971. Superoxide Dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Analytical Biochemistry, 44(1): 276-287. https://doi.org/10.1016/0003-2697(71)90370-8

Cakmak, I., and Horst, W. 1991. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glysine max*). Plant Physiology, 83(3): 463-468. https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1991.830320.x. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1991.tb00121.x

Chen, C., and Dickman, M.B. 2005. Proline suppresses apoptosis in the fungal pathogen *Colletotrichum trifolii*. Proceeding of the National Academy of Science of the United States of America, 102: 3459-3464. https://doi.org/10.1073/pnas.0407960102

Creelman, R., and Mullet, J.E. 1997. Biosynthesis and action of jasmonate in plant. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 48: 355-381. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.48.1.355

Ebtsam, A., El-Housini, M.A., Ahmed, M.S., Hassanein, M., and Tawfik, M. 2014. Effect of salicylic acid (SA) on growth and quality of stevia (*Stevia rebaudiana* Bert.) under salt stress. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences, 14(4): 275-281.

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

Enteshari, Sh., and Jafari,T. 2013. The effects of methyl jasmonate and salinity on germination and seedling growth in *Ocimum basilicum* L. stress. Iranian Journal of Plant Physiology, 3(3): 749-756. [In Persian with English Summary].

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

Fedina, I.S., and Tsonev, T.D. 1997. Effect of pretreatment with methyl jasmonate on the response of *Pisum sativum* to salt stress. Journal of Plant Physiology, 151: 735-740. https://doi.org/10.1016/S0176-1617(97)80071-5

Foyer, C.H., Lopez-Delgado, H., Dat, J.F., and Scott, I. M. 1997. Hydrogen peroxide and glutathione-associated mechanisms of acclamatory stress tolerance and signaling. Physiologia Plantarum, 100: 241-254. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1997.tb04780.x. https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1997.1000205.x

www.SID.ir

Archive of SID

Ganjali, A., Kafi, M., and Sabet Teimuri, M. 2010. Physiologic changes in root and shoot of pea in response to drought stress. Environmental Stresses on Crop Sciences, 1: 35-45. [In Persian with English Summary].

Ghasemi Golozani, K., and Dalil, B. 2011. Germination and Seed Vigor Tests. Publications Jahad Daneshgahi Mashhad. [In Persian].

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

Hajihashemi, S., and Ehsanpour, A.A. 2014. Antioxidant response of *Stevia rebaudiana* B. to polyethylene glycol and paclobutrazol treatments under In vitro culture. Applied Biochemistry and Biotechnology, 172: 4038-4052. [In Persian with English Summary]. https://doi.org/10.1007/s12010-014-0791-8

Hemida, K.A., Ali, R.M., Ibrahim, W.M., and Sayed, M.A. 2014. Ameliorative role of some antioxidant compounds on physiological parameters and antioxidants responses of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedling under salinity stress. Life Science Journal, 11(7): 324-342. [In Persian with English Summary].

Iqbal, N., Masood, A., and Khan N.A. 2012. Phytohormones in salinity tolerance: ethylene and gibberellins cross talk. In: Khan NA, Nazar R, Iqbal N, Anjum NA (eds) Phytohormones and abiotic stress tolerance in plants. Springer, Berlin, 77-98. https://doi.org/10.1007/978-3-642-25829-9_3

Jasik, J., and de Klerk, G.J. 2006. Effect of methyl jasmonate on morphology and dormancy development in lily bulblets regenerated in vitro. Journal of Plant Growth Regulation, 25: 45-51. https://doi.org/10.1007/s00344-005-0048-4

Jung, S. 2004. Effect of chlorophyll reduction in Arabidopsis thaliana by methyl jasmonate or norflurazon on antioxidant systems. Journal of Plant Physiology and Biochemistry, 42: 231-255. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2004.01.001

Kaur, H., Sharma, P., and Sirhindi, G. 2013. Sugar accumulation and its regulation by jasmonic acid in *Brassica napus* L. under salt stress. Journal of Stress Physiology, 9(4): 53-64.

Kaya, M.D., Okcu, G., Atak, M., Cikili, Y. and Kolsarici, O. 2006. Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). European Journal of Agronomy, 24: 291-295. https://doi.org/10.1016/j.eja.2005.08.001

Khavarinezhad, R., Najafi, F., and Rahimi, A. 2014. Effect of interaction Methyl Jasmonat and Selenit sodium on physiological parameters in *Lycopersicon esculentum* Mill, Journal of Plant Process and Function, 3(10): 47-57. [In Persian with English Summary].

Koornneef, M., Bentsink, L., and Hilhorst, H. 2002. Seed dormancy and germination. Current Opinion in Plant Biology, 5: 33-36. https://doi.org/10.1016/S1369-5266(01)00219-9

Koral, P., Igielski, R., Pollmann, S., and Kepczynska, E. 2015. Priming of seeds with methyl jasmonate induced resistance to hemi-biotroph *Fusarium oxysporum* and *F. lycopersici* in tomato via 12-oxo-phytodienoic acid, salicylic acid, and flavonol accumulation. Journal of Plant Physiology, 179: 122-132. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.01.018

Kumar Pal, P., Prasad, R., and Pathania, V. 2013. Effect of decapitation and nutrient applications on shoot branching, yield and accumulation of secondary metabolites in leaves of *Stevia rebaudiana* Bertoni. Journal of Plant Physiology, 170: 1526-1535. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2013.06.017

Kumari, G.J., Reddy, A.M., Naik, S.T., Kumar, S.G., Prasanthi, J., Sriranganayakulu, G., Reddy, P. C., and Sudhakar, C. 2006. Jasmonic acid induced changes in protein pattern, antioxidative enzyme activities and peroxidase isozymes in peanut seedlings. Biologia Plantarum, 50(2): 219-226. https://doi.org/10.1007/s10535-006-0010-8

www.SID.ir

Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids pigments of photosynthetic membranes. Methods in Enzymology, 148: 350-382.

Liopa-Tsakalidi, A., Kaspiris, G., Salahas, G., and 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(3): 416-423. https://doi.org/10.5897/JMPR11.1106

Lopez-Molina, L., Mongrand, S., McLachlin D.T., Chait B.T., Chua, N.H. 2002. ABI5 acts downstream of ABI3 to execute an ABA dependent growth arrest during germination. The Plant Journal, 32(3): 317-328. https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2002.01430.x

Mahmood, M., Bidabadi, S.S., Ghobadi, C., and D.J. Gray. 2012. Effect of methyl jasmonate treatments on alleviation of polyethylene glycol-mediated water stress in banana (*Musa acuminata* cv. 'Berangan', AAA) shoot tip cultures. Plant Growth Regulation, 68: 161-169. https://doi.org/10.1007/s10725-012-9702-6

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

Mansour, N., Ziad, M., and Harb, J. 2007. Alleviation of salinity stress imposed on broad bean (*Vicia faba*) plants irrigated with reclaimed wastewater mixed with brackish water through exogenous application of Jasmonic acid. In: I. Baz, R. Otterpohl, C. Wendland (Eds.). Efficient Management of Waste Water. Chap, 8: 91-102.

Munns, R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. Plant, Cell and Environment, 25: 239-250. https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00808.x

Nafie, E., Tahany, H., and Mokadem, A.S. 2011. Jasmonic acid elicits oxidative defense and detoxification systems in *Cucumis melo* L. cells. Brazilian Journal of Plant Physiology, 23(2): 161-174. https://doi.org/10.1590/S1677-04202011000200008

Nounjan, N., Nghia, P.T., and Theerakulpisut, P. 2012. Exogenous proline and trehalose promote recovery of rice seedlings from salt-stress and differentially modulate antioxidant enzymes and expression of related genes. Journal Plant Physiology, 169: 596-604. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2012.01.004

Noori Akandi, Z., Pirdashti, P., Yaghoubian, Y., and Ghasemi Omran, V. 2016. Investigation of antioxidant enzymes activity and photosynthetic pigments content changes of stevia medicinal plant inoculated with *Piriformospora indica* fungi under salt stress. Agricultural Crop Management, 18(3): 639-653. [In Persian with English Summary].

Pagter, M., Bragato, C., Malagoli M., and Brix, H. 2009. Osmotic and ionic effects of NaCl and Na2SO4 salinity on *Phragmites australis*. Aquatic Botany, 90(1): 43-51. https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2008.05.005

Pandolfini, T., Gabbrielli, R., and Comparini, C. 1992. Nickel toxicity and peroxidase activity in seedlings of *Triticum aestivum* L. Plant Cell and Environment, 15: 719-725. https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1992.tb01014.x

Pandya, D.H., Mer, R.K., Prajith, P.K., and Pandy, A.N. 2004. Effect of salt stress and manganese supply on growth of barely seeding. Journal of Plant Nutrition, 27(8): 1361-1379. https://doi.org/10.1081/PLN-200025835

Parmoon, Gh., Ebadi, A., Ghaviazm, A., and Miri, M. 2013. Effect of seed priming on germination and seedling growth of Chamomile under salinity. Electronic Journal of Crop Production, 6(3): 145-164. [In Persian with English Summary].

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

www.SID.ir

Archive of SID

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

Salimi, F., Shekari, F., and Hamzei, J., 2014. The effects of salinity and foliar application of methyl jasmonate on the rate of photosynthesis, stomatal conductance, water use efficiency and yield of German chamomile. Iranian Journal of Field Crops Research, 12(2): 328-334. [In Persian with English Summary].

Schutz, M., and Fangmeir, E. 2001. Growth and yield responses of spring wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Minaret) to elevated CO2 and water limitation. Environmental Pollution, 114: 187-194. https://doi.org/10.1016/S0269-7491(00)00215-3

Senaratna, T., Touchell, D., Bunn, E., and Dixon, K. 2000. Acetyl salicylic acid (aspirin and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plant. Plant Growth Regulation, 30: 157-161. https://doi.org/10.1023/A:1006386800974

Sharma P., Jha, A.B., Dubey R.S., and Pessarakli M., 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. Journal of Botany, 10: 1-26. https://doi.org/10.1155/2012/217037

Sheokand S., Bhankar V., and Sawhney, V. 2010. Ameliorative effect of exogenous nitric oxide on oxidative metabolism in NaCl treated chickpea plants. Brazilian Journal of Plant Physiology, 22: 81-90. https://doi.org/10.1590/S1677-04202010000200002

Shi, Q., Ding, F., Wang, X., and Wei, M. 2007. Exogenous nitric oxide protects cucumber roots against oxidative stress induced by salt stress. Plant Physiology and Biochemistry, 45: 542-550. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2007.05.005

Soltani, A., Gholipoor, M., and Zeinali, E. 2006. Seed reserve utilization and seedling growth of wheat as affected by drought and salinity. Environmental and Experiment Botany, 55: 195-200. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2004.10.012

Thakur, M., Sohal, B.S. 2013. Role of elicitors in inducing resistance in plants against pathogen infection: a review. ISRN Biochemistry, 20: 1155-65. https://doi.org/10.1155/2013/762412

Tobe, K., Li, M.X., and Omasa, K. 2004. Effects of five different salts on seed germination and seedling growth of *Haloxylon ammodendron* (Chenopodiaceae). Seed Science Research, 14(4): 345-353. https://doi.org/10.1079/SSR2004188

Verma, S., and Dubey, R.S. 2003. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. Plant Science, 164: 645-655. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(03)00022-0

Yosefi Tanha, T. 2014. The effect of priming to improve germination of winter annual green manure seeds under cold stress. Master thesis of seed science and technology. Shahrekord University. [In Persian].

Yusuf, M., Fariduddin, Q., Varshney, P., and Ahmad, A. 2012. Salicylic acid minimizes nickel and/or salinity-induced toxicity in Indian mustard (*Brassica juncea*) through an improved antioxidant system. Environmental Science and Pollution Research, 19(1): 8-18. https://doi.org/10.1007/s11356-011-0531-3

Zalewski, K., Nitkiewicz, B., Lahuta, L.B., Glowacka, K., Socha, A., and Amarowicz, R. 2010. Effect of jasmonic acid-methyl ester on the composition of carbohydrates and germination of yellow lupine (*Lupinus luteus* L.) seeds. Journal of Plant Physiology, 167(12): 967-973. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.01.020

www.SID.ir

Archive of SID

Iranian Journal of Seed Research, Vol: 5(1), 2018

Effect of Methyl Jasmonate Pre-Treatment on Germination Indices and Biochemical Traits of Stevia Seedlings (*Stevia rebuadiana*) under Salt Stress

Elnaz Mohamadian [1, *] Hormoz KianMehr [2], Hojat Ataei Somagh [3], Neda Azadnafas Mahjor [4], Fatemeh Safari [4], Arezu Safarzadeh [4]

Extended abstract

Introduction: Stevia is a perennial short day plant, belonging to the Asteraceae family. It is also called sugar leaf. Poor germination of this plant serves as a barrier for its planation on a large scale, which contributes to its scarcity and expensivenss as a medicinal herb. In many plants, seed germination is sensitive to salinity, which determines the survival of the plants in saline soils. High levels of soil salinity can significantly reduce germination and seedling growth due to the effects of high osmotic potential and ion toxicity. Jasmonates represent new plant growth regulators that play an important role in increasing the resistance of plants to environmental stresses, including salinity stress. Therefore, this experiment was conducted to study the effect of pre-treatment of seed with methyl jasmonate on germination indices and biochemical traits of stevia, as a medicinal herb, under salinity stress.

Materials and Methods: They study was conducted, adopting a completely randomized design with three replications in the year 2016 in the Professor Hassabi's Laboratory of Plant Biology, Islamic Azad University, Islamshahr Branch. The factors were pre-treatment of methyl jasmonate in 5 levels (0, 2.5, 5, 10 and 15 µM) and salinity stress at 4 levels (0, 3, 6 and 9 dS m^{-1}). At the end of the experiment, germination traits percentage and germination rate, mean germination time, germination value, seedling length, seedling index, total chlorophyll, proline, activity of the enzyme catalase, peroxidase and superoxide dismutase were measured.

Results: The results of the study showed that effects of salinity stress, methyl jasmonate and interaction between salinity and methyl jasmonate were significant on the germination percentage and germination rate, mean germination time, germination value, seedling index, total chlorophyll, proline and catalase enzyme activity. Seed priming with 5 µM methyl jasmonate at salinity level with electrical conductivity of zero ds/m, had the highest germination percentage and rate, germination value, seed vigor index, and total chlorophyll content. Increases in salt stress and methyl jasmonate increased the activity of catalase enzyme. Salinity reduced germination index and seedling stoichiation and increased activity of peroxidase and superoxide dismutase enzymes. However, seed priming with methyl jasmonate improved seed germination through germination percentage, germination rate and seed vigor index and moderated the effects of salt stress.

Conclusions: Given the results of this study, it could be said that methyl jasmonate, as a potent inhibitor, can reduce the negative effects of salinity and by increasing germination indices such as germination percentage and germination rate, it can be effective in improving the growth of Stevia. Of course, further research can produce more definitive results.

Keywords: Catalase, Peroxidase, Seed vigor index, Superoxide dismutase, Total chlorophyll

***Highlights*:**

1- Salinity had a negative effect whereas methyl jasmonate had a positive effect on germination indices and activity of antioxidant enzymes of Stevia seeds.
2- Application of 5 µM of methyl jasmonate, as a pre-treatment, can be effective in improving the growth of the stevia plant and reducing the negative effects of salinity.

[1] Ph.D. Student of Plant Physiology, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran
[2] Professor of Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
[3] M.Sc. Student of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran
[4] M.Sc. of Plant Physiology, Department of Plant Science, Faculty of Science, Islamic Azad University, Islamshahr Branch, Tehran, Iran

* Corresponding author, E-mail address: Elnazmohamadian85@gmail.com

DOI: 10.29252/yujs.5.1.101

(Received: 21.03.2018; Accepted: 21.06.2018)

www.SID.ir