

تأثیر پرایمینگ بر ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر فرسوده‌شده کدو پوست کاغذی (*Cucurbita pepo*) در شرایط تنش شوری

پریسا شیخ‌نواز جاهد، محمد صدقی*، رئوف سیدشریفی و امید سفالیان
گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۱۳، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۰۱/۱۶)

چکیده

به‌منظور بررسی اثر پرایمینگ بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذور فرسوده کدو پوست کاغذی تحت تنش شوری آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در سال ۹۷ در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی اجرا شد. تیمارها شامل فرسودگی بذر (بدون فرسودگی، ۸۵ و ۷۵ درصد)، تنش شوری (صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار حاصل از NaCl) و پرایمینگ بذر (بدون پرایمینگ، هیدرو پرایمینگ، جیبرلین، هورمون Gr24 (نوعی استریگولاکتون)، بنزیل آمینوپورین و اسپرمیدین) بودند. نتایج نشان داد که تنش شوری و فرسودگی موجب کاهش صفات درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، محتوی آب نسبی (RWC)، پروتئین و کاروتنوئید شد به‌طوری‌که تیمار شوری ۱۵۰ میلی‌مولار، درجه فرسودگی ۷۵ درصد کمترین میزان این صفات را نشان داد. همچنین میزان فعالیت CAT، POX و SOD در اثر فرسودگی ۷۵ درصد کمتر از سایر تیمارها بود. درحالی‌که پرایمینگ با اسپرمیدین توانست میزان این آنزیم‌ها را به‌طور معنی‌داری در شرایط شوری شدید افزایش دهد. MDA که یکی از مهمترین نتایج تنش است در شرایط تنش شوری و فرسودگی کاهش یافت اما پرایمینگ بذر بخصوص در پرایمینگ با اسپرمیدین MDA به‌شدت کاهش یافت. علاوه‌براین پرایمینگ بذر توانست اثرات تنش شوری و فرسودگی را به‌طور معنی‌داری کاهش دهند به‌طوری‌که درصد جوانه‌زنی و پروتئین در پرایمینگ جیبرلین، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در پرایمینگ با Gr24، RWC و کاروتنوئید در پرایمینگ اسپرمیدین افزایش یافتند. تنش شوری اعمال‌شده بر روی بذور فرسوده منجر به اختلال و کاهش در صفات فیزیولوژیکی گردید درحالی‌که پرایمینگ بذور با روش‌های مختلف منجر به کاهش و بهبود اثر سوء تنش‌ها گردید.

واژه‌های کلیدی: استریگولاکتون، جیبرلین، مالون دی‌آلدهید، Gr24

مقدمه

(2009). جوانه‌زنی این گیاه تحت تأثیر فرسودگی بذر قرار می‌گیرد. قدرت بذر اولین جزء از کیفیت بذر است که تحت تأثیر فرسودگی بذر، کاهش می‌یابد و به‌دنبال آن ظرفیت جوانه‌زنی و قوه نامیه نیز کاهش می‌یابد (De Figueiredo et al., 2003). یکی از دلایل افزایش فرسودگی بذر انواع اکسیژن

دانه‌های کدو به‌عنوان یک منبع دارویی مهم تلقی می‌شود. دانه‌های این بذر حاوی ۶۰-۴۰ درصد روغن حاوی اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه است که نقش مهمی در فعالیت مغز و سیستم عصبی می‌تواند ایفا کند (Makai and Balatincz, 2003).

*نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: m_sedghi@uma.ac.ir

است و طبق تعریف، جوانه‌زنی بذر توسط عوامل ژنتیکی و محیطی تعیین می‌شود (Tan *et al.*, 2013) و با جذب آب آغاز می‌شود و با بیرون آمدن ریشه از پوشش بذر تکمیل می‌شود (Zhang *et al.*, 2017). و به‌طور کلی جوانه‌زنی بذر شامل سه مرحله است. در مرحله اول (فاز I، جذب سریع آب)، جذب سریع آب توسط دانه خشک اتفاق می‌افتد تا زمانی که تمام محتویات سلولی کاملاً هیدراته شود. فاز دوم (فاز II، فعال شدن مجدد متابولیسم) دوره جذب آب محدود است و جوانه‌زنی بذر تکمیل نشده است. در مرحله سوم (مرحله III، ظهور ریشه‌چه)، بذر به جذب آب ادامه می‌دهد تا جوانه‌زنی کامل شود. در بین این سه فاز، فاز II حیاتی‌ترین است زیرا تمام مسیرهای متابولیکی لازم و فرآیندهای فیزیولوژیکی دوباره فعال می‌شوند و جوانه‌زنی انجام می‌شود (Zhang *et al.*, 2017).

پرایمینگ بذرها یک تکنیک آسان، مقرون به صرفه و ایمن برای افزایش سبزشدن، رشد گیاهچه، عملکرد و تحمل به تنش خشکی محصولات زراعی است (Hussain *et al.*, 2015). این یک تکنیک هیدراتاسیون کنترل شده است که فرآیندهای متابولیک قبل از جوانه‌زنی مانند افزایش جذب آب، فعال‌سازی ذخیره آمیلاز، سلولاز و زایلاناز (Xylanase) را بدون جوانه‌زنی واقعی در دانه‌ها تحریک می‌کند و منجر به استقرار و رشد گیاهچه می‌شود (Marthandan *et al.*, 2020; Hussain *et al.*, 2015). پرایمینگ باعث افزایش فعالیت پروتئازها، لیپازها و آمیلازها می‌شود که ذخایر غذایی را برای افزایش رشد و جنین تجزیه می‌کنند. پرایمینگ همچنین اثر تنش غیرزیستی را در مرحله جوانه‌زنی به حداقل می‌رساند و در نهایت منجر به رویش بیشتر گیاهچه و همچنین استقرار قوی گیاهچه می‌شود. این فعالیت‌های بیولوژیکی در اثر پرایمینگ، برای کشاورزان مفید است. زیرا زمان سبزشدن، هزینه کاشت مکرر، کوددهی و آبیاری اضافی را کاهش می‌دهد (Acharya *et al.*, 2020). امروزه استفاده از انواع هورمون‌ها، ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه و... برای پرایمینگ بذور مورد بررسی قرار می‌گیرد. در این پژوهش از انواع پرایمینگ‌ها شامل بدون پرایمینگ، هیدرو

فعال (ROS) است. ROS می‌تواند در تضعیف آندوسپرم در طول جوانه‌زنی از طریق شل‌شدن دیواره سلولی شرکت کند، اما تولید بیش از حد ROS می‌تواند منجر به تنش اکسیداتیو و آسیب سلولی شود که منجر به فرسودگی بذر، جلوگیری از جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه می‌شود (Han *et al.*, 2021). علاوه بر فرسودگی بذر، تنش‌های مختلف از جمله تنش شوری نیز بر جوانه‌زنی مؤثر هستند و موجب کاهش جوانه‌زنی می‌شوند.

شوری یک تنش غیرزیستی عمده است که بر رشد و نمو گیاه تأثیر می‌گذارد و باعث اختلال در تعادل پتانسیل آب و توزیع یون می‌شود که منجر به آسیب مولکولی، کاهش رشد و حتی مرگ سلولی می‌شود (Li *et al.*, 2020). تمام خاک‌های کشاورزی و آب آبیاری دارای املاح معدنی هستند. مقدار و نوع نمک موجود به ترکیب خاک و آب آبیاری بستگی دارد (Hanson *et al.*, 2006). ترکیب یونی آب آبیاری به اندازه سطح شوری آب مهم است. هر نوع نمک موجود در خاک و آب آبیاری ممکن است اثرات متفاوتی بر رشد گیاه داشته باشد. به‌ویژه در مناطق نیمه‌خشک جهان، تأمین آب با کیفیت کافی برای آبیاری یک مشکل مهم است (Bimurzayev *et al.*, 2021).

به‌طور کلی، توانایی یک محصول برای زنده ماندن و رشد در شرایط شوری به تحمل نمک آن بستگی دارد که می‌تواند در بین محصولات مختلف و مراحل رشدی متفاوت باشد (Akbari *et al.*, 2007). جوانه‌زنی بذر اولین مرحله رشد و نمو گیاه در طول چرخه زندگی گیاه است. بنابراین، توانایی جوانه‌زنی بالای محصولات در شرایط شوری برای رشد و نمو بعدی ضروری است. گزارش شده است که تنش شوری می‌تواند منجر به کاهش قابل‌توجهی در سرعت جوانه‌زنی شود، زیرا توانایی گیاهان برای جذب آب را کاهش می‌دهد و در نتیجه باعث مهار رشد و کاهش عملکرد می‌شود (Li *et al.*, 2020). جوانه‌زنی بذر یکی از مهمترین مراحل رشدی گیاهان به شمار می‌رود، زیرا این مرحله به‌طور مستقیم بر استقرار نسل بعدی گیاهان تأثیر می‌گذارد. جوانه‌زنی بذر فرآیندی پیچیده

قرار گرفتند تا به درجات فرسودگی ۸۵ درصد و ۷۵ درصد برسند (Delouche and Baskin, 1973).

برای تهیه محلول‌های شوری از کلرید سدیم (NaCl) استفاده گردید. محلول‌های مورد نظر در غلظت‌های صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار تهیه شد، در طول آزمایش درون شیشه‌های درب‌دار ننگه داری شدند. بعد از انجام کشت بذور، روزانه به میزان ۱ میکرولیتر از محلول به هر کاغذ صافی جهت اعمال تنش شوری اضافه گردید.

برای انجام آزمون رشد گیاهچه، تعداد ۲۵ بذر از هر تیمار به روش بین کاغذی درون ظروف یکبار مصرف کشت شد. سپس ظروف به درون ژرمیناتور مدل IKH.RI تنظیم شده با دمای ۲۵ درجه سلسیوس و ۸ ساعت روشنایی منتقل گردیدند. شمارش بذور جوانه‌زده به صورت روزانه و به مدت ۷ روز انجام گردید. معیار جوانه‌زنی یک بذر، رشد ریشه‌چه و خروج آن به میزان دو میلی‌متر از پوسته بذر در نظر گرفته شد (ISTA, 2007).

درصد جوانه‌زنی براساس رابطه زیر بدست آمد (ISTA, 2002).

(رابطه ۲)

$$GP = (Ni/N) \times 100$$

در این رابطه GP درصد جوانه‌زنی، Ni بذره‌های جوانه‌زده و N تعداد کل بذر است. برای اندازه‌گیری طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، در پایان روز هفتم کشت و پس از بازشدن کامل برگ‌های لپه‌ای، به وسیله خط‌کش میلی‌متری اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری میزان RWC مقدار ۰/۵ گرم از نمونه‌های برگ‌ها جدا بلافاصله با استفاده از ترازوی دقیق یک هزارم گرم توزین شدند. سپس نمونه‌ها در داخل لوله‌های آزمایش درب‌دار محتوی ۱۰۰ ml آب مقطر غوطه‌ور شدند و به مدت ۶ ساعت در محیط نسبتاً خشک و بدون نور نگهداری شدند. سپس برگ‌ها از لوله‌های آزمایش خارج و سریعاً با کاغذ خشک‌کن آب برگ‌ها خشک گردید و مجدداً با ترازوی یک هزارم گرم وزن تورگر آنها تعیین شد. سپس نمونه‌های برگ‌ها به داخل آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس منتقل شدند و پس از ۷۲ ساعت وزن خشک

پرایمینگ، جیبرلین، هورمون Gr24 (نوعی استریگولاکتون)، بنزیل آمینوپورین و اسپرمیدین برای افزایش جوانه‌زنی بذر کدو در شرایط تنش شوری و فرسودگی بذر استفاده شد. از آنجایی که ایران جز مناطق خشک و نیمه‌خشک است. بنابراین همواره تنش شوری اتفاق می‌افتد. به همین دلیل، یکی از مهمترین اهداف این بررسی، بهبود جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری بود. از دیگر اهداف این پژوهش افزایش جوانه‌زنی در بذره‌های فرسوده شده کدو بخصوص در شرایط نامطلوب بود. علاوه بر این مطالعات کمی در مورد استفاده از Gr24 و انواع پلی‌آمین‌ها برای افزایش جوانه‌زنی در بذره‌های کدو وجود دارد. بنابراین این پژوهش می‌تواند برای افزایش آگاهی در مورد تأثیر این تیمارها بر فرایند جوانه‌زنی، سیستم آنتی‌اکسیدانی و مکانیزم‌های تحمل به تنش در بذره‌های فرسوده و در شرایط تنش در بذره‌های کدو مفید باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال‌های ۹۷ و در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. تیمارها شامل سطوح مختلف فرسودگی بذر (بدون فرسودگی، ۸۵ و ۷۵ درصد جوانه‌زنی شاهد) و تنش شوری (صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار) و پرایمینگ (بدون پرایمینگ، هیدروپرایمینگ، هورمون پرایمینگ با جیبرلین، هورمون پرایمینگ با Gr24 (نوعی استریگولاکتون)، هورمون پرایمینگ با بنزیل آمینوپورین و پرایمینگ با اسپرمیدین) بودند. بذور به منظور اعمال پرایمینگ به مدت ۲۴ ساعت، در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و در غلظت ۱۰۰ میکرومولار تیمارهای پرایمینگ خیس‌انده شدند. برای تیمار شاهد از آب مقطر استفاده گردید.

بذره‌های کدو پوست کاغذی از شرکت پاکان بذر خریداری شدند و قوه نامیه آنها ۹۰ درصد بود. جهت ایجاد فرسودگی (پیری زودرس) توده‌های بذری در داخل آون با دمای ۴۰ درجه سلسیوس و رطوبت ۱۰۰ درصد به مدت ۵ و ۱۰ روز،

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسمیوتاز (SOD) به روش Giannopolitis و Ries (۱۹۷۷) انجام گردید. بافرهای مورد استفاده عبارتند از: بافر فسفات ۵۰ میلی مولار، حاوی EDTA ۰/۱ میلی مولار، متیونین ۱۳ mM و نیتروبولوترازولیوم ۷۵ μM در pH=۷، محلول ریبولوآوین ۰/۱۲ mM نمونه شاهد از ترکیب ۸۸۵ میکرولیتر بافر ۱۵+۱ میکرولیتر بافر ۱۰۰+۲ میکرولیتر بافر فسفات و نمونه بلانک از ترکیب ۸۸۵ میکرولیتر بافر ۱۵+۱ میکرولیتر بافر ۱۰۰+۲ میکرولیتر بافر فسفات همچنین نمونه آنزیمی از ترکیب ۸۸۵ میکرولیتر بافر ۱۵+۱ میکرولیتر بافر ۱۰۰+۲ میکرولیتر عصاره آنزیمی بدست آمد. میزان جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتری خوانده شد.

(رابطه ۵)

$$\text{Unit mg}^{-1} = 100 \cdot [\text{OD control} - \text{OD}] / \text{OD control} \times 100/50$$

میزان مالون دی آلدئید (MDA) طبق روش McCue و Shetty (۲۰۰۲) اندازه گیری شد. در لوله های آزمایش، ۲۰۰ میلی لیتر از بافت هموژن با ۸۰۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شد. ۵۰۰ میلی لیتر از تری کلرو استیک اسید ۲۰ درصد با ۱ ml از تیوباربتیریک اسید ۱۰ میلی مولار مخلوط شد. لوله های آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه در انکوباتور ۱۰۰°C قرار گرفتند. سپس، به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰ g سانتریفیوژ شدند. در روشناور حاصل برای اندازه گیری میزان MDA استفاده شد. مقدار جذب روشناور در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد.

اندازه گیری پروتئین دانه به روش Jung و همکاران ۲۰۰۳ صورت گرفت. در این روش ابتدا از آلای دانه ها با اضافه شدن اسید سولفوریک غلیظ و کاتالیزور به ۰/۵ گرم نمونه محاسبه گردیده و سپس به منظور بدست آوردن میزان پروتئین نمونه در عدد ۶/۲۵ ضرب گردید.

(رابطه ۶)

$$\text{Protein (\%)} = \% \text{ TN} \times 6.25$$

پروکلین به روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) اندازه گیری شد. ابتدا ۰/۰۲ گرم از بافت تر برگ لپه ای در محلول ۱۰۰ ml سه درصد اسید سولفوسالیسیلیک همگن سازی شد. ۲ ml از محلول فیلتر شده با ۲ ml از معرف نین هیدرین و ۲ ml اسید

برگ ها تعیین گردید. بدین ترتیب مقدار RWC با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Qasim et al., 2003).

(رابطه ۳)

$$\text{RWC} = (\text{FW} - \text{DW} / \text{TW} - \text{DW}) \times 100$$

در این رابطه FW بیانگر وزن تر، DW وزن خشک و TW

وزن در آماس کامل است.

با هدف اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت، گیاهچه ها در داخل فویل آلومینیومی قرار گرفته و به منظور استخراج عصاره آنزیمی در یخچال با دمای ۷±۰- درجه نگهداری شدند. برای استخراج عصاره آنزیمی، ابتدا ۰/۵ گرم نمونه از هر تیمار اندازه گیری شده و به وسیله هاون چینی توسط نیتروژن مایع همگن گردید سپس، ۵ میلی لیتر از بافر فسفات سرد (pH=۷/۵) حاوی ۰/۵ میلی مولار EDTA به هاون اضافه گردید. پس از آن، مایع همگن به اپندورف های ۲ میلی لیتری انتقال داده شده به مدت ۱۵ دقیقه و در ۱۵۰۰۰ g با دمای ۴°C سانتریفیوژ شدند. روشناور بدست آمده به سه قسمت تقسیم گردید تا از اثر مضر انجماد و ذوب متوالی نمونه ها جلوگیری شود و در نهایت تا زمان اندازه گیری آنزیم ها در دمای ۲۰°C نگهداری شدند (Sairam, 2002).

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) براساس روش Abi (۱۹۸۴) از برگ لپه ای اندازه گیری گردید. ۳ میلی لیتر کمپلکس واکنش، شامل ۰/۵ میلی لیتر پراکسید هیدروژن ۷/۵ میلی مولار، ۱/۵ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار (pH=۷) و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود تهیه گردید که با افزودن پراکسید هیدروژن واکنش آغاز گردید. فعالیت ویژه آنزیم در طول موج ۲۴۰ نانومتر توسط اسپکتوفتومتر اندازه گیری شد.

فعالیت آنزیم پراکسیداز (POX) طبق روش Kato و Shimizu (۱۹۸۷) انجام شد. در این روش محول آزمایش حاوی ۱۰۰ میلی مولار بافر سدیم فسفات (pH=۵/۸) و ۷/۲ میلی مولار گایاکول، ۱۱/۸ میلی مولار H₂O₂ و ۰/۱ میلی لیتر از عصاره آنزیمی بود. تغییرات جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و در طول موج ۴۷۰ نانومتر ثبت گردید.

(رابطه ۴)

$$\text{(Unit.mg}^{-1}\text{)} = \frac{\text{POX/min}}{13.3}$$

حاصل از املاح در غلظت‌های سمی، منجر به کاهش جوانه‌زنی و تأخیر در فرآیندهای آن می‌گردد (Patade et al., 2009). در پژوهش که (Kumar Srivastava et al., 2017) انجام داد مشخص شد که از دلایل کاهش جوانه‌زنی در اثر تنش شوری افزایش انواع اکسیژن فعال بخصوص H_2O_2 بود. با توجه به مشاهدات Ahmadloo و همکاران (۲۰۱۲) پیری بذر بر درصد جوانه‌زنی بذره‌های کاج بروسیا به‌طور معنی‌داری اثر داشت. با این وجود در این پژوهش تأثیرات مثبت پرایمینگ بذر بر ویژگی‌های جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری و فرسودگی بذر مشاهده شد که با نتایج (Kaya et al., 2006) در آفتابگردان (Kumar Srivastava et al., 2017) برنج و (سیادت و همکاران، ۱۳۹۰) ذرت مطابقت دارد. سیادت و همکاران (۱۳۹۰) اعلام کردند درصد جوانه‌زنی بذور ذرت که تحت تأثیر پیری قرار گرفته بودند با پرایمینگ جیبرلین بهبود یافتند. به‌نظر می‌رسد تیمار پرایمینگ نمی‌تواند طول عمر انبارداری را افزایش دهد. اما احتمالاً بر فرایندهایی مانند جوانه‌زنی مؤثر است و از کاهش آن جلوگیری می‌کند.

طول ریشه‌چه: اثر سطوح مختلف شوری، فرسودگی و پرایمینگ و نیز اثرات متقابل آنها بر تغییرات طول ریشه‌چه در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). طول ریشه‌چه در اثر فرسودگی بذر و تنش شوری کاهش یافت. کم‌ترین طول ریشه‌چه (۵/۸۴ سانتی‌متر) در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار و درجه فرسودگی ۷۵ درصد و در تیمار شاهد پرایمینگ بدست آمد بنابراین ۶۵/۳۱ درصد از طول ریشه‌چه نسبت به شاهد کاسته شده است. کاربرد پرایمینگ‌های مختلف موجب افزایش طول ریشه‌چه نسبت به شاهد شدند و همچنین از کاهش طول ریشه‌چه در اثر تنش شوری و فرسودگی جلوگیری کردند. به‌طوریکه بیشترین طول ریشه‌چه (۱۵/۷۳ سانتی‌متر) در تیمار با هورمون Gr24 و شرایط عدم تنش مشاهده شد که ۴/۱ درصد بیش از شاهد بود (جدول ۲). در این پژوهش هورمون Gr24 در شرایط نرمال و بذور زوال‌یافته منجر به افزایش طول ریشه‌چه گردید. درحالی‌که در شرایط توأم شدن تنش شوری با بذور فرسوده، هورمون بنزیل آمینوپورین منجر به تولید

استیک خالص ترکیب و ۶۴ ml تولوئن به آن اضافه شد. محلول تا تشکیل دو لایه ثابت نگه داشته شده و مقدار معینی از محلول رویی را برداشته شده میزان جذب آن در طول موج ۵۲۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد.

اندازه‌گیری کاروتنوئید توسط روش Bruisma (۱۹۶۳) انجام شد. ۱ گرم از برگ را جدا و به همراه ۱۵ cc استن همگن شد، سپس میزان جذب نور محلول با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۴۸۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر خوانده و با استفاده از فرمول زیر میزان کاروتنوئید تعیین گردید.

(رابطه ۷)

$$Car = A480 + [(0.114)(A663) - (0.638)(A645)]$$

تجزیه آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.4 و شکل‌ها به کمک نرم‌افزار Excel ترسیم شده‌اند. مقایسه میانگین تیمارها بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی: اثر سطوح مختلف شوری، فرسودگی و پرایمینگ و نیز اثرات متقابل آنها بر درصد جوانه‌زنی در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). شوری و فرسودگی موجب کاهش جوانه‌زنی در بذره‌های کدو شدند و اثر منفی آنها در زمانی شدت یافت که تنش شوری بر بذره‌های فرسوده اعمال شد. به‌طوریکه کم‌ترین درصد جوانه‌زنی (۳۰/۳۳) در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار، درجه فرسودگی ۷۵ درصد و در شرایط بدون پرایمینگ بود. با این وجود کاربرد انواع پرایمینگ موجب بهبود جوانه‌زنی نسبت به شاهد شدند. بیشترین درصد جوانه‌زنی بذور کدو پوست کاغذی (۹۸/۰۳) در تیمار با جیبرلین در شرایط بدون تنش (تنش شوری و فرسودگی) بدست آمد که اختلاف ۳۷/۴۸ درصدی با شاهد داشت. در شرایط یکسان تنش نیز اختلاف ۲۷/۲۶ درصدی بین بذور پرایم‌شده با جیبرلین و بدون پرایم وجود داشت (جدول ۲).

در این پژوهش مشاهده شد که افزایش غلظت تنش شوری موجب کاهش شدید جوانه‌زنی شد که با نتایج (Kumar Srivastava et al., 2017) در گیاه برنج همخوانی دارد. شوری

جدول ۱- تجزیه واریانس شاخص‌های جوانه‌زنی بذور پرایم‌شده کدو پوست کاغذی تحت تنش شوری، فرسودگی بذر

میانگین مربعات										
منابع تغییر	درجه آزادی	درصد طول ریشه- طول جوانه‌زنی		محتوی نسبی آب	کاتالاز	پراکسیداز	سوپراکسید مالون دی آلدهید	پروتئین	پرولین	کاروتنوئید
		چه	ساقه‌چه							
شوری	۲	۲۲۰۱۵**	۲۰۱۳**	۷/۹۳**	۱۳۰۲/۷**	۴۶۷۲/۸**	۲۲۶۸۰**	۲۴۱۶**	۸/۰۹**	۹۹/۵۷**
پرایمینگ	۵	۴۳۷/۴**	۸/۶۸**	۰/۶**	۳۱۰/۱۵**	۴۶۲/۹**	۱۱۶۲/۹**	۲۴/۴۸**	۵/۳۲**	۱/۴۲**
فرسودگی	۲	۵۴۱۳**	۲۲۰/۰۸**	۱۴۳/۸**	۱۳۰۲/۷**	۳۹۳۴/۷**	۳۲۹۹۲**	۲۴۷۳**	۱۴۸/۱**	۳۳/۴۵**
پرایمینگ×شوری	۱۰	۲۹/۹**	۰/۹۶**	۰/۰۲*	۱۷/۹۳**	۸/۲۸**	۸/۲۵**	۱/۶۱**	۰/۹**	۰/۲**
فرسودگی×شوری	۴	۲/۰۷**	۲۰/۱۴**	۰/۲۶**	۱۹/۴۵**	۲۷/۷۶**	۳۳۵/۳۲**	۸۰/۴۳**	۲۵/۳**	۰/۶**
پرایمینگ×فرسودگی	۱۰	۰/۶۲**	۰/۷۳**	۰/۰۱ ^{ns}	۰/۷۸**	۳/۲۶**	۱/۷۲**	۲/۰۷**	۰/۵۳**	۰/۰۰۷**
شوری×پرایمینگ×فرسودگی	۲۰	۱/۱۴**	۰/۶**	۰/۰۰۸ ^{ns}	۰/۷۹**	۱/۹*	۳/۰۸**	۰/۸**	۰/۸**	۰/۰۰۷**
خطا	۱۰۸	۰/۱۲	۰/۰۱	۰/۰۰۹	۰/۳۱	۱/۱۲	۰/۰۱۷	۰/۰۸	۰/۰۱	۰/۰۰۰۵
ضرب تغییرات		۰/۵۴	۰/۸۲	۳/۴۸	۰/۹۴	۱/۷۸	۱/۱۶	۰/۳۲	۴/۱۷	۲/۳۳

**،* و ns به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد، ۵ درصد و غیرمعنی‌داری را نشان می‌دهند.

جدول ۲- مقایسه میانگین شاخص‌های جوانه‌زنی بذور پرایم‌شده کدو پوست کاغذی تحت تنش شوری و فرسودگی

شوری	پرایمینگ	فرسودگی	طول جوانه‌زنی (سانتی متر)	محتوی نسبی آب (درصد)	کاتالاز (میکرومول بر دقیقه بر گرم پروتئین)	پراکسیداز (میلی مول بر گرم پروتئین)	سوپراکسید دیسموتاز (میلی مول بر گرم وزن تر)	مالون دی آلدهید (میلی مول بر گرم وزن تر)	پروتئین (میلی گرم بر (میلی گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر)	کاروتنوئید (میلی گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر)	شاهد
			۹۲/۳±۰/۲	۷۲/۴۸±۰/۶	۲۶/۶±۰/۳۱	۸۵/۱۷±۰/۳۵	۱۱۸/۶۷±۰/۳	۴/۴±۰/۰۳	۵/۲۴±۰/۱۲	۶/۲۶۲±۰/۰۱	شاهد
			۸۳/۴±۰/۲	۱۴/۰۳±۰/۰۲	۶۸/۲±۰/۸	۷۸/۹±۰/۳۱	۱۰۳/۱۲±۰/۵۵	۹/۳۱±۰/۰۳	۲/۶۶±۰/۰۶	۵/۸۴±۰/۱۰۲	شاهد
			۱۳/۵۴±۰/۰۲۷۱/۵۳±۰/۱۵	۶۵/۹±۰/۸	۲۱/۵۱±۰/۱	۶۶/۱۳±۰/۲۲	۷۶/۳۷±۰/۱۹	۱۵/۷۱±۰/۱۶	۱/۷۶±۰/۱۲	۴/۹۳±۰/۰۱۶	
			۱۵/۲۹/۴۶±۰/۱۵	۱۵/۳۵±۰/۰۲۹۴/۴۶±۰/۱۵	۷۵/۵±۰/۹	۲۸/۴۶±۰/۲۵	۸۹/۳۵±۰/۲۱	۱۲۲/۴±۰/۳	۴/۳۱±۰/۰۴	۶/۲۱±۰/۱۱	شاهد
			۸۴/۴±۰/۱	۱۴/۱۵±۰/۰۲	۷۱/۹۱±۰/۷	۲۶/۶۴±۰/۱۶	۸۳/۱۹±۰/۳۲	۱۰۵/۲±۰/۳۷	۸/۴۴±۰/۱۲	۵/۹۸۴±۰/۱۱۰	هیدروپرایمینگ
			۱۳/۷۲±۰/۰۴۷۵/۰۳±۰/۱۵	۶۶/۳±۱/۰۵	۲۴/۷±۰/۳۸	۷۱/۳±۰/۲۳	۸۱/۸±۰/۱۶	۱۳/۹±۰/۱۷	۱/۹۶±۰/۰۹	۵/۰۶۶±۰/۰۱۵	
			۹۸/۰۳±۰/۲	۱۵/۲۲±۰/۰۲	۷۷/۶۴±۱/۰۴	۳۰/۷±۰/۷۳	۹۲/۰۲±۰/۰۸	۱۲۵/۶±۰/۶	۴/۲۴±۰/۱۴	۹/۵۵±۰/۲	شاهد
			۸۹/۵±۰/۲۱	۱۵/۰۸±۰/۰۲	۷۳/۴±۰/۵۶	۲۷/۳±۰/۱۳	۸۵/۷±۰/۱۲	۱۰۸/۸±۰/۴	۷/۸۵±۰/۲۴	۶/۰۴۵±۰/۰۲۲	جیبرلین
			۱۳/۳۳±۰/۲۴	۱۳/۶۴±۰/۰۲۷۸/۳۳±۰/۲۴	۶۸/۰۲±۰/۷۲	۲۵/۱۹±۰/۱	۷۳/۹۳±۰/۱	۸۵/۶۲±۰/۵	۱۲/۵۶±۰/۱۳	۵/۱۲±۰/۰۰۵	
			۱۹۵/۹۳±۰/۲۷	۰۹۱۵/۷۳±۰/۰۱۹۵/۹۳±۰/۲۷	۷۹/۳۲±۱/۰۹	۲۷/۷±۰/۱۳	۸۸/۰۶±۰/۲۶	۱۲۱/۴±۰/۴۶	۴/۴۱±۰/۰۴	۸/۴۵±۰/۱۲	شاهد
			۸۷/۶±۰/۲۳	۰۴۸۱۴/۱۲±۰/۰۱	۷۵/۳۲±۰/۴۸	۲۵/۶۷±۰/۱	۸۱/۸±۰/۱۵	۱۰۳/۵۳±۰/۳	۸/۷۵±۰/۲۲	۵/۹۲۵±۰/۰۱۱	Gr24
			۲۷۷/۲۶±۰/۱۵	۱۳/۷۸±۰/۰۲۷۷/۲۶±۰/۱۵	۶۹/۲±۰/۳۵	۲۳/۱±۰/۲	۶۹/۳۶±۰/۱۱	۷۹/۶۳±۰/۲۸	۱۴/۲۹±۰/۱۴	۴/۹۹±۰/۰۲۶	
			۹۵/۰۳±۰/۲	۱۸۱۵/۵۲±۰/۰۱	۸۳/۰۱±۰/۱۸	۲۹/۰۲±۰/۲	۹۳/۲±۰/۱۴	۱۲۸/۱±۰/۳	۳/۹۴±۰/۰۳	۶/۲۴±۰/۰۱	شاهد
			۸۵/۱۳±۰/۲	۵۶۱۴/۳۴±۰/۰۱	۵۶/۱۶۷۸/۰۴±۰/۵۶	۲۵/۳۴±۰/۱۶	۸۷/۱۹±۰/۲	۱۱۳/۲۱±۰/۴۴	۵/۵۳±۰/۰۸	۶/۰۹±۰/۰۰۸	بنزیل
			۱۷۵/۷۶±۰/۱۵	۱۳/۸۷±۰/۰۱۷۵/۷۶±۰/۱۵	۷۰/۹۱±۰/۰۵	۲۲/۹۵±۰/۰۷	۷۶/۲±۰/۳۱	۸۹/۵±۰/۱۱	۱۰/۷۸±۰/۱۳	۵/۱۸±۰/۰۰۶	آمینوپورین
			۹۷/۳±۰/۲	۱۴/۶۲±۰/۰۱	۲۸۸۳/۶۴±۰/۷۴	۳۲/۲۶±۰/۲۸	۹۵/۷۱±۰/۱۸	۱۳۱/۶±۰/۳	۳/۷۵±۰/۱۲	۹/۲۲±۰/۰۳	شاهد
			۸۶/۵±۰/۱۷	۱۴/۲۷±۰/۰۲	۸۰/۴۷±۰/۷۵	۲۹/۳۷±۰/۱	۸۸/۰۱±۰/۰۲	۱۱۹/۱۴±۰/۳	۴/۹۳±۰/۲	۶/۱۵±۰/۰۰۷	اسپریمیدین
			۷۶/۴۳±۰/۰۵	۱۳/۸±۰/۰۴	۷۲/۸۵±۰/۶	۲۷/۰۹±۰/۲	۷۶/۳۴±۰/۲۱	۹۲/۱۸±۰/۴۱	۵/۹۵±۰/۲۶	۵/۲۶±۰/۰۰۹	
			۶۹/۹±۰/۳۲	۱۳/۱۴/۲۳±۰/۰۳	۲۴۵۰/۲۴±۰/۱۳	۳۰/۷۲±۰/۲۴۵۰/۲۴±۰/۱۳	۹۲/۵۷±۰/۲۱	۱۳۹/۱۸±۰/۹۴	۹/۰۳±۰/۲۲	۳/۶۹±۰/۸	شاهد

منجر به افزایش رشد طولی ریشه و بهبود وزن ریشه در گیاهان تحت تنش شوری شود (Wang et al., 2015).

طول ساقه‌چه: اثر سطوح مختلف شوری، فرسودگی و پرایمینگ و نیز اثرات متقابل شوری در پرایمینگ همچنین اثر متقابل شوری در فرسودگی بر تغییرات طول ساقه‌چه در سطح یک درصد معنی‌دار بود. اما اثر متقابل سطوح پرایمینگ در فرسودگی و نیز اثرات متقابل شوری در پرایمینگ در فرسودگی معنی‌دار نبود (جدول ۱). با توجه به نتایج (شکل ۱) طول ساقه‌چه به‌طور معنی‌داری در اثر تنش شوری و فرسودگی کاهش یافت. به‌طوریکه کم‌ترین طول ساقه‌چه (۰/۴۱ سانتی‌متر) در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار و درجه فرسودگی ۷۵ درصد در شرایط بدون پرایمینگ بدست آمد. طبق شکل ۲ پرایمینگ‌های مختلف موجب افزایش طول ساقه‌چه نسبت به شاهد شدند. اما بیشترین طول ساقه‌چه (۴/۲۶ سانتی‌متر) در پرایمینگ با Gr24 و در شرایط بدون تنش شوری و فرسودگی مشاهده شد. این در حالی بود که در شرایط تنش کاربرد پرایمینگ‌ها از کاهش طول ساقه‌چه جلوگیری کردند. به‌طوریکه کمترین طول ساقه‌چه (۳/۶۳ سانتی‌متر) در شرایط بدون پرایمینگ و تنش شدید (۱۵۰ میلی‌مولار) قابل مشاهده بود (شکل ۲).

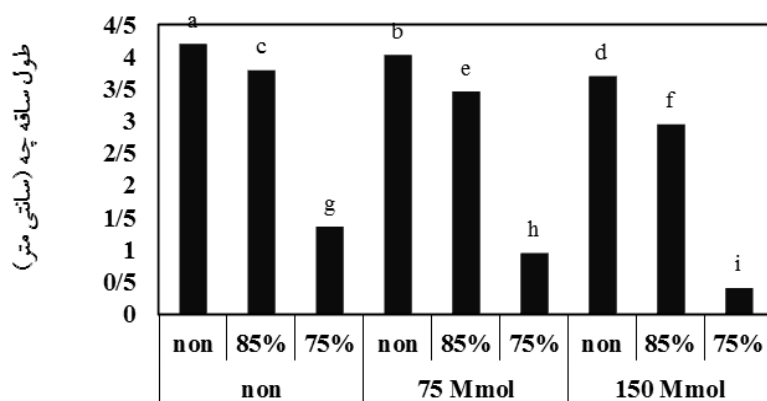
از مهمترین دلایل کاهش تولید گیاهچه‌های نرمال فرسودگی و تنش شوری است که در این پژوهش مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج این پژوهش نشان داد که طول ساقه‌چه به‌طور معنی‌داری در اثر فرسودگی و تنش شوری کاهش یافت که با نتایج سایر مطالعات در مورد کاهش طول ساقه‌چه در اثر تنش شوری بر کدو پوست کاغذی (Ambede et al., 2012) و فرسودگی در گیاهچه‌های هویج (Eisvand et al., 2011) و افرا (Aghabarati and Maralian, 2011) مطابقت دارد. از دلایل کاهش طول ساقه‌چه در شرایط تنش شوری، مختل شدن آنزیم‌های مؤثر در متابولیسم به‌دلیل اتصال یون‌ها به ساختمان مولکولی آنها (Yazdani Biuki, 2010) همچنین کاهش یا عدم انتقال مواد غذایی از لپه‌ها به جنین (کافی و همکاران، ۱۳۸۴) می‌توان اشاره کرد. از طرفی تنش موجب ایجاد تنش اکسیداتیو

اثر تنش شوری بر کدو پوست کاغذی (Kurum et al., 2013) و فرسودگی در گیاهچه‌های هویج (Eisvand et al., 2011) مطابقت دارد. کاهش رشد ریشه در اثر تنش شوری احتمالاً افزایش غلظت نمک‌های محلول در محیط رشد ریشه سبب منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی محیط و درنهایت کاهش جذب آب است که منجر به کاهش تقسیم و طویل‌شدن سلول‌ها در منطقه رشد می‌گردد (Manchanda and Garg, 2008).

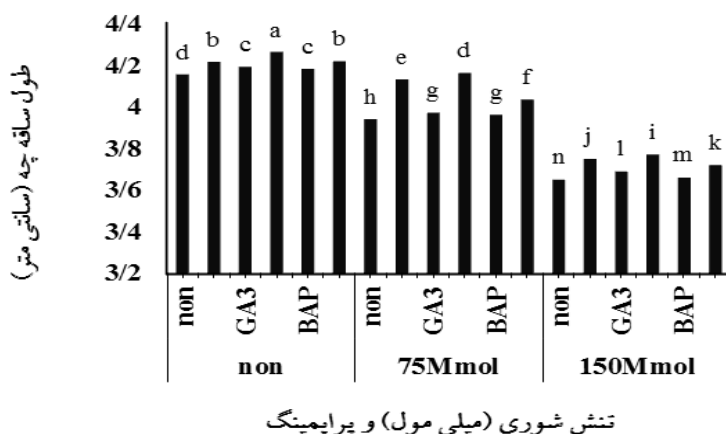
از آنجایی که بسیاری از آسیب‌های ناشی از تنش شوری از جمله کاهش وزن خشک و همچنین کاهش طول ریشه و ساقه ناشی از افزایش ROS است، بنابراین، افزایش پتانسیل سلول‌های گیاهی برای بهبود صدمات ناشی تنش شوری و H_2O_2 ضروری است (Krishna Paladi et al., 2021). علاوه بر این یکی از روش‌های کاهش اثرات منفی تنش اکسیداتیو کاربرد پرایمینگ می‌باشد (Krishna Paladi et al., 2021). کاربرد پرایمینگ با برخی از پلی‌آمین‌ها و هورمون‌ها می‌تواند تا حد زیادی به افزایش توانایی آنها در کاهش اکسیداسیون مرتبط باشد.

Gr24 یکی از انواع استریگولاکتون‌ها است که به‌صورت سنتتیک ساخته شده است. براساس سایر پژوهش‌ها این ماده می‌تواند در فرایندهای گیاهی مؤثر باشد به‌طوریکه مشاهده شده است تیمار بذور با Gr24 می‌تواند تحمل گیاهان را به شوری افزایش دهد (Kapulnik and Koltai, 2014). یکی از اثرات Gr24 افزایش قندهای محلول از جمله گلوکز و افزایش بیان تنظیم پروتئین کیناز است (Modi et al., 2017). پروتئین کیناز (Price et al., 2012) و قندهای محلول (Hao et al., 2021) تأثیر مهمی در تحمل به انواع تنش‌ها دارند. بنابراین احتمالاً Gr24 از طریق افزایش قندهای محلول و افزایش بیان پروتئین کیناز به افزایش تحمل به تنش شوری در بذورهای کدو کمک کرده است.

از طرفی کاربرد بنزیل آمینوپورین (نوعی هورمون سیتوکینین) به افزایش طول ریشه‌چه کمک کرد. برخی از پژوهشگران بیان کرده‌اند که استفاده از این هورمون می‌تواند



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف تنش شوری و فرسودگی بذر بر طول ساقه‌چه گیاه کدو پوست کاغذی در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه می‌باشند براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.



تنش شوری (میلی مول) و پرایمینگ

شکل ۲- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف تنش شوری و پرایمینگ بر طول ساقه‌چه گیاه کدو پوست کاغذی در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه می‌باشند براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

به انواع تنش‌ها دارند. بنابراین تیمار-کردن بذور با این هورمون می‌تواند نقش بسزایی را در افزایش رشد ساقه‌چه در شرایط تنش شوری داشته باشد.

RWC: اثر سطوح مختلف شوری، فرسودگی و پرایمینگ و نیز اثرات متقابل بین پرایمینگ، فرسودگی و شوری در سطح یک درصد بر میزان RWC معنی‌دار بود (جدول ۱). میزان RWC تحت تأثیر تنش شوری و فرسودگی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. به‌طوریکه کم‌ترین میزان RWC (۱۳/۱۹ درصد) در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار و درجه فرسودگی ۷۵ درصد بدست آمد و منجر به کاهش ۸۱/۸ درصد نسبت به بذور شاهد شد. از

بخصوص افزایش H_2O_2 می‌شود که اثرات تخریبی شدید دارند و از رشد گیاهچه جلوگیری می‌کنند (Krishna Paladi *et al.*, 2021). در این پژوهش مشاهده شد که کاربرد Gr24 موجب افزایش طول ساقه‌چه نسبت به سایر انواع پرایمینگ و شاهد در شرایط نرمال و تنش شوری شد. سایر پژوهشگران گزارش کردند که استریگولاکتون با تنظیم اکسین منجر به افزایش رشد اندام‌های هوایی می‌شود (Ferguson and Beveridge, 2009). همچنین با افزایش قندهای محلول و پروتئین کیناز همراه است (Modi *et al.*, 2017). پروتئین کیناز (Price *et al.*, 2012) و قندهای محلول (Hao *et al.*, 2021) نیز تأثیر مهمی در تحمل

طرفی کاربرد پرایمینگ‌های مختلف تواتست از تأثیر منفی تنش کاهش دهد و حتی در شرایط بدون تنش موجب افزایش RWC شود. به‌طوریکه بیشترین RWC (۸۳/۶۴ درصد) در پرایمینگ با اسپرمیدین و شرایط بدون تنش مشاهده شد (جدول ۲). پرایمینگ بذور با اسپرمیدین در شرایط تنش شوری با غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار، درجه فرسودگی ۷۵ درصد نسبت به شرایط عدم پرایمینگ بذور منجر به افزایش ۹۸/۱۸ درصدی محتوی نسبی آب گردید. کاهش محتوای نسبی و به‌دنبال آن افزایش کمبود آب اشباع برگ در شرایط تنش شوری در گیاهچه سورگوم (Sadeghi et al., 2010) و در بذور سویا تحت آزمون پیری تسریع شده (منصوری گندمانی و امیدی، ۱۳۹۶) گزارش شده است که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. به‌نظر می‌رسد که وجود نمک در محیط رشد گیاهچه‌های کدو باعث می‌شود گیاه برای جذب آب نیروی بیشتری صرف کند که این امر می‌تواند عامل تنش برای گیاه باشد. در سویا نیز تحت تنش اسمزی تیمار با اسپرمیدین باعث کاهش خسارات واردشده به‌واسطه تنش و افزایش محتوی آب نسبی گردید (Radhakrishnan and Lee, 2012). با توجه به نقش پلی‌آمین‌ها در تعدیل تنش‌ها، انتظار می‌رود که این هورمون از طریق کاهش خسارت‌ها منجر به افزایش پارامترهای مرتبط به RWC گشته و میزان آن را افزایش داده است.

فعالیت آنزیم CAT: اثر سطوح مختلف شوری، فرسودگی و پرایمینگ و نیز اثرات متقابل بین آنها بر میزان CAT در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). فعالیت آنزیم CAT تحت تأثیر تنش شوری و فرسودگی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. به‌طوریکه کم‌ترین میزان فعالیت CAT (۲۱/۵۱ میلی‌مولار بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین) در درجه فرسودگی ۷۵ درصد و در شرایط بدون تنش شوری و پرایمینگ بدست آمد که کاهش ۱۹/۳۷ درصدی را نسبت به شاهد را نشان داد. بیشترین میزان فعالیت CAT (۴۶/۵۸ میلی‌مول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین) در بذور فاقد فرسودگی، شوری ۱۵۰ میلی‌مول و در پرایمینگ با اسپرمیدین، مشاهده شد (جدول ۲).

همچنین در گیاهچه‌های بذور فرسوده با درجه ۷۵ درصد که در شرایط شاهد شوری قرار داشتند و با هورمون اسپرمیدین پیش‌تیمار شده بودند اختلاف ۲۵/۹۴ درصدی با بذور بدون پرایمینگ مشاهده شد. مطالعات نشان دادند که فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانتی در شرایط تنش شوری کدو تنبل افزایش یافته است (Sevengor et al., 2011). آنزیم CAT از دسته پروتئین‌های آهن‌دار محسوب می‌شود و هنگامی در سلول‌های گیاهی وارد عمل می‌شود که مقدار پراکسید هیدروژن در محیط زیاد باشد (Garratt et al., 2002). بنابراین طبیعی است که در هنگام وقوع تنش، برای پاکسازی ROSها و جلوگیری از خسارت احتمالی ناشی از آنها، مقدار آن افزایش یابد. در ارتباط با اثر فرسودگی بذور بر فعالیت آنزیم‌ها، گزارش‌های متعددی در خصوص کاهش فعالیت ویژه CAT وجود دارد (Seiadat et al., 2012; Sveinsdottir et al., 2009). کاهش فعالیت CAT در طول دوره فرسودگی را می‌توان به تخریب پروتئین‌ها و افزایش فعالیت فرم‌های فعال اکسیژن نسبت داد، واحد سازنده آنزیم، پروتئین‌ها هستند و با تخریب پروتئین‌ها طی فرسودگی به‌تبع آن فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کاهش می‌یابد. همچنین در بررسی بذور فرسوده گندم گزارش شده است پیری تسریع شده باعث کاهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز شد و پرایمینگ تا حدودی باعث بهبود این شاخص‌ها گردید (Ghasemi et al., 2014). نتایج این پژوهش نشان داد که کاربرد اسپرمیدین موجب افزایش فعالیت کاتالاز در شرایط تنش شوری شد که نشان می‌دهد اسپرمیدین در افزایش تحمل به تنش شوری موثر است. به‌طوریکه سایر پژوهشگران بیان کردند که پلی‌آمین‌ها ممکن است آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی را افزایش و تولید رادیکال‌های آزاد را کنترل نمایند و در نهایت باعث بهبود رشد گیاهچه‌های تحت تنش شوری گردند (Verma and Mishra, 2005).

فعالیت آنزیم POX: اثر سطوح مختلف شوری، فرسودگی و پرایمینگ و نیز اثرات متقابل بین آنها در سطح یک درصد و نیز اثر متقابل پرایمینگ در شوری در فرسودگی در سطح ۵

درصد بر میزان فعالیت POX معنی‌دار بود (جدول ۱). نشان داد فعالیت آنزیم POX تحت تأثیر تنش شوری و فرسودگی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. به‌طوری‌که کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم POX (۶۶/۱۳) میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین) در درجه فرسودگی ۷۵ درصد و در شرایط عدم پرایمینگ و تنش شوری محاسبه گردید. در مقایسه کم‌ترین میزان فعالیت این آنتی‌اکسیدانت با شرایط نرمال مشاهده می‌گردد که شرایط تنش منجر به کاهش ۲۲/۳۵ درصدی پراکسیداز گردیده است. بیشترین میزان POX (۱۱۶/۵۱) میلی‌مول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین) نیز در پرایمینگ با اسپرمیدین، شوری ۱۵۰ میلی‌مول و در بذور بدون فرسودگی بدست آمد (جدول ۲). پرایمینگ با هورمون اسپرمیدین منجر به افزایش ۱۵/۴۳ درصدی این آنتی‌اکسیدانت نسبت به عدم پرایمینگ گردید. افزایش آنزیم POX در اثر شوری توسط Levent و همکاران (۲۰۰۷) اشاره شده است. بررسی فعالیت پراکسیداز در جو نشان داد که فرسودگی باعث کاهش فعالیت این آنزیم می‌گردد (Tavakolafshari et al., 2009). یکی از مکانیزم‌های احتمالی پلی‌آمین‌ها در هنگام تنش‌ها در تولید نیتریک اکساید است که این ماده سبب کاهش رادیکال‌های آزاد و افزایش مقاومت گیاه به تنش‌ها می‌گردد (Nasibi et al., 2013). SOD موجب تولید پراکسید هیدروژن می‌گردد که در مراحل بعد به‌کمک POX یا CAT به آب تجزیه می‌شود. بنابراین افزایش فعالیت این آنزیم در شرایط تیمار با پلی‌آمین‌ها نشان از بهبود شرایط فیزیولوژیک بذرهای فرسوده دارد.

فعالیت آنزیم SOD: اثر سطوح مختلف شوری، فرسودگی و پرایمینگ و نیز اثرات متقابل آنها بر میزان تغییرات SOD در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). شوری و فرسودگی موجب افزایش فعالیت SOD در بذرهای کدو شدند. به‌طوری‌که کم‌ترین میزان فعالیت SOD (۷۶/۳۷) میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین) در شرایط بدون تنش شوری و بذور شاهد پرایمینگ در فرسودگی ۷۵ درصد مشاهده شد که اختلاف ۳۵/۶۴ درصدی با بذور شاهد داشت. از طرفی کاربرد پرایمینگ به افزایش فعالیت SOD کمک کرد. بیشترین میزان

(۱۸۵/۷۴) میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین) در شوری ۱۵۰ میلی‌مول، در پرایمینگ اسپرمیدین و در شرایط بدون فرسودگی بدست آمد (جدول ۲). در گیاهچه‌های بذور فرسوده با درجه ۷۵ درصد که در شرایط شاهد شوری قرار داشتند و با هورمون اسپرمیدین پیش‌تیمار شده بودند اختلاف ۲۰/۷ درصدی با بذور بدون پرایمینگ مشاهده شد. افزایش فعالیت آنزیم SOD طی تنش شوری اشاره شده است (Artha et al., 2008). کاهش فعالیت SOD در بذرهای فرسوده سویا گزارش شده است (Xia et al., 2014). کاربرد پلی‌آمین‌ها در بذور تحت تنش شوری، از پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری می‌کند (Tang and Newton, 2005). به‌نظر می‌رسد پلی‌آمین‌ها با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت از طریق کاهش میزان MDA و سلول‌ها، به گیاهان کمک می‌کند.

مقدار MDA: اثر سطوح مختلف شوری، فرسودگی و پرایمینگ و نیز اثرات متقابل بین آنها بر تغییرات MDA در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج نشان داد که شوری و فرسودگی موجب افزایش MDA در بذرهای کدو شدند درحالی‌که کاربرد پرایمینگ‌های مختلف از تأثیر منفی تنش کاست و موجب کاهش MDA شد. به‌طوری‌که کم‌ترین میزان MDA (۳/۷۵) میلی‌مول بر گرم وزن تر) در شرایط بدون تنش و در پرایمینگ با اسپرمیدین، بدست آمد که نسبت به شاهد ۱۴/۷۷ درصد بود و بیشترین میزان MDA (۳۱/۴۹) میلی‌مول بر گرم وزن تر) در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار و درجه فرسودگی ۷۵ درصد و در شرایط بدون پرایمینگ مشاهده گردید (جدول ۲). اعمال پرایمینگ اسپرمیدین این میزان را ۸/۴۷ درصد نسبت به شاهد کاهش داد.

با توجه به مشاهدات Bandooglu و همکاران (۲۰۰۴) شوری تولید MDA و تخریب غشای سلولی را در برگ‌های برنج افزایش می‌دهد. تنش شوری احتمالاً موجب اختلال در فرآیند انتقال الکترون شده و با تولید رادیکال‌های آزاد، موجب آسیب اکسیداتیو به غشاء و در نتیجه افزایش در مقدار پراکسیداسیون لیپیدها و تولید MDA گردیده است. افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و به‌تبع آن افزایش میزان MDA با

اسپرمیدین با از بین بردن رادیکال‌های فعال اکسیژن در کاهش تجزیه و افزایش بیوسنتز پروتئین نقش داشته است.

مقدار پرولین: با وجود اینکه اثر متقابل بین پرایمینگ، شوری و فرسودگی در مورد میزان پرولین معنی‌دار نشد اما اثر متقابل بین پرایمینگ، شوری و همچنین اثر متقابل شوری و فرسودگی بر میزان پرولین در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج نشان داد که میزان پرولین در شرایط بدون تنش کمتر بود و تنش شوری و فرسودگی و همچنین کاربرد پرایمینگ‌های مختلف موجب افزایش پرولین شدند. کم‌ترین میزان پرولین (۰/۵۵ میکرومول بر گرم وزن تر) در بذور شاهد (بدون تنش شوری و فرسودگی) بود (شکل ۳). بیشترین میزان پرولین ۱/۸۶۳ (میکرومول بر گرم وزن تر) در شرایط تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مول و پرایمینگ با هورمون اسپرمیدین اندازه‌گیری شد (شکل ۴).

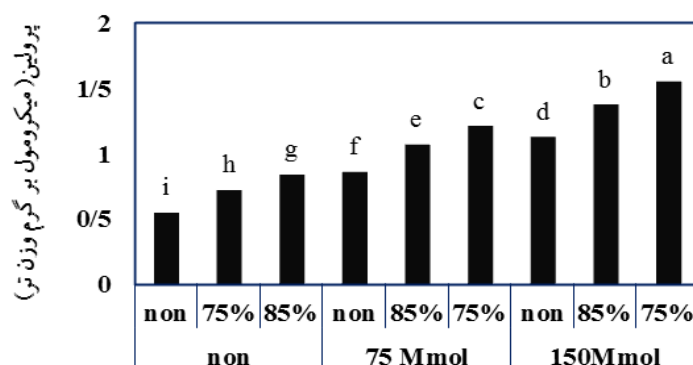
دلیل افزایش پرولین تحت تنش شوری را افزایش فعالیت آنزیم پرولین سنتتاز، یا کاهش اکسیداسیون آن به گلوتامات و یا کاهش دخالت آن در سنتز پروتئین گزارش شده است (Nasir Khan *et al.*, 2007). بذور کدو پوست کاغذی زمانی که دچار فرسودگی می‌گردند، نفوذپذیری انتخابی غشاهای سلولی از بین رفته در نتیجه، مواد سیتوپلاسمی داخل سلول به فضاهای بین سلولی نشت پیدا می‌کنند و به دلیل هیدرولیز فسفولیپیدهای غشا و اکسیداسیون خود به خود آنها غشا سلولی آسیب می‌بیند (قادری‌فر و همکاران، ۱۳۹۳). اثر اسپرمیدین در افزایش میزان پرولین در شرایط تنش شوری را به دلیل نقش حمایت‌کننده آن از پروتئین‌ها و آنزیم‌های دخیل در سنتز پرولین، حفظ فتوسنتز و تعدیل عناصر غذایی اشاره شده است (Wang *et al.*, 2009). می‌توان نتیجه‌گیری کرد که پرولین با قابلیت انحلال زیاد سبب تنظیم اسمزی و محافظت از ماکرومولکول‌ها در تنش شوری می‌گردد (Fiorillo *et al.*, 2020).

کاروتنوئید: اثر سطوح مختلف شوری، فرسودگی و پرایمینگ و اثرات متقابل آنها بر میزان کاروتنوئید در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). با توجه به نتایج، کاروتنوئید در

افزایش فرسودگی در سویا گزارش شده است (Xia *et al.*, 2014). نقش اسپرمیدین و اسپرمین در حفاظت از غشاها و ممانعت از نشت الکترولیت‌ها و اسیدهای آمینه در طی تنش شوری در گیاه جو دیده شده است (Liu *et al.*, 2006). بیان شده است که علت، کاهش اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد و حفاظت از غشا توسط پرایمینگ می‌باشد که بدین وسیله از صدمه اسیدهای چرب غیراشباع و کاهش نفوذپذیری غشا جلوگیری می‌کنند (Qi *et al.*, 2010). بنابراین علت کاهش پراکسیداسیون لیپیدها را می‌توان در نتیجه عملکرد پلی‌آمین‌ها در از بین بردن رادیکال‌های آزاد دانست.

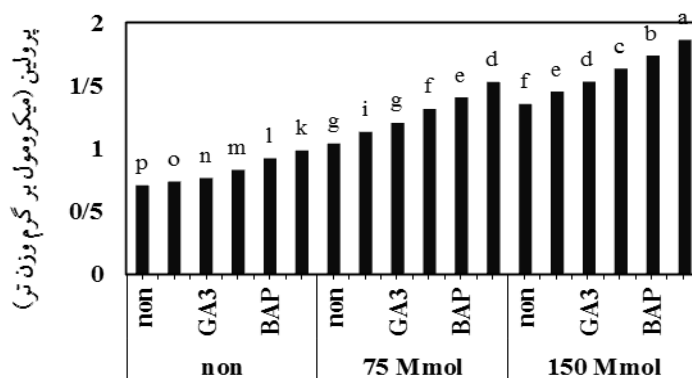
مقدار پروتئین: اثر سطوح مختلف شوری، فرسودگی و پرایمینگ و نیز اثرات متقابل آنها بر میزان پروتئین در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). کم‌ترین میزان پروتئین (۰/۳۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شرایط شوری با غلظت ۱۵۰ میلی‌مول و درجه فرسودگی ۷۵ درصد و بدون پرایمینگ بذور بدست آمد که نسبت به شاهد اختلاف ۹۳/۷ درصدی را نشان داد. بیشترین میزان (۹/۵۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شرایط عدم تنش شوری و فرسودگی و در پرایمینگ جیبرلین بدست آمد (جدول ۲). پیش‌تیمار با هورمون جیبرلین نیز کم‌ترین میزان پروتئین مشاهده شده در شرایط تنش را ۱۹۰/۹ درصد نسبت به شرایط بدون پرایمینگ افزایش داد.

شوری جوانه‌زنی و رشد گیاهچه را سرکوب کرده، سنتز پروتئین را مختل می‌کند (Farooq *et al.*, 2015). چنین به نظر می‌رسد که در شوری با غلظت بالا، به علت اختلال در ساختمان آنزیم و پروتئین‌ها، کاهش در میزان محتوای پروتئین رخ می‌دهد. متابولیسم پروتئین‌ها در بذره‌های فرسوده از طریق کربونیل‌دار کردن، جابه‌جایی پروتئین و تغییر ساختار فعال پروتئین به فرم غیرفعال، مختل و موجب از بین رفتن قدرت بذر می‌شود (Nigama, 2019). افزایش میزان پروتئین ناشی از اعمال پلی‌آمین می‌تواند به علت نقش این تنظیم‌کننده در نابودی رادیکال‌های آزاد و حفظ ماکرومولکول‌هایی نظیر DNA و پروتئین‌ها باشد (Groppa and Benavides, 2008). در نتیجه،



تنش شوری (میلی مول) و فرسودگی

شکل ۳- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف تنش شوری و فرسودگی بر میزان پرولین گیاه کدو پوست کاغذی. در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه می‌باشند براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.



تنش شوری (میلی مول) و پرایمینگ

شکل ۴- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف تنش شوری پرایمینگ بر میزان پرولین گیاه کدو پوست کاغذی. در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه می‌باشند براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

قرار داشتند، ۴۵/۴ درصد، میزان کاروتنوئید را نسبت به شرایط بدون پرایمینگ افزایش داد. کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوستتزی در شرایط تنش شوری می‌تواند به دلیل تخریب ساختمان کلروپلاست و دستگاه فتوستتزی، فتواکسیداسیون کلروفیل‌ها و ممانعت از بیوسنتز کلروفیل‌های جدید باشد (Sultan et al., 2001). از آنجایی که گیاه کدو پوست کاغذی جز گیاهان حساس به شوری طبقه‌بندی شده است، بنابراین کاهش محتوی کاروتنوئید در پتانسیل اسمزی بالا قابل توجیه است. پژوهشگران دریافتند که در شرایط تنش فرسودگی، کاهش رنگدانه‌های فتوستتزی و کاهش سرعت واکنش هیل، به علت

شرایط تنش شوری و فرسودگی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. با توجه به اینکه کاروتنوئیدها از عوامل تحمل به تنش هستند، کاربرد انواع پرایمینگ نیز به افزایش این ماده کمک کردند. کم‌ترین میزان کاروتنوئید (۱/۷۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار، درجه فرسودگی ۷۵ درصد و در شرایط بدون پرایمینگ بود که کاهش ۷۲/۲۴ درصدی نسبت به شاهد داشت. بیشترین میزان (۶/۲۸۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در پرایمینگ اسپرمیدین و در بذور شاهد (بدون تنش شوری و فرسودگی) بود (جدول ۲). پرایمینگ با اسپرمیدین در شرایطی که تنش شوری و فرسودگی در بالاترین حد خود

پرایمینگ موجب کاهش اثرات منفی تنش شوری و فرسودگی شدند. علاوه بر این در شرایط نرمال نیز به افزایش جوانه زنی کمک کردند. به طوریکه هورمون پرایمینگ با جیبرلین بیشتر از سایر تیمارها بر شرایط نامساعد غلبه کرد. همچنین مشاهده شد که Gr24 بیشتر از سایر انواع پرایمینگ به افزایش رشد و تحمل به تنش شوری و کاهش اثرات مخرب فرسودگی کمک کرد. همچنین اسپرمیدین در شرایط تنش و بدون تنش (شاهد) توانایی زیادی در بهبود جوانه زنی بذر داشتند. به نظر می رسد می توان در پژوهش بعدی از بهترین نتایج این آزمایش برای کوتینگ بذر استفاده کرد.

تجزیه کلروپلاست، کاهش سنتز کلروفیل و کاهش تعداد پلاستیدها است (Heba and Samia, 2014). کاهش محتوی رنگدانه ها در اثر تنش و جبران و افزایش محتوی آنها در اثر کاربرد تیمارهای پرایمینگ در مطالعات دیگر نیز گزارش شده است (Hussain et al., 2017; Shahverdi et al., 2017).

نتیجه گیری

مهم ترین هدف این پژوهش بررسی تأثیر متقابل تنش شوری و فرسودگی بر جوانه زنی بذر و بهبود شرایط از طریق پرایمینگ با مواد مختلف بود. با توجه به نتایج بدست آمده تنش شوری و فرسودگی موجب کاهش شدید جوانه زنی و صفات فیزیولوژیک در بذرهای کدو شدند. با این وجود کاربرد انواع

منابع

- سیادت، ع.، شرفی زاده، م. و موسوی، س. ا. (۱۳۹۰) اثر هورمون پرایمینگ بر کاهش فرسودگی بذر ذرت. فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی گیاهان زراعی ۳: ۸۵-۶۷.
- قادری فر، ف.، سلطانی ا. و صادقی پور، ح. ر. (۱۳۹۳) تغییرات بیوشیمیایی طی زوال بذرهای کدوی تخم کاغذی، پراکسیداسیون لپیدی و صدمات غشا. زیست شناسی گیاهی ایران ۶: ۱۱۲-۹۶.
- کافی، م.، نظامی، ا.، حسینی، ح. و معصومی، ع. (۱۳۸۴) اثرات فیزیولوژیک تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلایکول بر جوانه زنی ژنوتیپ های عدس. مجله پژوهش های زراعی ایران ۳: ۷۹-۶۹.
- منصوری گندمانی، و. و امید، ح. (۱۳۹۶) اثر نانو ذره های دی اکسید سیلیس (SiO₂) بر بهبود جوانه زنی بذور سویا رقم ویلامز تحت آزمون پیری تسریع شده. نشریه علوم و فناوری بذر ایران ۶: ۳۰۲-۱۶۲.
- Abi, H. (1984) Catalase in vitro. Method of Enzymology 105: 121-126.
- Acharya, P., Jayaprakasha, G. K., Crosby, K. M., Jifon, J. L. and Patil, B. S. (2020) Nanoparticle-mediated seed priming improves germination, growth, yield, and quality of watermelons (*Citrullus lanatus*) at multi-locations in Texas. Scientific Reports 10: 1-16.
- Aghabarati, A. and Maralian, H. (2011) The effect of seed deterioration on germination and vigor of maple *Acer cineracens* Boiss. Quarterly Journal of Natural Ecosystems Iran 2: 25-35.
- Ahmadloo, F., Tabari, M. and Behtari, B. (2012) Effect of water stress and accelerated ageing on some physiological characteristics of *Pinus brutia* Ten. seeds. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 19: 345-358.
- Akbari, G., Sanavy, S. A. and Yousefzadeh, S. (2007) Effect of auxin and salt stress (NaCl) on seed germination of wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). Pakistan Journal of Biology Science 10: 2557-2561.
- Ambede, J. G., Netondo, G. W., Mwai, G. N. and Musyimi, D. M. (2012) NaCl salinity affects germination, growth, physiology, and biochemistry of bambara groundnut. Brazilian Journal of Plant Physiology 24: 151-160.
- Bandeoglu, E., Eyidogan, F., Yucel, M. and Oktem, H. A. (2004) Antioxidant response of shoots and roots of lentil to NaCl salinity stress. Plant Growth Regulation 42: 69-77.
- Bates, L. S., Waldern, R. P. and Tear, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil Science 39: 205-207.
- Bimurzayev, N., Sari, H., Kurunc, A., Hayri Doganay, K. and Asmamaw, A. (2021) Effects of diferent salt sources and salinity levels on emergence and seedling growth of faba bean genotypes. Scientific Reports 11: 18198.
- Bruisma, J. (1963) The quantitative analysis of chlorophyll a and b in plant extract. Journal of Photochemistry and Photobiology 12: 241-249.

- De Figueiredo, E., Albuquerque, M. C. and De Carvalho, N. M. (2003) Effect of the type of environmental stress on the emergence of sunflower (*Helianthus annuus* L.), soybean (*Glycine max* L.) and maize (*Zea mays* L.) seeds with different levels of vigor. *Seed Science and Technology* 31: 465-479.
- Delouche, J. C. and Baskin, C. C. (1973) Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. *Seed Science and Technology* 1: 427-452.
- Eisvand, H. R., Shahrosvand, S., Zahedi, B., Heidari, S. and Afrougeheh, S. H. (2011) Effects of hydro-priming and hormonal priming by gibberellin and salicylic acid on seed and seedling quality of carrot (*Daucus carota* var sativus). *Iranian Journal of Plant Physiology* 1: 233-239.
- Farooq, M., Hussain, M., Wakeel, A. and Siddique, K. H. M. (2015) Salt stress in maize: Effects, resistance mechanisms, and management. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 35: 461-481.
- Ferguson, B. J. and Beveridge, C. A. (2009) Roles for auxin, cytokinin, and strigolactone in regulating shoot branching. *Plant Physiology* 149: 1929-1944.
- Fiorillo, A., Mattei, M., Aducci, P., Visconti, S. and Camoni, L. (2020) The salt tolerance related protein (STRP) mediates cold stress responses and abscisic acid signalling in *Arabidopsis thaliana*. *Frontiers in Plant Science* 11: 1251.
- Garratt, L. C., Janagoudar, B. S., Lowe, K. C., Anthony, P., Power, B. J. and Davey, M. R. (2002) Salinity tolerance and antioxidant status in cotton cultures. *Free Radical Biology and Medicine* 33: 502-511.
- Ghasemi, E., Goodarziyan Ghahfarokhi, M., Darvishi, B. and Heidari, Z. (2014) The effect of hydropriming on germination characteristics, seedling growth and antioxidant activity of accelerated aging wheat seeds. *Cercetari Agronomice in Moldova* 4: 41-48.
- Giannopolitis, C. N. and Ries, S. K. (1977) Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. *Journal Plant Physiology* 59: 309-314.
- Groppa, M. D. and Benavides, M. P. (2008) Polyamines and abiotic stress: recent advances Review Article *Amino Acids* 34: 35-45.
- Han, X., Fangwen, Y., Zhao, Y., Chen, H., Wan, Z., Li, L., Sun, L., Liu, L., Jiao, C., Liu, C. and Sha, A. (2021) iTRAQ based protein profile analysis revealed key proteins involved in regulation of drought-tolerance during seed germination in Adzuki bean. *Scientific Report* 11: 23725
- Hanson, B. R., Grattan, S. R. and Fulton, A. (2006) Agricultural salinity and drainage. Division of agriculture and natural resources publication 3375. Department of Land, Air and Water Resources, University of California.
- Hao, S., Wang, Y., Yan, Y., Liu, Y., Wang, J. Chen, S. (2021) A review on plant responses to salt stress and their mechanisms of salt resistance. *Horticulturae* 7: 132.
- Heba, I. and Samia, M. (2014) Influence of garlic extract on enzymatic and non enzymatic antioxidants in soybean plants grown under drought stress. *Life Science Journal* 11: 46-58.
- Hussain, M., Farooq, M. and Lee, D. J. (2017) Evaluating the role of seed priming in improving drought tolerance of pigmented and non-pigmented rice. *Journal of Agronomy and Crop Science* 203: 269-276.
- Hussain, S., Zheng, M., Khan, F., Khaliq, A., Fahad, S., Peng, S., Huang, J., Cui, K. and Nie, L. (2015) Benefits of rice seed priming are offset permanently by prolonged storage and the storage conditions. *Science Report* 5: 8101.
- ISTA (2002) International rules of seed testing. *Seed Science and Technology* 20: 53-55.
- ISTA (2007) International rules for seed testing. *Seed Science Technology* 13: 299-520.
- Jung, S., Rickert, D. A., Deak, N. A., Aldin, E. D., Recknor, J., Johnson, L. A. and Murphy, P. A. (2003) Comparison of Kjeldahl and Dumas methods for determining protein contents of soybean products. *JAOCS* 80: 1169-1174.
- Kapulnik, Y. and Koltai, H. (2014) Strigolactone involvement in root development, response to abiotic stress, and interactions with the biotic soil environment. *Plant Physiology* 166: 560-569.
- Kato, M. and Shimizu, S. (1987) Chlorophyll metabolism in higher plant, VII. Chlorophyll degradation in senescing tobacco leaves: Phenolic dependent peroxidative degradation. *Canadian Journal of Botany* 65: 729-735.
- Kaya, M. D., Okcu, G., Atak, M., Cikili, Y. and Kolsarici, O. (2006) Seed treatment to overcome salt and drought stress during germination in sunflower. *European Journal of Agronomy* 24: 291-295.
- Krishna, M., Paladi, R., Kumar Srivastava, A. and Suprasanna, P. (2021) Thiourea and hydrogen peroxide priming improved K⁺ retention and source-sink relationship for mitigating salt stress in rice. *Scientific Report* 11: 3000.
- Kumar Srivastava, A., Sablok, G. and Suprasanna, P. (2017) Thiourea priming enhances salt tolerance through coordinated regulation of microRNAs and hormones in *Brassica juncea*. *Scientific Report* 7: 1-15.
- Kurum, R., Ulukapi, K., Aydinsakir, K. and Onus, A. N. (2013) The influence of salinity on seedling growth of some pumpkin varieties used as rootstock. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 41: 219-225.
- Levent, T., Kaya, C., Dikilitas, M. and Higgs, D. (2007) The combined effects of gibberellic acid and salinity on some antioxidant enzyme activities, plant growth parameters and nutritional status in maize plants. *Environmental and Experimental Botany* 62: 1-9.
- Li, W., Zhang, H., Zeng, Y., Xiang, L., Lei, Z., Huang, Q., Li, T., Fei, S. and Cheng, Q. (2020) A salt tolerance evaluation method for sunflower (*Helianthus annuus* L.) at the seed germination stage. *Scientific Reports* 10: 10626.

- Liu, H., Li, F. and Jia, Y. (2006) Effects of shoot removal and soil water content on root respiration of spring wheat and soybean. *Environmental and Experimental Botany* 56: 28-35.
- Makai, S. and Balatincz, J. (2009) Comparative examination of biologically active compounds of fatty oils medical alternativ herbs. Separated by cold-moulding. Pannon University of Agricultural Sciences, Mosonmagyarovar, Hungary 125-142.
- Manchanda, G. and Garg, N. (2008) Salinity and its effects on the functional biology of legumes. *Acta Physiologica Plant* 30: 595-618.
- Marthandan, V., Geetha, R., Kumutha, K., Vellaichamy Gandhimeyyan, R., Adhimoolam, K. and Ramalingam, J. (2020) Seed priming: A feasible strategy to enhance drought tolerance in crop plants. *International Journal of Molecular Sciences* 21: 1-23.
- McCue, P. and Shetty, K. (2002) A biochemical analysis of mungbean response to microbial polysaccharides and potential phenolicenhancing effect for nutraceutical applications. *Food Biotech* 16: 57-79.
- Modi, S., Yaluri, N., Kokkola, T. and Laakso, M. (2017) Plant-derived compounds strigolactone GR24 and pinosylvin activate SIRT1 and enhance glucose uptake in rat skeletal muscle cells. *Scientific Report* 7: 17606.
- Nasibi, F., Heidari, T., Asrar, Z. and Mansoori, H. (2013) Effect of arginine pre-treatment on nickel accumulation and alleviation of the oxidative stress in *Hyoscyamus niger*. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 13: 680-689.
- Nasir Khan, M., Siddiqui, M. H., Mohammad, F., Masroor, M., Khan, A. and Naeem, M. (2007) Salinity induced change in growth, enzyme activites, photosynthesis, proline accumulation and yield in linseed genotypes. *World Journal of Agricultural Sciences* 3: 685-695.
- Nigama, M., Abhay, P. M., Salehi, B., Manoj, K., Sahrifi-Rade, M., Coviellof, E., Iritig, M. and Sharifi-Radh, J. (2019) Accelerated ageing induces physiological and biochemical changes in tomato seeds involving MAPK pathways. *Scientia Horticulturae* 248: 20-28.
- Patade, V. Y., Bhargava, S. and Suprasanna, P. (2009) Halopriming imparts tolerance to salt and PEG induced drought stress in Sugarcane. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 134: 24-28.
- Price, N. L., Gomes, A. P., Ling, A. J., Duarte, F. V., Martin-Montalvo, A., North, B. J., Agarwal, B., Ye, L., Ramadori, G., Teodoro, J. S., Hubbard, P., Varela, A. T., Davis, J. G., Varamini, B., Hafner, A., Moaddel, R., Rolo, A. P., Coppari, R., Palmeira, C. M., de Cabo, R., Baur, J. A. and Sinclair, D. A. (2012) SIRT1 is required for AMPK activation and the beneficial effects of resveratrol on mitochondrial function. *Cell Metabolism* 15: 675-90.
- Qasim, M., Ashraf, M., Ashraf, M. Y., Rehman, S. U. and Rha, E. S. (2003) Salt-induced changes in two canola cultivars differing in salt tolerance. *Biologia Plantarum* 64: 629-632.
- Qi, F. G., Wang, H. and Liu, X. (2010) Effect of MeJA on contents of endogenous hormones in wheat seedling under cold stress. *Plant Physiology Communications* 46: 1155-1158.
- Radhakrishnan, R. and Lee, I. J. (2012) Spermine promotes acclimation to osmotic stress by modifying antioxidant, abscisic acid and jasmonic acid signals in soybean. *Journal of Plant Growth Regul* 32: 22-30.
- Sairam, R. K., Rao, K. V. and Srivastava, G. C. (2002) Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyteconcentration. *Plant Science* 163: 1037-1046.
- Sedeghi, M., Nemati, A. and Esmailpour, B. (2010) Effect of seed priming on germination and seedling growth of two medicinal plants under salinity. *Emirates Journal of Food and Agriculture* 22: 130-139.
- Seiadat, S. A., Moosavi, A. and Sharafizadeh, M. (2012) Effect of seed priming on antioxidant activity and germination characteristics of Maize seeds under different aging treatments. *Research Journal of Seed Science* 5: 51-62.
- Sevengor, S., Yasar, F., Kusvuran, S. and Ellialtioglu, S. (2011) The effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidative enzymes of pumpkin seedlings. *African Journal of Agricultural Research* 6: 4920-4924.
- Shahverdi, M. A., Omid, H. and Tabatabaei, S. J. (2017) Effect of nutri-priming on germination indices and physiological characteristics of Stevia seedling under salinity stress. *Journal of Seed Science* 39: 353-362.
- Sveinsdottir, H., Yan, F. and Zhu, Y. (2009) Seed ageing-induced inhibition of germination and postgermination root growth is related to lower activity of plasma membrane H⁺-ATPase in maize roots. *Journal of Plant Physiology* 166: 128-135.
- Sultan, A. (2005) Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. *Environmental and Experimental Botany* 42: 211-220.
- Tan, L., Chen, S., Wang, T. and Dai, S. (2013) Proteomic insights into seed germination in response to environmental factors. *Proteomics* 13: 1850-1870.
- Tang, W. and Newton, J. R. (2005) Polyamines reduced salt induced oxidative damage by increasing the activities of antioxidant enzymes and decreasing lipid peroxidation in *Virginia pine*. *Plant Growth Regulation* 46: 31-43.
- TavakolAfshari, R. S., Rashidi, S. and Alizadeh, H. (2009) Effects of seed aging on germination characteristics and on catalase and peroxidase activities in two canola cultivars (*Brassica napus* L.). *Iranian Journal of Field Crop Science* 40: 125-133.

- Verma, S. and Mishra, S. N. (2005) Putrescine alleviation of growth in salt stressed *Brassica juncea* by inducing antioxidative defense system. *Journal of Plant Physiology* 162: 669-77.
- Wang, W. B., Kim, Y. H., Lee, H. S., Kim, K. Y. and Kwask, S. S. (2009) Analysis of antioxidant enzymes activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. *Plant Physiology and Biochemistry* 47: 570-577.
- Wang, Y., Shen, W., Chan, Z. H. and Wu, Y. (2015) Endogenous cytokinin overproduction modulates ROS homeostasis and decreases salt stress resistance in *Arabidopsis thaliana*. *Frontiers in Plant Science* 6: 1004.
- Xia, X., Tian, Q., Yin, G., Chen, X., Zhang, J., Ng, S. and Lu, X. (2014) Reduced mitochondrial and ascorbate-glutathione activity after artificial ageing in soybean seed. *Journal of Plant Physiology* 171: 140-147.
- Yazdani Biuki, R., Rezvani Moghaddam, P., Khazaie, H. R. and Astarai, A. R. (2010) Qualitative and qualitative characteristics of milk thistle (*Silybum marianum* L.) in response to organic, biological and chemical fertilizers. *Agroecology Journal* 2: 548.
- Zhang, N., Zhang, H. J., Sun, Q. Q., Cao, Y. Y., Li, X., Zhao, B., Wu, P. and Guo, Y. D. (2017) Proteomic analysis reveals a role of melatonin in promoting cucumber seed germination under high salinity by regulating energy production. *Scientific Reports* 7: 1-15.

Effect of priming on germination indices of deteriorated seeds of pumpkin (*Cucurbita pepo*) in salinity conditions

Parisa Sheikhnavaaz Jahed, Mohammad Sedghi*, Raouf Seyed Sharifi and Omid Sofalian

Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources,
University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil
(Received: 04/11/2021, Accepted: 05/04/2022)

Abstract

In order to investigate the effect of priming on germination characteristics of aged pumpkin seeds, under salinity stress an experiment was performed as a factorial design in a completely randomized design with 4 replications. Experiment was done in the Seed Science and Technology Laboratory of the Faculty of Agriculture and Natural Resources, Mohaghegh Ardabili University. Treatments included seed deterioration (control, 85% and 75%), salinity stress (zero, 75 and 150 mM), and priming (control, hydropriming, gibberellin, Gr24, benzyl-aminopurine, and spermidine). The results showed that salinity stress and seed deterioration reduced germination percentage, root length, stem length, relative water content (RWC), protein and carotenoids so that salinity treatment of 150 mmol, degree of 75 % seed deterioration showed the lowest percentage of these traits. Also, the activity of CAT, POX and SOD due to seed deterioration was 75% lower than other treatments. While priming with spermidine was able to significantly increase the amount of these enzymes in conditions of high salinity MDA, which is one of the most important results of stress, decreased under salinity stress and aging, but seed priming decreased MDA sharply, especially in priming with spermidine. In addition, seed priming was able to significantly reduce the effects of salinity stress and seed deterioration so that the percentage of germination and protein in increased gibberellin priming, root and shoot length in priming with Gr24, as well, and RWC and carotenoids in priming Spermidine. Salinity stress applied on deteriorated seeds led to disruption and reduction in physiological traits, while seed priming by different methods led to a reduction and improvement of adverse stresses.

Keywords: Gibberellin, Gr24, Malondialdehyde, Strigolactone

Corresponding author, Email: m_sedghi@uma.ac.ir