علوم و تحقیقات بذر ایران
سال چهارم/ شماره سوم/ ۱۳۹۶ (۵۱ - ۳۹)

DOI: 10.22124/jms.2017.2506

تعیین غلظت و مدت زمان مطلوب پرایمینگ بذر استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni) با عنصر سلنیوم

مهدی عقیقی شاهوردی*[۱]، حشمت امیدی[۲]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۲/۲۷

چکیده

سلنیوم یک عنصر غذایی ضروری است، ولی نقش آن در گیاهان نیاز به تحقیقات بیشتری دارد. به همین منظور آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی در سه تکرار در سال ۱۳۹۴ در دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه شاهد تهران اجرا شد. عوامل آزمایش غلظت‌های مختلف سلنیوم (صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد) و زمان‌های مختلف پرایمینگ (صفر، ۸، ۱۶، ۲۴ و ۳۲ ساعت) بودند. نتایج حاکی از آن است که اثر غلظت و مدت زمان پرایمینگ بر صفات درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، متوسط جوانه‌زنی روزانه، یکنواختی جوانه‌زنی، ارزش جوانه‌زنی، طول گیاهچه و شاخص بنیه بذر معنی‌دار بود. همچنین اثر متقابل غلظت در مدت زمان پرایمینگ بر صفات سرعت جوانه‌زنی، متوسط زمان جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی روزانه، یکنواختی جوانه‌زنی و طول گیاهچه معنی‌دار شد. با افزایش غلظت سلنیوم از صفر به ۲ درصد، افزایش معنی‌داری در میانگین صفات درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، متوسط جوانه‌زنی روزانه، ارزش جوانه‌زنی و بنیه بذر مشاهده شد به طوری که بالاترین میانگین صفات، در غلظت ۲ درصد و کمترین میانگین در غلظت صفر درصد بود. بالاترین سرعت جوانه‌زنی در پرایمینگ بذر به مدت ۸ و ۲۴ ساعت در غلظت ۲ درصد با میانگین ۴/۵۰ و ۴/۳۳ بذر در روز بدست آمد. با افزایش زمان پرایمینگ بذر صفات یکنواختی جوانه‌زنی و بنیه بذر افزایش یافت و بیشترین میانگین این دو صفت در تیمارهای ۲۴ و ۳۲ ساعت پرایمینگ بود. به طور کلی پرایمینگ بذر با غلظت ۲ درصد و به مدت ۲۴ ساعت باعث افزایش معنی‌دار شاخص‌های جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر استویا گردید.

واژهای کلیدی: استویا، بنیه بذر، جوانه‌زنی، سلنیوم، نوتری پرایمینگ

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۲- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
* نویسنده مسئول: m.aghighi@shahed.ac.ir

مقدمه

استویا با نام علمی *Stevia rebaudiana* Bertoni یکی از مهم‌ترین گیاهانی است که پژوهش‌های زیادی به دلیل میزان کم انرژی‌زایی عصاره برگی آن (۲/۷ کیلوکالری بر گرم وزن خشک)، به عنوان یک شیرین کننده کم‌کالری در صنایع غذایی انجام می‌گیرد (Savita *et al.*, 2004). این گیاه دارویی چند ساله از تیره مرکبان[1]، بومی پاراگوئه و برزیل می‌باشد و همچنین منبع خوبی از کربوهیدرات، پروتئین، فیبر خام و مواد معدنی است (Abou-Arab *et al.*, 2010; Hajihashemi and Ehsanpour, 2014). در برگ استویا انواع مختلف گلیکوزیدهای استویول تولید می شود که بسیار شیرین‌تر (حدود ۴۵۰-۲۵۰ برابر) از قند معمولی (ساکارز) هستند. جوانه‌زنی ضعیف در بذر این گیاه به دلایل نامعلوم 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). به دلیل خود ناسازگاری این گیاه، گرده‌افشانی گل‌ها توسط باد و حشرات (Raeeszadeh and Gharineh, 2014) انجام می‌گیرد، از اینرو درصد گل‌های بارور و زنده در این گیاه کم بوده و بذور حاصل از آن درصد جوانه‌زنی پایینی دارند (Liopa-Tsakalidi *et al.*, 2012). البته مطالعات ارائه شده نشان می‌دهد هیچ توافقی برای دلایل قدرت پایین جوانه‌زنی بذر استویا وجود ندارد.

نوتری‌پرایمینگ (Nutripriming) روشی نسبتاً جدید، از انواع پرایمینگ بذر می‌باشد، که اخیراً بر روی آن تمرکز شده است و در آن، بذر با استفاده از عناصر غذایی میکرو و ماکرو پیش‌تیمار می‌شود (Mirshekari, 2012 ; Rehman *et al.*, 2012). مواد غذایی به صورت کود به روش های مختلفی از جمله کاربرد خاکی، با آب آبیاری و یا محلول‌پاشی به گیاه داده می‌شود (Robert, 2008)، استفاده از مواد غذایی به صورت تیمار بذری از طریق پوشش‌دهی و پرایمینگ بذر از راه‌های دیگری است که می‌تواند مفید واقع گردد (Farooq *et al.*, 2012). پرایمینگ بذر با عناصر ریزمغذی (غنی‌سازی[2]) یکی از بهترین روش های غلبه بر کمبود عناصر ریزمغذی گزارش شده است (Harris *et al.*, 1999). پرایمینگ بذر با عناصر ریزمغذی باعث افزایش سرعت جذب آب و سرعت بالای سوخت و ساز و جوانه‌زنی در بذر می‌شود که نتیجه این امر در سرعت جوانه‌زنی بالا، بهبود استقرار پایدار گیاهچه، افزایش تحمل به تنش و آفت و در نهایت عملکرد بالاتر خود را نشان خواهد داد (Memon *et al.*, 2013). گزارش های مختلفی مبنی بر حذف خواب بذر با پرایمینگ با عناصر غذایی ارائه شده است (Omidi *et al.*, 2005). البته قابل ذکر است که با بررسی منابع مختلف گزارشی مبنی بر وجود خواب در بذر استویا وجود نداشت و مشکل بذر این گیاه، جوانه‌زنی ضعیف به دلایل عدم تلقیح مناسب یا توان کم جنین در حمایت از رشد اولیه گیاهچه گزارش شده است.

سلنیوم (Se) یکی از عناصر شیمیایی غیر فلزی کمیاب است که به طور فعال از مسیرهای اسیدهای آمینه جذب می شود و اغلب در پروتئین‌ها موجب ساختن سلنوپروتئین می‌گردد که برای تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مهم هستند. این آنتی‌اکسیدان ها به کمک سلنوپروتئین ها در حفظ سلامتی سلول‌ها که مورد خطر رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌باشند، مؤثرند. این عنصر همچنین یکی از اجزای مهم پراکسیداز گلوتاتیون می باشد (Tabatabaei, 2013). سلنیوم به خاطر حضور در سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی و تعادل هورمونی به عنوان یک ماده اساسی در سلامت موجودات زنده شناخته شده است (Pedrero and Madrid, 2009). این عنصر غذایی را نمی‌توان به صورت مستقیم مصرف کرد و از روش‌های مختلفی مانند اضافه کردن به خاک، خیساندن بذور با این ماده، محلول‌پاشی گیاهان و استفاده در کشت‌های هیدروپونیک و آیروپونیک می‌توان غلظت این عنصر را افزایش داشت (El-Missiry, 2012; Tabatabaei, 2013). سلنیوم اثر مثبتی می‌تواند بر جوانه‌زنی بذر با توجه به فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت چرخه آسکوربات گلوتاتیون داشته باشد (Ducsay *et al.*, 2006; Jezek *et al.*, 2011). یان و همکاران (Yun *et al.*, 1997) گزارش کردند که غلظت‌های کم سلنیت سدیم باعث بهبود جوانه‌زنی بذر گندم و رشد بهتر گیاهچه آن گردد، ولی غلظت‌های بالا باعث کاهش سرعت جوانه‌زنی بذر گردید.

[1] Astraceae

[2] Enriched

غلظت کمتر از ۵ میلی‌گرم در لیتر باعث بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی گندم و غلظت‌های بالاتر از آن اثرات کاهشی بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه گندم دارد (Zhihui *et al*., 2005). بیشترین جوانه‌زنی بذر لوپن[1] در غلظت ۸ میلی‌گرم در لیتر سلنیت سدیم توسط فرایز و همکاران (Frias *et al*., 2009) گزارش شد. با توجه به اهمیت سلنیوم و مشکل پایین بودن در صد جوانه‌زنی و بنیه بذر گیاه ا ستویا، هدف از پژوهش حاضر تعیین بهترین زمان و غلظت پرایمینگ بذر این گیاه به منظور افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی و بنیه بذر با عنصر غذایی سلنیوم بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۴ در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه شاهد تهران به منظور تعیین غلظت و مدت زمان مطلوب پرایمینگ بذر استویا با عنصر سلنیوم به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. عوامل آزمایش شامل مدت زمان‌های مختلف پرایمینگ بذر صفر (عدم پرایمینگ به عنوان شاهد)، ۸، ۱۶، ۲۴ و ۳۲ ساعت و سطوح غلظت‌های مختلف سلنیوم صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد بودند. منبع استفاده از سلنیوم، سلنیت سدیم (Na_2O_3Se) تهیه شده از مرک آلمان بود. بذرهای واریته برتونی[2] که در سال زراعی ۱۴-۲۰۱۳ تولید شده بودند از یک شرکت هندی (Global Horticulture Products) تهیه گردید و با هیپوکلریت سدیم ۱۰٪ به مدت ۳ دقیقه ضدعفونی شده و سپس با آب مقطر شستشو داده شدند (Yosefi Tanha, 2014). در پایان اعمال پرایمینگ، بذرها با آب مقطر شسته و به مدت ۲۴ ساعت در آزمایشگاه خشک شدند. در هر پتری ۳۰ عدد بذر بر روی کاغذ واتمن قرار داده شد و به هر پتری ۳ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و برای جلوگیری از تبخیر آب در پتری‌ها به وسیله پارافیلم بسته شد. جوانه‌زنی بذرها در داخل اتاقک رشد[3] کنترل شده با دمای ۲۳±۲ درجه سانتی‌گراد تحت شرایط نوری متناوب ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ۷۰±۵ درصد (به خاطر اینکه این گیاه برای رشد به رطوبت بالایی نیاز دارد) انجام شد (Raina *et al.*, 2013). شمارش بذرهای جوانه‌زده از روز دوم به صورت روزانه در ساعتی معین صورت گرفت (Liopa-Tsakalidi *et al.*, 2012) و در پایان دوره ۱۱ روزه آزمایش درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، **Error! Bookmark not defined.** متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی، متوسط جوانه‌زنی روزانه، سرعت جوانه‌زنی روزانه، ارزش جوانه‌زنی، شاخص بنیه بذر بر طبق روابط ارائه شده در جدول ۱ و همچنین یکنواختی جوانه‌زنی با استفاده از نرم‌افزار Germin محاسبه گردید (Soltani *et al*., 2001). تعداد ۵ عدد گیاهچه در انتهای آزمایش به تصادف انتخاب و با استفاده از کولیس دیجیتالی طول گیاهچه اندازه‌گیری شد. تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

درصد جوانه زنی

اثر مدت زمان و غلظت پرایمینگ بذر با سلنیوم بر درصد جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). روند افزایشی درصد جوانه‌زنی با افزایش غلظت سلنیوم در بذر استویا مشاهده گردید، به طوری که بیشترین درصد جوانه‌زنی در پرایمینگ با غلظت ۲ درصد سلنیوم (۵۸/۶۱ درصد) بود (افزایش ۱۲ درصدی جوانه‌زنی نسبت به شاهد) و کمترین میانگین در عدم پرایمینگ (شاهد) بدست آمد (شکل ۱). در بین تیمارهای مدت زمان پرایمینگ نیز، پرایمینگ بذر به مدت ۸، ۲۴ و ۳۲ ساعت بیشترین درصد جوانه‌زنی را به ترتیب ۵۳/۱۱، ۵۲/۶۶ و ۵۲ درصد داشتند (شکل ۲). میرشکاری (Mirshekari, 2012) گزارش کرد که پرایمینگ بذر گیاه شوید (*Anethum graveolens* L.) با ریزمغذی اسید بوریک اثر معنی‌داری بر جوانه‌زنی نهایی بذر داشت و غلظت ۱/۵ درصد اسید بوریک بالاترین درصد جوانه‌زنی در این گیاه را داشت. چن و سونگ (Chen and Sung, 2001) گزارش کردند که بیشترین تأثیر بر درصد جوانه‌زنی و ظهور گیاهچه مربوط به پرایمینگ با سلنیوم بود. پرایمینگ بذر با سلنیوم از طریق تأثیر بر فعالیت‌های آنتی‌اکسیدان می‌تواند بر فرآیندهای فیزیولوژیکی

[1] *Lupin usangustifolius* L.
[2] Bertoni
[3] Growth chamber

جدول ۱- روابط محاسباتی صفات مورد مطالعه در آزمایش

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

صفات Traits		رابطه Equation	منبع Reference
درصد جوانه‌زنی	Germination Percentage	GP = (N×100) / M	Liopa-Tsakalidi *et al*., 2012
سرعت جوانه‌زنی	Germination Speed	GS =∑Ni / Ti	Pagter *et al.*, 2009
متوسط زمان جوانه‌زنی	Mean Time of Germination	MTG =∑)Ni) / ∑N	Ellis and Roberts, 1981
متوسط جوانه‌زنی روزانه	Mean of Daily Germination	MDG = N / T	Hoogenboom and Peterson, 1987
سرعت جوانه‌زنی روزانه	Daily Germination Speed	DGS =1/MDG	Stephanie *et al.*, 2005
ارزش جوانه‌زنی	Germination Value	GV = GP × MDG	Ghasemigolozani and Dalil, 2011
شاخص بنیه بذر	Seed Vigor Index	SVI= GP×Mean (SL)	Biradar *et al.*, 2007

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، Mcgr= ماکزیمم درصد جوانه‌زنی تجمعی، Ni= مجموع بذرهای کاشته شده، SL= طول گیاهچه

N= sum of germinated seeds at the end of the experiment, M= total planted seeds, T= period of germination, Ti= number of days after germination, n= number of germinated seeds in Ti, Mcgr= maximum cumulative germination percentage, Ni= Total seeds sown, SL= Seedling Length

جوانه‌زنی تأثیر گذارد و از طریق تأثیر بر درصد و سرعت جوانه‌زنی باعث بهبود رشد گیاهچه‌ها شوند. اثرات مثبت سلنیوم بر درصد جوانه‌زنی به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی گلوتاتیون پراکسیداز و فعال شدن سیکل گلوتاتیون آسکوربات مربوط می‌شود (Sajedi, 2015). ربیعیان و همکاران (Rabian *et al*., 2014) اثر سلنیوم بر جوانه‌زنی بذر برنج را معنی‌دار گزارش کردند و کاربرد ۱۶ میلی‌گرم در لیتر از سلنیوم به صورت سلنیت سدیم توانست درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر برنج را به ترتیب ۱۰ و ۹ درصد افزایش دهد.

سرعت جوانه‌زنی

براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثر غلظت، مدت زمان پرایمینگ بذر و اثر متقابل این دو عامل بر سرعت جوانه-زنی معنی‌دار بود (جدول ۲). همانند درصد جوانه‌زنی بیشترین سرعت جوانه‌زنی در بالاترین غلظت تیمار شده بذر (۲ درصد) بدست آمد که نسبت به شاهد موجب افزایش تقریبی ۴۶ درصدی در سرعت جوانه‌زنی بذر استویا گردید (شکل ۲). در مقایسه میانگین اثر متقابل بیشترین سرعت جوانه‌زنی در غلظت ۲ درصد در زمان‌های ۸ و ۲۴ ساعت بدست آمد (شکل ۲). تعیین زمان مناسب پرایمینگ موجب جلوگیری از تأثیر منفی آن می‌شود (Ramazani *et al*., 2012). با افزایش غلظت و زمان پرایمینگ بذر، ممکن است تولید مواد سمی در بذر صورت گیرد که اثرات منفی بر سرعت و درصد جوانه‌زنی بذر خواهد گذاشت (Ramazani *et al*., 2012).

متوسط زمان جوانه‌زنی

اثر مدت زمان پرایمینگ و اثر متقابل غلظت در مدت زمان پرایمینگ بذر بر متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). در مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت در مدت زمان پرایمینگ، بیشترین زمان لازم برای جوانه‌زنی در ۳۶ ساعت پرایمینگ بذر در غلظت ۲ درصد با میانگین ۵/۵۱ روز و کمترین زمان لازم در تیمار شاهد بدست آمد (شکل ۳). پرایمینگ بذر با ریزمغذی اثرات مفیدی بر جوانه‌زنی بذر، زمان لازم برای جوانه‌زنی، شاخص بنیه گیاهچه و طول گیاهچه داشت (Memon *et al.*, 2013). امیدی و همکاران (Omidi *et al.*, 2005) اثر پیش تیمار بذر با عنصر غذایی نیترات پتاسیم را بر جوانه‌زنی بذر کلزا را مورد آزمایش قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که پرایمینگ اثر معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی، مدت زمان جوانه‌زنی و حداکثر میانگین جوانه‌زنی بذرهای کلزا دارد.

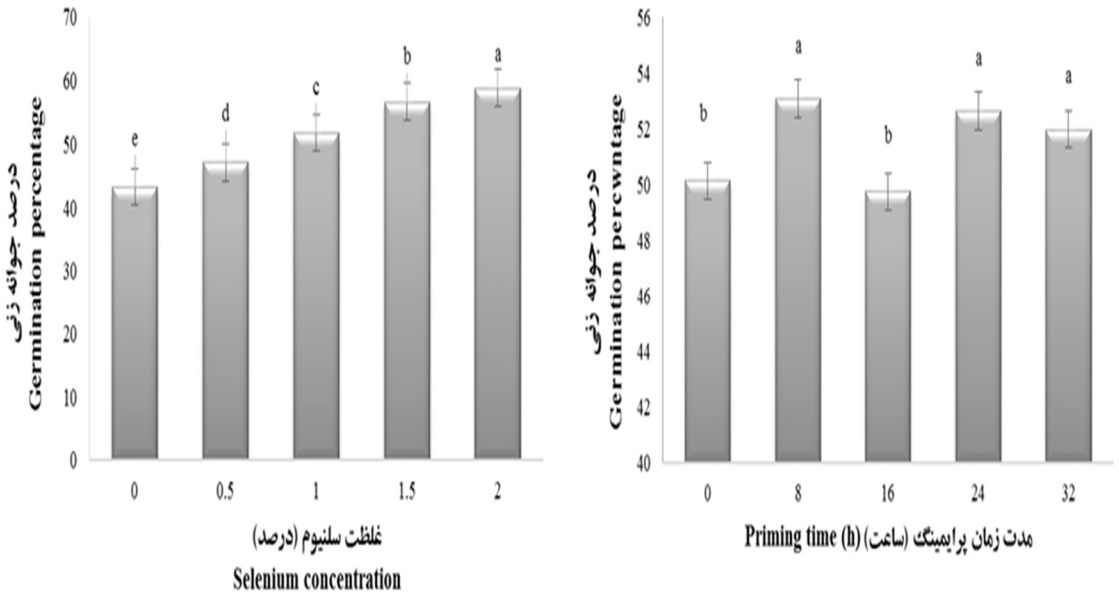
جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر مدت زمان و غلظت پرایمینگ با سلنیوم بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر استویا

Table 2. Analysis of variance for the effect of time and concentration of priming with Selenium on Stevia seed germination indices

		میانگین مربعات Mean square								
منابع تغییرات Sources of variance	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination Percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination Rate	متوسط زمان جوانه‌زنی Mean Germination Time	متوسط جوانه‌زنی روزانه Mean Delay Germination	سرعت جوانه‌زنی روزانه Delay Germination Speed	یکنواختی جوانه‌زنی Germination Uniformity	ارزش جوانه‌زنی Germination Value	طول گیاهچه Seedling Length	شاخص بنیه بذر Seed Vigor Index
مدت زمان پرایمینگ Priming Time(PT)	4	29.11**	0.48**	0.47**	0.24**	0.0007**	0.86**	0.24**	0.02**	812481.6**
غلظت پرایمینگ Priming Concentration (PC)	4	600.59**	4.07**	0.02 ns	4.96**	0.00004ns	0.79**	5.18**	0.24**	16568019.7**
مدت زمان × غلظت PT × PC	16	9.26 ns	0.25**	0.12**	0.07 ns	0.0002**	0.17**	0.06ns	0.001*	78245.4ns
اشتباه آزمایشی Experimental error	50	5.92	0.05	0.02	0.04	0.00004	0.04	0.03	0.0001	42146.81
ضریب تغییرات (٪) Coefficient of variation (%)	-	4.71	6.27	3.36	4.71	3.37	4.10	8.06	5.42	6.12

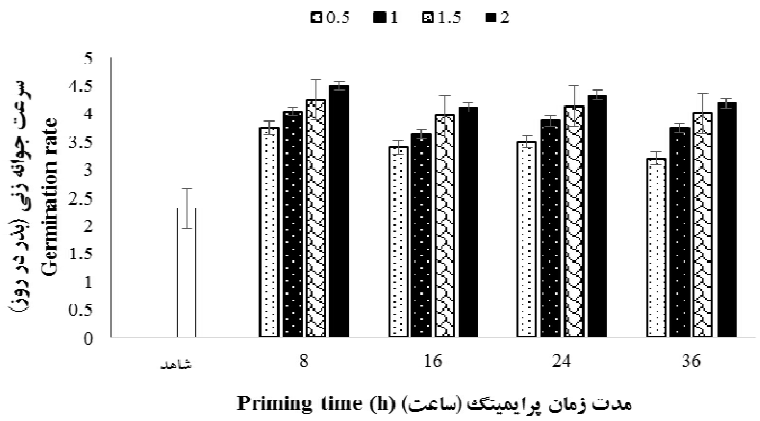
ns، *، **به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار بودن در سطح ۵ و۱ درصد

ns, * and ** : Not significant, significant at 5% and 1% probability levels, respectively

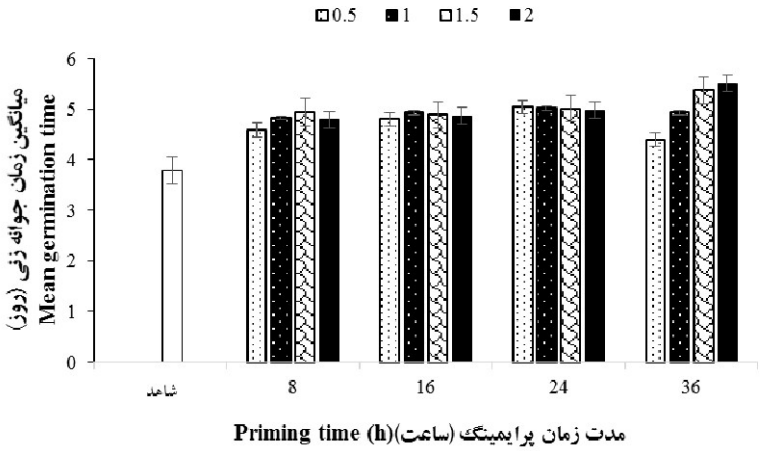


شکل ۱- مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی بذر استویا تحت تأثیر غلظت و مدت زمان پرایمینگ با عنصر سلنیوم

Figure 1. Mean comparison of Stevia seed germination percentage affected by concentration and priming timing with selenium element



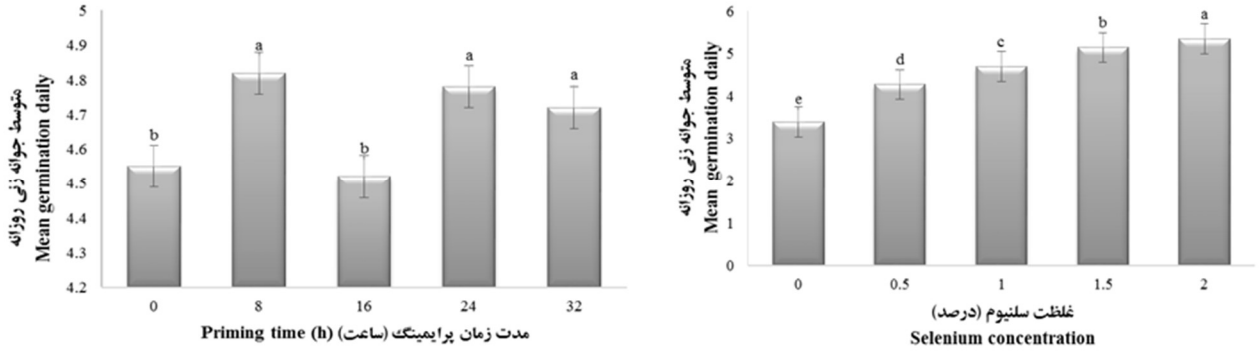
شکل ۲- مقایسه میانگین سرعت جوانه‌زنی بذر استویا تحت تأثیر متقابل غلظت × مدت زمان پرایمینگ با عنصر سلنیوم
Figure 2. Mean comparison of Stevia seed germination rate affected by concentration× priming timing interaction with selenium element



شکل ۳- مقایسه میانگین متوسط زمان جوانه‌زنی بذر استویا تحت تأثیرمتقابل غلظت × مدت زمان پرایمینگ با عنصر سلنیوم
Figure 3. Mean comparison of Stevia seed mean germination time affected by concentration × priming timing interaction with selenium element

متوسط جوانه‌زنی روزانه

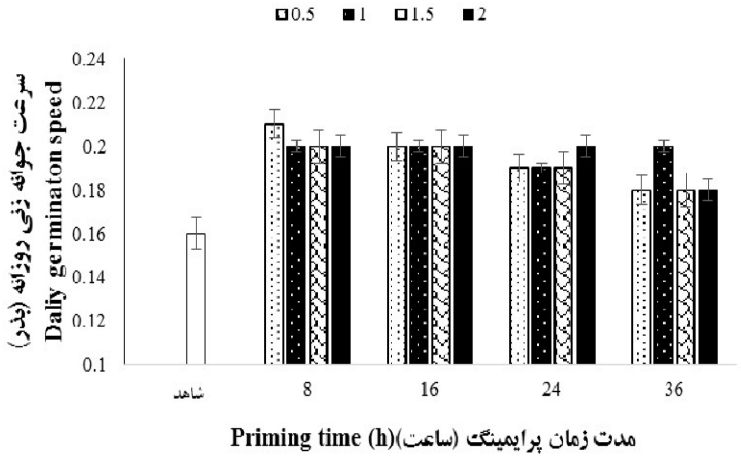
نتایج جدول تجزیه واریانس نشـــان داد که اثر غلظت و مدت زمان پرایمینگ بذر بر متوســـط جوانه‌زنی روزانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). با افزایش غلظت ســـلنیوم افزایش میانگین متوســـط جوانه‌زنی روزانه مشـــاهده شـــد به طوری که بالاترین میانگین این صـــفت در کاربرد ۲ درصـــد ســـلنیوم (۵/۳۲ بذر) بود (شـــکل ۴). در بین تیمارهای مدت زمان پرایمینگ نیز، پیش تیمار بذر به مدت ۸، ۲۴ و ۳۲ ساعت بالاترین میانگین (به ترتیب ۴/۸۶، ۴/۸۲ و ۴/۷۸ بذر) این صفت را داشتند (شکل ۴).



شکل ۴- مقایسه میانگین متوسط جوانه‌زنی روزانه بذر استویا تحت تأثیر غلظت و مدت زمان پرایمینگ با عنصر سلنیوم
Figure 4. Mean comparison of Stevia mean daily seed germination affected by concentration and priming time with selenium element

سرعت جوانه‌زنی روزانه

براســـاس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) اثر مدت زمان پرایمینگ و اثر متقابل غلظت در مدت زمان پرایمینگ بذر بر سرعت جوانه‌زنی روزانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. بیشـــترین ســـرعت جوانه‌زنی روزانه در پرایمینگ بذر در ۰/۵ درصـد سـلنیوم به مدت ۸ سـاعت بود و با افزایش زمان پرایمینگ روند کاهشـی در میانگین سـرعت جوانه‌زنی روزانه بذر م‌شاهده شد به طوری که پرایمینگ ۳۶ ساعت در همه غلظت‌ها به غیر از ۱ در صد پایین‌ترین میانگین این صفت را داشتند (شکل ۵). در پژوهشی گزارش شد که غلظت بیشتر از ۱۵ میلی‌گرم در لیتر سلنیوم اثرات منفی و غلظت کمتر از این مقدار اثرات مثبتی بر سـرعت جوانه‌زنی بذر لوبیا داشـت (Dazhai *et al*., 2007).

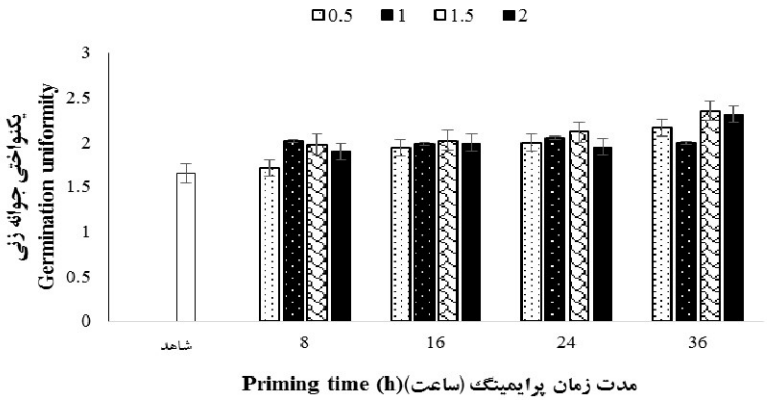


شکل ۵- مقایسه میانگین سرعت جوانه‌زنی روزانه بذر استویا تحت تأثیر متقابل غلظت × مدت زمان پرایمینگ با عنصر سلنیوم
Figure 5. Mean comparison of Stevia seed germination rate affected by concentration × priming time interaction with selenium element

یکنواختی جوانه‌زنی

براســـاس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) اثر غلظت و مدت زمان پرایمینگ و همچنین اثر متقابل این دو عامل بر یکنواختی جوانه‌زنی در ســـطح احتمال یک درصـــد معنی‌دار بود. بیشـــترین یکنواختی جوانه‌زنی در غلظت‌های ۱/۵ و ۲ درصد سلنیوم در مدت زمان ۳۶ ساعت پرایمینگ به ترتیب با میانگین ۲/۳۱ و ۲/۲۹ بدســـت آمد (شـــکل ۶). با افزایش زمان پرایمینگ بذر به دلیل زمان بیشـــتر برای فعال شـــدن

آنزیم‌های هیدرولیز کننده، جوانه‌زنی بذور یکنواخت‌تر انجام می‌گیرد. سلنیوم می‌تواند تا حدی اثرات سوء ناشی از تفاوت‌های اندوخته پایین بذر که در استویا معمول است را جبران کند و منجر به افزایش شاخص و یکنواختی جوانه‌زنی شود (Rabian *et al*., 2014). فاروق و همکاران (Farooq *et al.*, 2006) علت سبز شدن یکنواخت و یکنواختی جوانه‌زنی بذور پیش تیمار شده برنج را بهبود فعالیت آلفا آمیلاز و افزایش قندهای محلول دانستند.

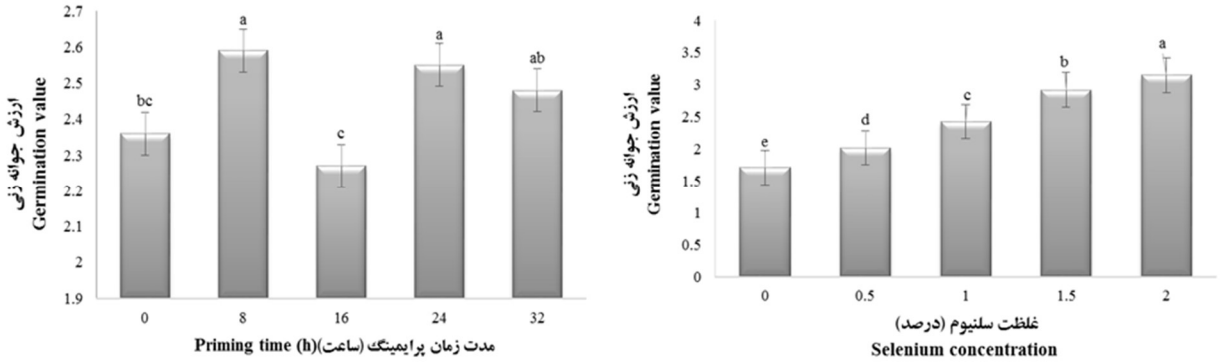


شکل ۶- مقایسه میانگین یکنواختی جوانه‌زنی بذر استویا تحت تأثیر متقابل غلظت × مدت زمان پرایمینگ با عنصر سلنیوم

Figure 6. Mean comparison of Stevia seed germination uniformity affected by concentration × priming time interaction with selenium element

ارزش جوانه‌زنی

اثر غلظت و مدت زمان پرایمینگ بذر بر ارزش جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). با افزایش غلظت عنصر سلنیوم ارزش جوانه‌زنی افزایش معنی‌داری داشت به طوری که در غلظت ۲ درصد سلنیوم بالاترین میانگین و در تیمار شاهد پایین‌ترین میانگین بدست آمد (شکل ۷). از نظر زمان پرایمینگ نیز ارزش جوانه‌زنی در مدت زمان‌های ۸ و ۲۴ ساعت بالاترین میانگین را براساس شکل ۷ داشت که با تیمار ۳۶ ساعت پرایمینگ در گروه مشترکی قرار گرفته بود. از جمله روش‌های افزایش دهنده قدرت جوانه‌زنی می‌توان به پرایمینگ بذر اشاره کرد (Ramazani *et al.*, 2012).

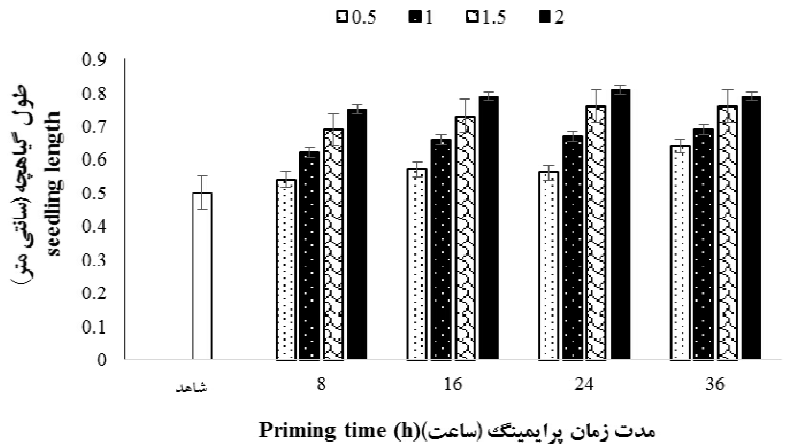


شکل ۷- مقایسه میانگین ارزش جوانه‌زنی بذر استویا تحت تأثیر غلظت و مدت زمان پرایمینگ با عنصر سلنیوم

Figure 7. Mean comparison of Stevia seed germination value affected by concentration and priming time with selenium element

طول گیاهچه

براســـاس نتایج تجزیه واریانس، اثر غلظت، مدت زمان و اثر متقابل این دو بر طول گیاهچه اســـتویا از نظر آماری در ســطح احتمال یک درصـد معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایســه میانگین اثر متقابل غلظت در مدت زمان پرایمینگ (شکل ۸) نشـــان داد که با افزایش زمان پرایمینگ و غلظت ســـلنیوم، طول گیاهچه اســتویا افزایش معنی‌داری نشـان داد به طوری که بیشـــترین طول گیاهچه در غلظت ۲ درصـــد در مدت زمان‌های ۲۴ و ۳۶ ساعت به ترتیب با میانگین ۰/۸۰ و ۰/۷۸ ســـانتی‌متر بود و کمترین طول گیاهچه در تیمار شـــاهد با میانگین ۰/۵ ســـانتی‌متر بدســـت آمد. ربیعیان و همکاران (Rabian *et al.*, 2014) گزارش کردند که بیشـــترین طول گیاهچه در شـرایط پرایمینگ بذر با سـلنیوم بدسـت آمد. به نظر می‌رسد سلنیوم با تحریک گیاه در سنتز مضاعف آنزیم‌ها در شـــرایط نرمال موجب افزایش توان رشـــد و بقای گیاه می‌شود.

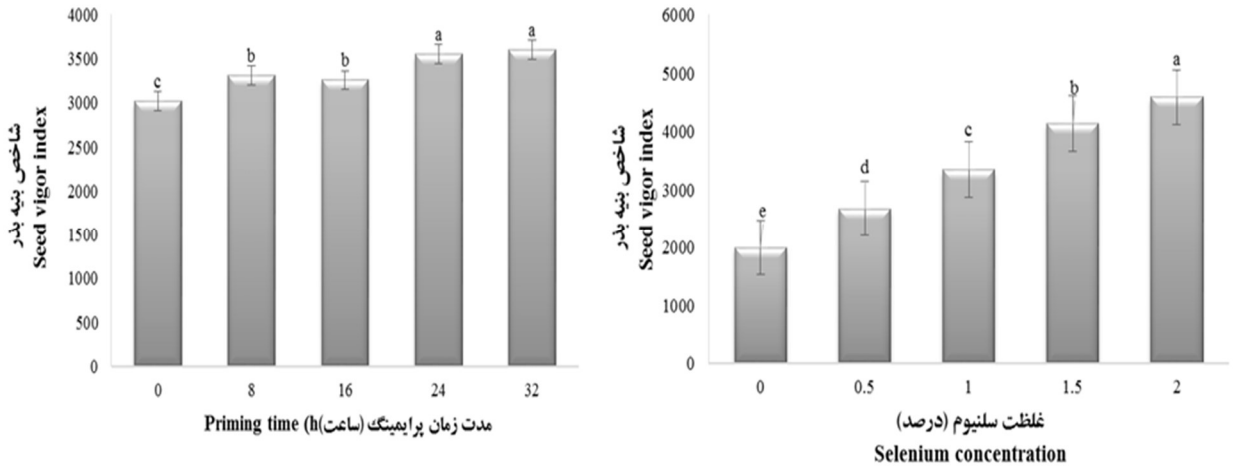


شکل ۸- مقایسه میانگین طول گیاهچه استویا تحت تأثیر متقابل غلظت × مدت زمان پرایمینگ با عنصر سلنیوم

Figure 8. Mean comparison of Stevia seedling length affected by concentration × priming time interaction with selenium element

شاخص بنیه بذر

نتایج بدســـت آمده از تجزیه واریانس داده‌ها نشـــان داد (جدول ۲) که اثر غلظت و مدت زمان پرایمینگ بر شـــاخص بنیه بذر اسـتویا در سـطح احتمال یک درصـد معنی‌دار بود. همانند اکثر صـــفات بررســـی شـــده در این پژوهش روندی افزایشـــی با افزایش غلظت ســـلنیوم در میانگین این صـــفت مشـاهده شـد، به طوری که بیشـترین شـاخص بنیه بذر در بالاترین غلظت استفاده شده (۲ درصد) با میانگین ۴۶۲۰/۲ و کمترین آن در تیمار شاهد با میانگین ۲۰۰۹/۷ بود (شکل ۹). در بین زمان‌های مختلف پرایمینگ، بالاترین شـــاخص بنیه بذر در ۲۴ و ۳۶ ســـاعت پرایمینگ بذر به ترتیب با میانگین ۳۷۶۸/۷ و ۳۶۹۹/۹ بدســـت آمد. پرایمینگ بذر با سـلنیوم توانسـت ۱۰ تا ۱۵ درصـد شـاخص بنیه بذر برنج را افزایش د هد (Rabian *et al.*, 2014). ز مانی که غل ظت سـلنیوم مابین ۵ تا ۱۵ میلی‌گرم بر لیتر بود، همگی صـفات سرعت جوانه‌زنی، شاخص بنیه بذر و قدرت جوانه‌زنی دارای بالاترین میانگین بودند و غلظت بیشـــتر از این مقدار باعث افت شـدید شـاخص‌های ذکر شـده در گیاه *Hippophae rhamnoides* گـردیـد (Shimin and Zhengdong, 2014). دیلیـان و لاگونویچی- لوچیـان (Delian and Lagunovschi-Luchian, 2015) گزارش کردنـد نوتری پرایمینگ بذر هویج به مدت ۲۴ ساعت توانست شاخص بنیه بذر را بهبود بخشد.



شکل ۹- مقایسه میانگین شاخص بنیه بذر استویا تحت تأثیر غلظت و مدت زمان پرایمینگ با عنصر سلنیوم

Figure 9. Mean comparison of Stevia seed vigor index affected by concentration and priming time with selenium element

نتیجه‌گیری

به طور کلی می‌توان گفت که نوتری پرایمینگ بذر با عنصر سلنیوم به عنوان یک تیمار فیزیولوژیکی توانست سبب بهبود جوانه‌زنی بذر استویا گردد. در تمامی صفات اندازه‌گیری شده مثل درصد و سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر افزایش معنی‌داری با پرایمینگ بذر مشاهده شد به طوری که پرایمینگ بذر استویا به مدت ۲۴ و ۳۲ ساعت در غلظت ۲ درصد سلنیوم از منبع سلنیت سدیم افزایش معنی‌داری (حدود ۱۶ درصد) در شاخص بنیه بذر ضعیف استویا داشت. با توجه به این که مدت زمان پرایمینگ بیش از حد، می‌تواند اثرات مثبت این روش را با تولید ترکیبات مضر کاهش دهد و از طرفی در خیلی از صفات زمان ۲۴ ساعت نسبت به ۳۲ ساعت بیشترین میانگین صفات مورد بررسی را ایجاد کرده بود، پرایمینگ بذر به مدت ۲۴ در غلظت ۲ در صد سلنیوم برای بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و افزایش بنیه بذر استویا توصیه می‌گردد.

منابع

Abou-Arab, A. E., Abou-Arab, A. A. and Abu-Salem, M. F. 2010. Physiochemical assessment of natural sweeteners stevioside produced from *Stevia rebaudiana* Bertoni plant. African Journal of Food Science. 4: 269–281. **(Journal)**

Chen, C. C. and Sung, J. M. 2001. Priming bitter gourd seeds with Selenium solution enhanced germinability and antioxidative responses under sub-optimal temperature. Physiologia Plantarum, 111: 9- 16. **(Journal)**

Dazhai, Z., Yuchang, Z., Chi, Z. and Dongdong, X. 2007. The effect of Selenium on seed germination of kidney bean. Journal of Hubei Institute for Nationalities- Natural Science, 25(1):91-93. **(Journal)**

Delian, E. and Lagunovschi-Luchian, V. 2015. Germination and vigour of primed *Daucus carota* L. seeds under saline stress conditions. Romanian Biotechnological Letters, 20(5):10833-40. **(Journal)**

Ducsay, L., Ložek, O., Varga, L. and Lošak, T. 2006. Effects of winter wheat supplementation with selenium. Chemické Listy, 100: 519–521. **(Journal)**

El-Missiry, M. A. 2012. Biochemistry and molecular biology, chapter 13, INTECH Publisher. **(Book)**

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

Farooq, M., Wahid, A. and Siddique, K. H. M. 2012. Micronutrient application through seed treatments- a review. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 12: 125-142. **(Journal)**

Frias, J., Gulewicz, P., Martínez-Villaluenga, C., Pilarski, R., Blazquez, E., Jiménez, B., Gulewicz, K. and Vidal-Valverde, C. 2009. Influence of germination with different Selenium solutions on nutritional value and cytotoxicity of Lupin seeds. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 57(4): 1319-1325. **(Journal)**

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 Biotechnology, 172: 4038–4052. **(Journal)**

Harris, D., Joshi, A., Khan, P. A., Gothkar, P. and Sodhi, P. S. 1999. On-farm seed priming in semiarid agriculture: Development and evaluation in maize, rice and chickpea in India using participatory Methods. Experimental Agriculture, 35: 15-29. **(Journal)**

Jezek, P., Hlušek, J., Lošak, T., Jůzl, M., Elzner, P., Kračmar, S., Buňka, F. and Martensson, A. 2011. Effect of foliar application of selenium on the content of selected amino acids in potato tubers (*Solanum tuberosum* L.). Plant, Soil and Environment, 57: 315–320. **(Journal)**

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: 416-423. **(Journal)**

Memon, N. N., Gandahi, M. B., Pahoja, V. M. and Sharif, N. 2013. Response of seed priming with Boron on germination and seedling sprouts of *Broccoli*. International Journal of Agriculture Science and Research, 3(2): 183-194. **(Journal)**

Mirshekari, B. 2012. Seed priming with iron and boron enhances germination and yield of dill (*Anethum graveolens*). Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 36: 27-33. **(Journal)**

Omidi, H., Sorushzade, E. and Qezeli, F. 2005. Study of osmopriming pre-treatment on germintion of rapeseed seeds. Agricultural Science and Technology, 19 (2): 125-136. (In Persian)**(Journal)**

Pedrero, Z. and Madrid, Y. 2009. Novel approaches for selenium speciation in food stuffs and biological specimens: A review. Analytica Chimica Acta, 634(2):135-152. **(Journal)**

Rabian, A., Jiryaei, M. and Ayneband, A. 2014. Assess the impact of selenium in reducing the negative effects of salinity and low savings rice seed germination. Environment Stresses in Crop Science, 7(1): 53-63. **(Journal)**

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

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

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

Ramazani, M. and RezaeiShokhabadi, R. 2012. Compartion of different time and priming concentration on the seedling characteristics of winter rape seed sarigol, Agronomy and Plant Breeding Journal, 8(1): 145-159. (In Persian)**(Journal)**

Rehman, A., Farooq, M., Cheema, Z. A. and Wahid, A. 2012. Role of boron in leaf elongation and tillering dynamics in fine grain aromatic rice. Journal of Plant Nutrition, (In Press)**(Journal)**

Robert, T. L. 2008. Improved nutrients use efficiency. Turkish Journal of Agriculture, 32: 177-182. **(Journal)**

Sajedi, N. A. 2015. Effect of hydropriming and priming with different Selenium concentration combined foliar application on yield and yield component of wheat. Iranian Journal of Field Crops Research, 13(1): 203-210. (In Persian)**(Journal)**

Savita, S., Sheela, K., Sunanda, S., Shankar, A. and Ramakrishna, P. 2004. *Stevia rebaudiana*, A functional component for food industry. Journal of Human Ecology, 15: 261–264. **(Journal)**

Shimin, H. and Zhengdong, Y. 2014. Influence of selenium concentration on vigour and enzyme activity during germination stage of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) seed. Journal of Seed, 33(2):39-46. **(Journal)**

Soltani, A., Zeinali, E., Galeshi, S. and Latifi, N. 2001. Genetic variation for and interrelationships among seed vigor traits in wheat from the Caspian Sea Coast of Iran. Seed Science and Technology, 29: 653-662. **(Journal)**

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

Tabatabaei, S. J. 2013. Principles of mineral nutrition of plant. Tabriz University Press, pp: 554. (In Persian)**(Book)**

Yosefi Tanha, P. 2014. The effect of priming to improve germination of winter annual green manure seeds under cold stress. Master thesis of seed science and technology. Shahrekord University. (In Persian)**(Thesis)**

Yun, X., Zijian, W. and Peng, A. W. 1997. Effect of selenium and fulvic acid on seed germination of wheat and its physiological properties. Chinese Journal of Applied Ecology, 8(4):439-444. **(Journal)**

Zhihui, S., Kuangfei, L., Xiaoqing, Z., Li, Z. and Yaling, Z. 2005. Comparison of ecotoxic effect of selenium on seed germination of wheat and paddy rice, Chinese Journal of Ecology, 12: 1440-1443. **(Journal)**

Determination of optimum concentration and time of Stevia (*Stevia rebuadiana* Bertoni) seed priming by Selenium

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

Received: January 29, 2016 Accepted: March 17, 2016

Abstract

Selenium is an essential nutrient, but its role in the plants need more research. To determine the optimum concentration and priming time of stevia seed by selenium, a factorial experiment based on a completely randomized design with three replications was carried out in the Shahed University Tehran/Iran in 2015. The first factor was different concentrations of Selenium (0, 0.5, 1, 1.5, and 2 percent) and the second factor was priming time (0, 8, 16, 24 and 32 hours). The results indicated that the effect of selenium concentration and priming time was significant on germination percentage, germination rate, mean daily germination, germination uniformity, germination value, seedling length and vigor index. The interaction of concentration and priming time had a significant effect ($p<0.01$) on germination rate, mean time germination, daily germination rate, germination uniformity, and seedling length. As the concentration of selenium increased from 0 to 2%, significant increases in germination percentage, germination rate, mean daily germination, germination value, and seed vigor index were observed. The highest and lowest traits were observed in 2% concentration and control (0%), respectively. The highest germination rates of 4.50 and 4.33 seeds per day were observed in priming for 8 and 24 hours at 2% concentration, respectively. As the priming time increased, germination uniformity and seed vigor increased and reached its maximum values at 24 and 32 hours of priming, respectively. Across all treatments, priming 2% concentration of selenium for 24 hours, significantly increased germination index and seed vigor of Stevia.

Keywords: Germination; Nutri priming; Selenium; Stevia; Vigor

How to cite this article
Aghighi Shahverdi, M. and Omidi, H. 2017. Determination of optimum concentration and time of Stevia (*Stevia rebuadiana* Bertoni) seed priming by Selenium. Iranian Journal of Seed Science and Research, 4(3): 39-51. (In Persian)**(Journal)**
DOI: 10.22124/jms.2017.2506

COPYRIGHTS
Copyrights for this article are retained by the author(s) with publishing rights granted to the Iranian Journal of Seed Science and Research
The content of this article is distributed under Iranian Journal of Seed Science and Research open access policy and the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY4.0) License. For more information, please visit http://jms.guilan.ac.ir/

1. Ph.D Student of Crop Physiology, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran
2. Assistant Professor, Agricultural College and Medicinal Plant Research Center, Shahed University, Tehran, Iran
*Corresponding Author: m.aghighi@shahed.ac.ir