

## اثر پرایمینگ با استفاده از ترکیبات مختلف بر شاخص‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در گیاهچه همیشه‌بهار (*Calendula officinalis*) تحت تنش شوری

هانیه سعادت<sup>۱</sup> و محمد صدقی<sup>۲\*</sup>

<sup>۱</sup> اکولوژی گیاهان زراعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

<sup>۲</sup> گروه تولید و ژنتیک گیاهی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۲۱، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۳/۰۷/۲۴)

### چکیده

به منظور بررسی اثر پرایمینگ بر شاخص‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در گیاهچه همیشه‌بهار تحت تنش شوری آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل چهار سطح شوری (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) و چهار سطح پرایمینگ (شاهد (آب‌مقطر)، پرایمینگ با اسید سالیسیلیک (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، جیبرلین (۲۰ میلی‌گرم در لیتر) و کیتوزان (۰/۸ درصد وزنی-حجمی که در اسید استیک یک درصد حل شده بود) بود. نتایج نشان داد که درصد جوانه‌زنی، طول گیاهچه، ضریب آلومتری و شاخص وزنی بینه گیاهچه به ترتیب در حدود ۲۱، ۳۷، ۱۷ و ۴۳ درصد نسبت به شاهد شوری کاهش نشان داد، ولی پرایمینگ بذر با اسید سالیسیلیک، جیبرلین به‌ویژه کیتوزان این صفات را بهبود بخشید. کمترین سرعت جوانه‌زنی روزانه در پرایمینگ با اسید سالیسیلیک و جیبرلین به‌خصوص پرایمینگ با کیتوزان و میانگین مدت جوانه‌زنی در پرایمینگ با کیتوزان و بدون شوری حاصل شد. سرعت جوانه‌زنی و شاخص طولی بینه گیاهچه در پرایمینگ با کیتوزان و بدون شوری به ترتیب ۷۵ و ۷۳ درصد نسبت به شاهد و شوری ۱۵۰ میلی‌مولار افزایش نشان دادند. فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در پرایمینگ با کیتوزان به ترتیب در حدود ۱۸ و ۱۵ درصد نسبت به شاهد (آب‌مقطر) افزایش نشان دادند، این افزایش برای تیمار اسید سالیسیلیک در کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در حدود ۴ درصد بود. همچنین، فعالیت آنزیم پراکسیداز در پرایمینگ با کیتوزان و شوری ۱۵۰ میلی‌مولار حدود ۳۲ درصد نسبت به شاهد (آب‌مقطر) و شوری ۵۰ میلی‌مولار بیشتر بود. نتایج نشان داد که تیمار بذر با اسید سالیسیلیک، جیبرلین و به‌ویژه کیتوزان با تحریک آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد می‌تواند اثرات مضر شوری بر برخی صفات در گیاهچه همیشه‌بهار را کاهش داده و رشد گیاهچه را بهبود بخشد. بنابراین، از آنجا که بذرها همیشه‌بهار ضعیف هستند و قدرت جوانه‌زنی کمی دارند، کاربرد کیتوزان ۰/۸ درصد گزینه مناسبی برای بهبود جوانه‌زنی و رشد گیاهچه این گیاه است.

واژه‌های کلیدی: اسید سالیسیلیک، پرایمینگ، جیبرلین، کیتوزان، همیشه‌بهار

### مقدمه

بین مناطق دریای مدیترانه، مصر و اروپای مرکزی گسترش می‌یابد (Paniagua-Zambrana et al., 2020). این گیاه گل‌های زرد تا نارنجی تولید می‌کند و در عرض ۵-۸ روز از بذرها در

گیاه همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) گیاهی دارویی و یک‌ساله متعلق به تیره کاسنی است. منطقه بومی گل همیشه‌بهار

\* نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: [m\\_sedghi@uma.ac.ir](mailto:m_sedghi@uma.ac.ir)

Fard et al., 2024). سطح بالای سدیم و کلر باعث عدم تعادل یونی و تنش اسمزی می‌شود که بر مورفولوژی گیاه، تولید زیست‌توده و صفات بیوشیمیایی تأثیر منفی می‌گذارد. گیاهان مختلف دارای سازوکار تطبیقی برای غلبه بر تنش نمک با جذب یون‌های سدیم در واکنش از طریق تنظیم اسمزی هستند (Rahneshan et al., 2018).

قرارگرفتن در معرض پرایمینگ بذر یکی از راهبردهایی است که برای سرعت بخشیدن به فعال‌شدن رشد گیاهچه، به ویژه جوانه‌زنی بذر در بسیاری از محصولات زراعی استفاده می‌شود. پرایمینگ بذر به عنوان یک روش سریع، آسان، کم هزینه و مؤثر برای بهبود جوانه‌زنی، پارامترهای مربوط به رشد گیاهچه، و دفاع گیاهچه در برابر تنش‌های غیر زنده در بسیاری از محصولات زراعی مهم است (Savvides et al., 2016; Iqbal et al., 2020). پرایمینگ، تیمار بذر قبل از کاشت تعریف می‌شود، که بذر را به طور کامل در آب یا محلول هر گونه عوامل شیمیایی (مانند تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه، کیتوزان و غیره) غوطه‌ور می‌شوند و سپس دوباره به سطح رطوبت اولیه خشک می‌شوند (Savvides et al., 2016; Iqbal et al., 2020; Imran et al., 2020). بسته به نوع عامل شیمیایی، روش‌های پرایمینگ بذر به عنوان هیدروپرایمینگ، هورمون پرایمینگ، اسموپرایمینگ و غیره طبقه‌بندی می‌شوند (Mondal and Bose, 2021). هیدرو پرایمینگ یا خیساندن بذر در آب ساده‌ترین، دوستدار محیط‌زیست و مقرون به صرفه‌ترین روش پرایمینگ بذر است (Catiempo et al., 2021). هورمون پرایمینگ یکی از روش‌های پرایمینگ رایج است که در آن بذر در فیتوهورمون‌های ضروری با تأثیر مستقیم بر متابولیسم بذر، مانند اسید سالیسیلیک‌ها و جیبرلین‌ها برای بهبود جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه در شرایط نامطلوب خیسانده می‌شوند (Rhaman et al., 2021). اسید سالیسیلیک یک هورمون محرک رشد گیاهی است که نقش دفاعی کاملاً مشخصی دارد (Chen et al., 2021). اسمو پرایمینگ شامل غوطه‌ورکردن بذر در محلول هوادهی با پتانسیل آب کم و کنترل فشار اسمزی با تغییر غلظت مایع و در نتیجه جلوگیری

دمای ۲۱ تا ۲۴ درجه سلسیوس جوانه می‌زند (Kadam et al., 2013). کشت گیاهان گلدار و زینتی به‌ویژه کشت گل همیشه‌بهار، بازده سرمایه‌گذاری نسبتاً بالایی را ایجاد می‌کند و سطح متوسط بهره‌وری نیروی کار بیشتری را در مقایسه با محصولات کشاورزی سنتی نشان می‌دهد (Ravinder et al., 2006). مقدار محصول گل خشک‌شده همیشه‌بهار به همراه کاسبرگ، ۱ تا ۲ تن در هکتار و بدون کاسبرگ ۳۵ تا ۴۰۰ کیلوگرم در هکتار است. شاخص سودآوری این گیاه، ۴/۲ در نظر گرفته می‌شود، یعنی به ازای یک ریال سرمایه‌گذاری، ۴/۲ ریال عایدی خواهد داشت (عمومی و همکاران، ۱۳۹۶). متأسفانه، آماری از سطح زیرکشت همیشه‌بهار در دسترس نیست، ولی در حدود ۲۶۰ هزار هکتار زمین برای کشت گیاهان دارویی یکساله و چندساله مورد استفاده قرار می‌گیرد که در مجموع، عملکردی در حدود ۵۰۰ هزار تن دارند. گیاه همیشه‌بهار سرشار از متابولیت‌های ثانویه و منبع غنی از ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی است (Yadegari, 2015; Garcia, 2017; Risco et al., 2017). همچنین، این گیاه در کنار مصارف خوراکی به دلیل داشتن مواد مؤثره و برخی ترکیبات در صنعت داروسازی استفاده می‌شود (حیدرزاده و همکاران، ۱۳۹۷).

شوری از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی است، که بر رشد، نمو و ویژگی‌های عملکرد گیاه تأثیر منفی می‌گذارد و با تأثیر بر مورفولوژی، فیزیولوژی و مشخصات بیوشیمیایی گیاهان به ویژه در مناطق نیمه‌خشک و خشک، بهره‌وری گیاه را محدود می‌کند (Alam et al., 2021). گزارش شده است که یک میلیارد هکتار مساحت تحت تأثیر نمک در جهان است (Ivushkin et al., 2019). تنش شوری می‌تواند رشد گیاه را به دو صورت خشکی فیزیولوژیکی (وضعیت تنش آبی که در آن دسترسی به آب برای ریشه‌چه‌ها کاهش می‌یابد) و سمیت خاص نمک (که در آن دسترسی به آب برای ریشه‌چه‌ها حتی در صورت وجود آب به دلیل نمک زیاد آب کاهش می‌یابد) محدود کند. گزارش‌ها نشان می‌دهد که به‌طور معنی‌داری شاخص‌های رشد و صفات فیزیولوژیکی در گل همیشه‌بهار تحت تنش شوری کاهش یافت (Afzal et al., 2017; Shabani

به منظور بررسی اثر پرایمینگ با استفاده از ترکیبات مختلف بر شاخص‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در گیاهچه همیشه‌بهار تحت تنش شوری آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار سطح شوری (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) (آقاسی یزدی و همکاران، ۱۳۹۱) و چهار سطح پرایمینگ (شاهد (آب مقطر)، جیبرلین (۲۰ میلی‌گرم در لیتر) (رضایی و همکاران، ۱۳۹۲) و اسید سالیسیلیک (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) (Mukhtar et al., 2013) و کیتوزان (۰/۸ درصد وزنی- حجمی) (بیگم حسینی و همکاران، ۱۳۹۲) در دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۴۰۲ انجام شد. برای تهیه محلول‌های نمکی از NaCl آزمایشگاهی استفاده شد و با حل کردن ۵۸/۴۴ گرم نمک در یک لیتر آب محلول ۱ مولار نمک بدست آمد، سپس غلظت‌های اشاره شده با رقیق کردن محلول اصلی حاصل شد که این غلظت‌ها به ترتیب معادل صفر، ۱/۷۱، ۳/۴۲ و ۵/۱۳ دسی‌زیمنس بر متر است. بذر گواهی شده همیشه‌بهار تولید ۱۴۰۱ بود که از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. ابتدا بذرهای درون محلول‌های پرایمینگ و آب مقطر به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند. بعد از پرایمینگ، بذرهای به وسیله آب مقطر شستشو و در دمای آزمایشگاه به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند. سپس، آزمون جوانه‌زنی استاندارد روی بذرهای انجام شد. آزمون جوانه‌زنی به روش پتری در سه تکرار ۲۵ بذری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۲ روز انجام گرفت (ISTA, 2012). در این روش، از کاغذهای صافی واتمن استفاده شد. کف ظرف با استفاده از یک لایه کاغذ صافی پوشانده و ۲۵ عدد بذر روی کاغذ صافی که با آب مقطر خیسانده شده بود، قرار گرفت. پس از بستن درب، ظرف به داخل ژرمیناتور منتقل شد. در این مرحله از آزمون، شمارش بذرهای یک روز پس از انتقال بذرهای به محیط کشت آغاز شد و تا ثابت شدن جوانه‌زنی (۱۲ روز) پس از کاشت ادامه یافت. معیار جوانه‌زنی یک بذر، خروج ریشه‌چه به میزان ۲ میلی‌متر (اندازه‌گیری به وسیله خط‌کش میلی‌متری مدرج) از پوسته بذر

از جذب آب توسط بذرهای می‌باشد (Mirmazloun et al., 2020). آغازگرهای مورد استفاده مانند کیتوزان و پلی‌اتیلن گلیکول هستند. کیتوزان یک ماده شیمیایی مشتق شده طبیعی است که به صورت صنعتی از اسکلت بیرونی موجودات دریایی سنتز می‌شود. استفاده از این روش برای فعال کردن پاسخ ایمنی در میوه‌ها و سبزیجات قبل و بعد از برداشت، محافظت در برابر قارچ‌ها، باکتری‌ها، ویروس‌ها و سایر عوامل استرس‌زای غیرزنده به کار گرفته شده است (Hamza et al., 2020). کیتوزان یک پلی‌ساکارید است که به طور مؤثر جوانه‌زنی بذر در گیاه همیشه‌بهار را تقویت می‌کند (Orzali et al., 2017). کیتوزان اثرات منفی شوری را در گیاه همیشه‌بهار کاهش می‌دهد (Abdel-Mola and Ayyat, 2020). تنش غیرزیستی، به ویژه تنش شوری می‌تواند باعث افزایش گونه‌های فعال اکسیژن در گیاهان شود که منجر به افزایش تجمع پراکسید هیدروژن و دیگر رادیکال‌های هیدروکسیل می‌شود که بر رشد و نمو گیاه تأثیر می‌گذارد (Lu et al., 2009). پرایمینگ تجمع گونه‌های فعال اکسیژن را در بذرهای کاهش دهد (Zhang et al., 2014). گزارش‌ها نشان داده است که پرایمینگ با اسید سالیسیلیک، جیبرلین و کیتوزان سرعت جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی روزانه، ضریب آلومتری، شاخص طولی و وزنی بینه گیاهچه و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت از جمله کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز را تحت شرایط تنش در گیاهان مختلف افزایش و میانگین مدت جوانه‌زنی را کاهش می‌دهد (سعادت و همکاران، ۱۴۰۲a؛ سعادت و همکاران، ۱۴۰۲b؛ سعادت و همکاران، ۱۴۰۲c؛ سعادت و همکاران، ۱۴۰۱a؛ Saadat et al., 2023).

این مطالعه به منظور ارزیابی اثرات تیمارهای پرایمینگ شامل کیتوزان، اسید سالیسیلیک و جیبرلین بر شاخص‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در گیاهچه همیشه‌بهار تحت تنش شوری انجام شد.

#### مواد و روش‌ها

جدول ۱- روابط محاسباتی مورد استفاده برای تعیین برخی صفات گیاهچه همیشه‌بهار

منابع	روابط	صفات
Ellis and Roberts, 1980	$GR = \sum_{i=1}^N Si / Di$	سرعت جوانه‌زنی (Germination Rate)
Maguire, 1962	$DGS = 1/MDG$	سرعت جوانه‌زنی روزانه (Daily germination rate)
امیدی و همکاران، ۱۳۹۳	$MGT = \Sigma (Ni) / \Sigma N$	میانگین مدت جوانه‌زنی (Mean germination time)
Skott <i>et al.</i> , 1984	$CA = LR/LS$	ضریب آلومتری (Allometry coefficient)
Abdul-Baki and Anderson, 1973	$SLVI = SL (mm) \times GP/100$	شاخص طولی بنیه بذر (Seedling Length Vigor Index)
Abdul-Baki and Anderson, 1973	$SWVI = SDW (gr) \times GP/100$	شاخص وزنی بنیه بذر (Seedling Weight Vigor Index)

**MDG:** میانگین جوانه‌زنی روزانه، **N:** تعداد دفعات شمارش، **Ni:** تعداد بذر جوانه‌زده در روز، **Si:** تعداد بذرهای جوانه‌زده در هر روز، **Di:** تعداد روز تا شمارش **m**، **LR:** طول ریشه‌چه، **LS:** طول ساقه‌چه، **GP:** درصد جوانه‌زنی، **SL:** طول گیاهچه و **SDW:** وزن خشک گیاهچه.

**سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز:** سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز طبق روش (Aebi, 1984) اندازه‌گیری گردید. مواد شیمیایی مورد نیاز شامل ۰/۵ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن ۷/۵ میلی‌مولار، ۱/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷) و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود که حجم نمونه‌ها با افزودن آب مقطر به ۳ میلی‌لیتر رسانده شد. با افزودن پراکسید هیدروژن واکنش شروع گردید و تغییرات جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر در مدت یک دقیقه ثبت شد. محلول جذب زمینه برای دستگاه شامل تمام موارد استفاده شده بجز عصاره آنزیمی استخراج شده بود. میزان پراکسید هیدروژن تجزیه‌شده با استفاده از ضریب خاموشی ( $\epsilon = 39/4 \mu M^{-1} cm^{-1}$ ) محاسبه و فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس میکرومول پراکسید هیدروژن تجزیه‌شده در دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین بیان شد.

**سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز:** سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز طبق روش (Hemeda and Klein, 1990) انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۲۵۰ میکرولیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۲۵۰ میکرولیتر گایاکول ۱۰ میلی‌مولار محلول در آب دوبار تقطیرشده، ۳۴ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۷۰ میلی‌مولار محلول در فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۴۶۷ میکرولیتر آب دو بار تقطیر استریل شده و ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. تغییرات جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. در نتیجه فعالیت آنزیم پراکسیداز بر حسب واحد میلی‌گرم بر پروتئین در دقیقه گزارش شد.

در نظر گرفته شد. اندازه‌گیری طول گیاهچه به وسیله خط‌کش مدرج برحسب سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. در پایان دوره جوانه‌زنی (۱۲ روز) تعداد کل بذرهای جوانه‌زده شمارش و یادداشت‌برداری جهت تعیین درصد جوانه‌زنی انجام و برای محاسبه شاخص‌های مورد مطالعه از روابط جدول ۱ استفاده شد.

به‌منظور تعیین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در همیشه‌بهار، گیاهچه‌ها در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در داخل پتری درون ژرمیناتور به مدت ۹ روز رشد داده شدند. پس از بازشدن برگ‌های اولیه از هر تیمار پنج گیاهچه به صورت تصادفی انتخاب و بعد از قراردادن در فویل آلومینیومی، به فریزر با دمای -۷۲ درجه سلسیوس منتقل شدند. به‌منظور استخراج عصاره آنزیمی، ۰/۵ گرم نمونه از هر تیمار توزین و در داخل هاون چینی (که از قبل در یخچال نگهداری شده بود) با استفاده از نیتروژن مایع هموزن گردید و بعد از آن ۵ میلی‌لیتر از بافر فسفات سرد (pH=۷/۵) حاوی ۰/۵ میلی‌مولار EDTA به هاون افزوده شد. سپس، هموزن‌ها به اپندورف‌های ۲ میلی‌لیتری منتقل شده و به مدت ۱۵ دقیقه با دمای ۴ درجه سلسیوس با سرعت ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. تمامی مراحل در روند تهیه عصاره آنزیمی در دمای ۴-۱ درجه سلسیوس انجام گرفت. جهت پیشگیری از انجماد و ذوب متوالی نمونه‌ها سوپرناتانت حاصل به سه قسمت تقسیم و تا زمان اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند (Sairam *et al.*, 2002).

(۰/۵۷۳) بذر در روز) در شاهد (آب مقطر) با شوری ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد (شکل ۱).

**سرعت جوانه‌زنی روزانه:** نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده پرایمینگ و شوری روی سرعت جوانه‌زنی روزانه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیش‌ترین سرعت جوانه‌زنی روزانه (۰/۱۷۴) در شاهد (آب مقطر) مشاهده شد. سطوح اسید سالیسیلیک، جیبرلین به‌خصوص کیتوزان سرعت جوانه‌زنی روزانه کاهش دادند (جدول ۳). با افزایش شوری، سرعت جوانه‌زنی روزانه افزایش یافت. به‌طوریکه، بیش‌ترین سرعت جوانه‌زنی روزانه (۰/۱۷۲) در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار و کم‌ترین آن (۰/۱۳۷) در شاهد (شوری صفر) به‌دست آمد (جدول ۳).

**میانگین مدت جوانه‌زنی:** در این تحقیق، اثر ساده پرایمینگ و شوری و برهمکنش آن‌ها روی میانگین مدت جوانه‌زنی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). البته کاربرد اسید سالیسیلیک و جیبرلین نیز میانگین مدت جوانه‌زنی را کاهش داد. به‌طوری‌که بیش‌ترین میانگین مدت جوانه‌زنی (۱/۷۷۳ روز) در شاهد (آب مقطر) و شوری ۱۵۰ میلی‌مولار و کم‌ترین آن (۰/۴۳۴ روز) در پرایمینگ با کیتوزان و بدون شوری مشاهده شد (شکل ۲).

**طول گیاهچه:** نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده پرایمینگ و شوری روی طول گیاهچه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). پرایمینگ با اسید سالیسیلیک و جیبرلین روی میانگین مدت جوانه‌زنی تأثیر معنی‌داری داشت. نتایج نشان داد که تأثیر کیتوزان بیشتر از اسید سالیسیلیک و جیبرلین بود. به‌طوری‌که بیش‌ترین طول گیاهچه (۱۲/۲۹۱ سانتی‌متر) در پرایمینگ با کیتوزان و کم‌ترین آن (۸/۲۸۰ سانتی‌متر) در شاهد مشاهده شد (جدول ۳). بر طبق نتایج به‌دست آمده می‌توان گفت که با افزایش سطوح شوری از طول گیاهچه کاسته می‌شود، به‌طوری‌که کم‌ترین طول گیاهچه (۷/۸۶۵ سانتی‌متر) در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار

**سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز:** فعالیت

آنزیم براساس روش (Giannopolitis and Ries, 1977) مورد سنجش قرار گرفت. مخلوط واکنش شامل بافر ۰/۱ مول در لیتر فسفات (pH=۷/۸) به میزان ۳ میلی‌لیتر که حاوی ۱/۳ میکرومول در لیتر ریپوفلاوین، متیونین به میزان ۱۳ میلی‌مول در لیتر، نیتروبلوترازولیوم به میزان ۶۳ میکرومولار و عصاره آنزیمی به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر بود. نمونه بلانک در تاریکی به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت و نمونه‌های شاهد و عصاره آنزیمی در محفظه نوری با دو لامپ فلورسنت ۲۰W به مدت ۱۵ دقیقه و ۱۰۰ دور در دقیقه بر روی شیکر گذاشته شد. سپس، جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر خوانده شد.

آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. برای رسم شکل‌ها از نرم‌افزار Excel 2018 استفاده شد.

## نتایج

**درصد جوانه‌زنی:** اثر ساده پرایمینگ و شوری بر درصد جوانه‌زنی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی (۸۸/۸۳ درصد) در پرایمینگ با کیتوزان مشاهده شد. البته سطوح اسید سالیسیلیک و جیبرلین نیز در درصد جوانه‌زنی مؤثر بود. با افزایش شوری، درصد جوانه‌زنی کاهش یافت. به‌طوری‌که، بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی (۸۸/۹۲ درصد) در شاهد (شوری صفر) و کم‌ترین آن‌ها به ترتیب ۷۰/۲۵ درصد در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار به‌دست آمد (جدول ۳).

**سرعت جوانه‌زنی:** نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده پرایمینگ و شوری روی سرعت جوانه‌زنی در سطح احتمال ۱ درصد و برهمکنش آن‌ها در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). پرایمینگ با اسید سالیسیلیک و جیبرلین توانست سرعت جوانه‌زنی را افزایش دهد. با این وجود، تأثیر کیتوزان بیشتر از اسید سالیسیلیک و جیبرلین بود. به‌طوری‌که بیش‌ترین سرعت جوانه‌زنی (۲/۳۲۷ بذر در روز) در پرایمینگ با کیتوزان و بدون شوری و کم‌ترین آن

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر پرایمینگ و شوری بر روی صفات مورد مطالعه در گیاهچه همیشه بهار

میانگین مربعات						درجه آزادی	منابع تغییر
ضریب آلومتری	طول گیاهچه	میانگین مدت جوانه زنی	سرعت جوانه زنی روزانه	سرعت جوانه زنی	درصد جوانه زنی		
۰/۰۲۶۵۶**	۳۸/۴۹۷**	۰/۹۲۳۹**	۰/۰۰۳۰۹**	۱/۸۱۲۷**	۵/۲۷۹**	۳	پرایمینگ
۰/۰۶۵۱۶**	۴۵/۲۶۷**	۰/۶۰۵۹**	۰/۰۰۲۷۲**	۱/۰۸۵۴**	۵/۱۵۷**	۳	شوری
۰/۰۱۶۳۷ <sup>ns</sup>	۱/۲۸۸ <sup>ns</sup>	۰/۰۵۸۷**	۰/۰۰۰۰۵ <sup>ns</sup>	۰/۰۴۲۸*	۰/۱۷۵ <sup>ns</sup>	۹	پرایمینگ × شوری
۰/۰۰۷۹۶	۰/۶۱۸	۰/۰۱۰۵	۰/۰۰۰۰۱۱	۰/۰۱۹۷	۰/۱۴۱	۴۷	خطای آزمایشی
۱۱/۹۱۵	۷/۷۷۴	۱۲/۳۰۱	۶/۸۸۳	۱۰/۲۷۹	۵/۶۵۵		ضریب تغییرات (%)

ns، \* و \*\* به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

ادامه جدول ۲-

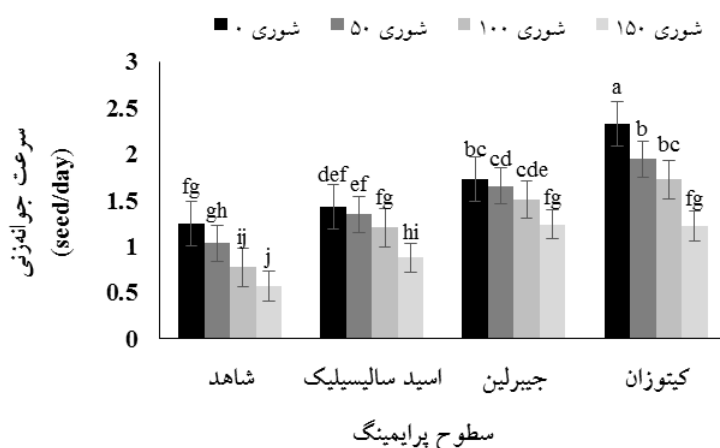
میانگین مربعات					درجه آزادی	منابع تغییر
سوپراکسید دیسموتاز	پراکسیداز	کاتالاز	شاخص وزنی بینه گیاهچه	شاخص طولی بینه گیاهچه		
۱۱/۰۸۵**	۳۶/۰۹۶**	۶۲/۲۲۸**	۹/۵۱۳**	۶۴/۳۴۹**	۳	پرایمینگ
۷/۰۹۲**	۸/۷۲۲**	۳۷/۱۵۱*	۱۰/۲۷۶**	۶۹/۸۹۶**	۳	شوری
۰/۱۶۴ <sup>ns</sup>	۱/۵۲۰*	۲/۰۱۵ <sup>ns</sup>	۰/۲۶۴ <sup>ns</sup>	۲/۹۶۴**	۹	پرایمینگ × شوری
۰/۲۸۷	۰/۷۱۷	۸/۳۵۵	۰/۱۴۹	۰/۶۰۲	۴۷	خطای آزمایشی
۴/۳۲۲	۵/۶۶۸	۱۴/۴۴۹	۹/۷۳۹	۹/۳۵۷		ضریب تغییرات (%)

ns، \* و \*\* به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

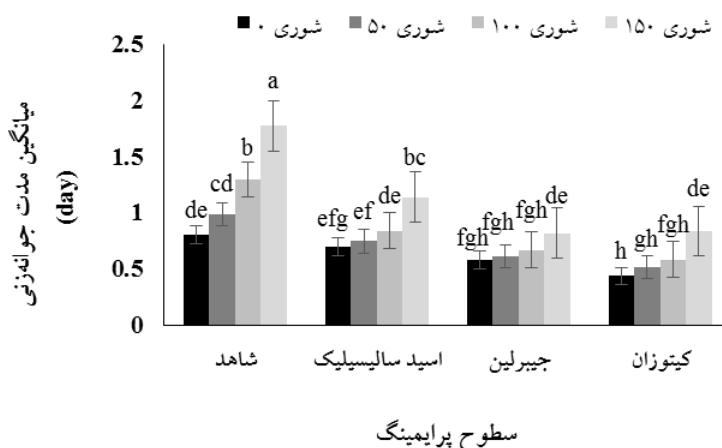
جدول ۳- مقایسه میانگین اثر ساده پرایمینگ و شوری بر روی صفات مورد مطالعه در گیاهچه همیشه بهار

پرایمینگ	درصد جوانه زنی	ضریب آلومتری	طول گیاهچه (سانتی متر)	وزنی بینه گیاهچه	کاتالاز (واحد میلی گرم بر پروتئین در دقیقه)	سوپراکسید دیسموتاز (واحد میلی گرم بر پروتئین در دقیقه)
شاهد (آب مقطر)	۶۹/۴۲ <sup>d</sup>	۰/۶۷۹ <sup>b</sup>	۸/۲۸۰ <sup>d</sup>	۲/۹۰۳ <sup>d</sup>	۱۹/۰۱۴ <sup>b</sup>	۱۱/۴۱۸ <sup>c</sup>
اسید سالیسیک ۱۰۰ میلی گرم	۷۷/۵۸ <sup>c</sup>	۰/۷۷۴ <sup>a</sup>	۹/۰۸۱ <sup>c</sup>	۳/۶۴۳ <sup>c</sup>	۱۹/۶۸۱ <sup>b</sup>	۱۱/۸۱۵ <sup>c</sup>
جیبرلین ۲۰ میلی گرم	۸۳/۲۵ <sup>b</sup>	۰/۷۶۴ <sup>a</sup>	۱۰/۷۸۸ <sup>b</sup>	۴/۳۴۲ <sup>b</sup>	۱۸/۰۵۲ <sup>b</sup>	۱۲/۹۳۳ <sup>b</sup>
کیتوزان ۰/۸ درصد وزنی حجمی شوری (میلی مولار)	۸۸/۸۳ <sup>a</sup>	۰/۷۷۸ <sup>a</sup>	۱۲/۲۹۱ <sup>a</sup>	۴/۹۶۷ <sup>a</sup>	۲۳/۲۶۹ <sup>a</sup>	۱۳/۴۸۷ <sup>a</sup>
۰	۸۸/۹۲ <sup>a</sup>	۰/۸۵۳ <sup>a</sup>	۱۲/۴۲۸ <sup>a</sup>	۵/۰۱۳ <sup>a</sup>	۱۷/۸۷۴ <sup>c</sup>	۱۱/۶۶۶ <sup>c</sup>
۵۰	۸۲/۳۳ <sup>b</sup>	۰/۷۴۴ <sup>b</sup>	۱۰/۷۴۶ <sup>b</sup>	۴/۳۲۲ <sup>b</sup>	۱۹/۴۵۵ <sup>bc</sup>	۱۲/۰۰۳ <sup>c</sup>
۱۰۰	۷۷/۵۸ <sup>c</sup>	۰/۷۱۳ <sup>b</sup>	۹/۴۰۲ <sup>c</sup>	۳/۶۷۸ <sup>c</sup>	۲۰/۶۸۷ <sup>ab</sup>	۱۲/۵۵۸ <sup>b</sup>
۱۵۰	۷۰/۲۵ <sup>d</sup>	۰/۶۸۵ <sup>b</sup>	۷/۸۶۵ <sup>d</sup>	۲/۸۴۲ <sup>d</sup>	۲۲/۰۰۰ <sup>a</sup>	۱۳/۴۲۶ <sup>a</sup>

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال پنج درصد است.



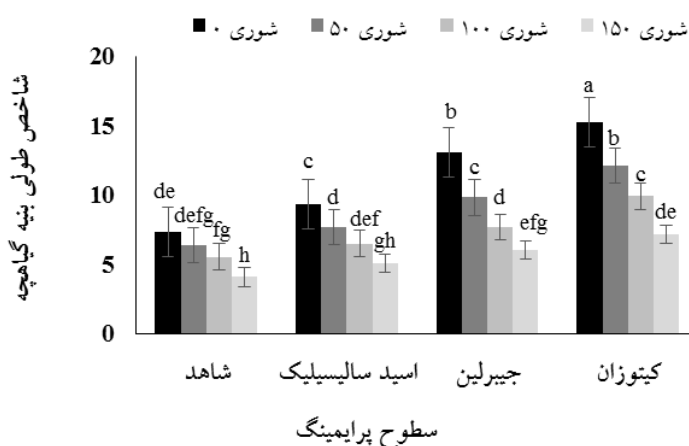
شکل ۱- برهمکنش پرایمینگ و شوری بر سرعت جوانه‌زنی در همیشه‌بهار. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر حسب آزمون دانکن است.



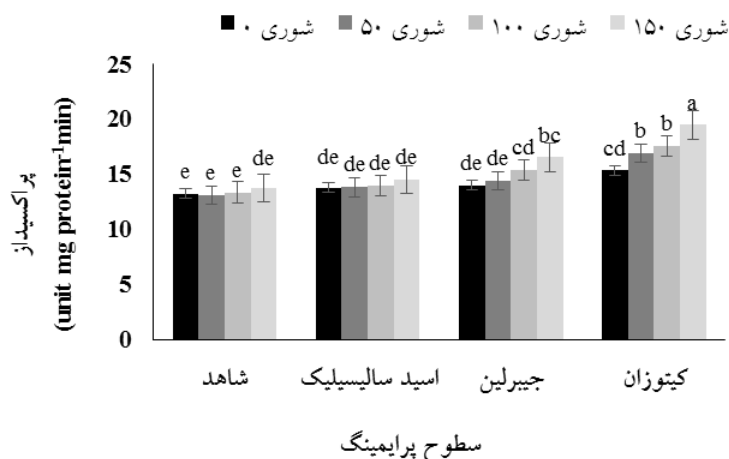
شکل ۲- برهمکنش پرایمینگ و شوری بر میانگین مدت جوانه‌زنی در همیشه‌بهار. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر حسب آزمون دانکن است.

کم‌ترین آن (۰/۶۸۵) در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد (جدول ۳). ضریب آلومتري حاصل طول ریشه‌چه به ساقه‌چه است که مقاومت به تنش‌های محیطی را نشان می‌دهد. شاخص وزنی و طولی گیاهچه: در این تحقیق، اثر ساده پرایمینگ و شوری روی شاخص طولی و وزنی بنیه گیاهچه در سطح احتمال ۱ درصد و برهمکنش آن‌ها تنها روی شاخص طولی بنیه گیاهچه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). بیش‌ترین شاخص وزنی بنیه گیاهچه (۴/۹۶۷) در پرایمینگ با کیتوزان و کم‌ترین آن (۲/۹۰۳) در شاهد مشاهده شد. تیمار با اسید سالیسیلیک و جیبرلین نیز توانست

به‌دست آمد (جدول ۳). ضریب آلومتري: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده پرایمینگ و شوری روی ضریب آلومتري در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). پرایمینگ با اسید سالیسیلیک و جیبرلین ضریب آلومتري را افزایش داد. اما تأثیر کیتوزان بیشتر از اسید سالیسیلیک و جیبرلین بود. بیش‌ترین ضریب آلومتري (۰/۷۷۸) در پرایمینگ با کیتوزان و کم‌ترین آن (۰/۶۷۸) در شاهد مشاهده شد (جدول ۳). با افزایش سطوح شوری ضریب آلومتري کاهش یافت، به‌طوری‌که بیش‌ترین ضریب آلومتري (۰/۸۵۳) در شاهد و



شکل ۳- برهمکنش پرایمینگ و شوری بر شاخص طولی بنیه گیاهی در همیشه‌بهار. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر حسب آزمون دانکن است.



شکل ۴- برهمکنش پرایمینگ و شوری بر فعالیت پراکسیداز در همیشه‌بهار. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر حسب آزمون دانکن است.

بیش‌ترین فعالیت آنزیم کاتالاز (۲۳/۲۶۹ واحد میلی‌گرم بر پروتئین در دقیقه) و سوپراکسید دیسموتاز (۱۳/۴۸۷ واحد میلی‌گرم بر پروتئین در دقیقه) در شاهد و کم‌ترین آن‌ها به ترتیب ۱۹/۰۱۴ و ۱۱/۴۱۸ واحد میلی‌گرم بر پروتئین در دقیقه در پرایمینگ با کیتوزان به‌دست آمد (جدول ۳). پرایمینگ با اسید سالیسیلیک و جیبرلین نیز اثر مثبتی بر فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز داشت، به‌طوری‌که بعد از کیتوزان، اسید سالیسیلیک و جیبرلین بیش‌ترین فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز را نشان دادند. تشدید شوری فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز را افزایش داد،

شاخص طولی بنیه گیاهی را افزایش دهد. اما تأثیر کیتوزان بیشتر از آن‌ها بود (جدول ۳). همچنین، بیش‌ترین شاخص طولی بنیه گیاهی (۱۵/۲۱۴) در پرایمینگ با کیتوزان و بدون شوری و کم‌ترین آن (۴/۰۵۵) در شاهد و شوری ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد (شکل ۳).

#### فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز: در

این تحقیق، اثر ساده پرایمینگ و شوری روی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در سطح احتمال ۱ درصد و اثر ساده آن‌ها روی فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که

پرایمینگ، تولید گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش داده یا به‌طور بالقوه، رادیکال‌های آزاد را خنثی می‌کند. تحقیقات نشان داده است که تیمارهای پرایمینگ شاخص‌های جوانه‌زنی را تحت شرایط شوری در گیاه همیشه‌بهار افزایش می‌دهد (Afzal *et al.*, 2017). آنیون‌ها و کاتیون‌ها با حل‌شدن در آب، پتانسیل آب را کاهش داده، به‌طوریکه بذرها با وجود آب در محیط به دلیل این‌که ظرفیت واکنش آن‌ها در اشغال یون‌ها قرار دارد نمی‌تواند آب را جذب کند (Jamil *et al.*, 2006). اختلال در جذب آب باعث کند شدن فعل و انفعالات داخل بذر شده در نتیجه مدت زمان خروج ریشه‌چه افزایش یافته و موجب کاهش درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی می‌شود (Sharif *et al.*, 1998; Rajabi Dehnavi *et al.*, 2020). شوری به علت کاهش هورمون‌های اکسین، جبریلین و اسید سالیسیلیک، تغییر در ذخایر بذر بر ساختارهای پروتئینی و کاهش تقسیم سلولی و متابولیسم گیاه، جوانه‌زنی را کاهش می‌دهد (Turhan and Ayaz, 2004; Ibrahim, 2016). افزایش یون‌های سدیم و کلر طی تنش شوری، موجب ایجاد سمیت یونی (Kaya *et al.*, 2006) و اختلال در سوخت و ساز عنصرهای غذایی شده و در نهایت بر فرآیندهای فیزیولوژیک گیاه تأثیر سوء گذاشته و منجر به کاهش درصد جوانه‌زنی می‌شود (Zhou, 2010). پرایمینگ از طریق نرم‌کردن پوسته بذر در شرایط تنش شوری خروج ریشه‌چه را تسریع کرده و موجب افزایش درصد جوانه‌زنی می‌شود (حقیقی و عبدالهی‌پور، ۱۳۹۸). دلیل کاهش سرعت جوانه‌زنی با افزایش غلظت کلرید سدیم می‌تواند ناشی از تنش خشکی فیزیولوژیک باشد. علاوه بر این، کاهش سرعت جوانه‌زنی بذرها ناشی از کاهش در فعالیت آنزیم‌ها آمیلاز است (Rehman *et al.*, 2015). در این تحقیق، پرایمینگ بذر، سرعت جوانه‌زنی بذر را با بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی، محلول در جنین همیشه‌بهار افزایش داد. بنابراین آسیب ناشی از تنش شوری کاهش می‌یابد. پرایمینگ باعث افزایش ساخت پروتئین در جنین، ترمیم و ستر نوکلئیک اسیدها، افزایش فعالیت آنزیم‌های هیدرولتیک و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی در شرایط تنش محیطی می‌شود و این

به‌طوری‌که بیش‌ترین فعالیت آنزیم کاتالاز (۲۲/۰۰۰ واحد میلی‌گرم بر پروتئین در دقیقه) و سوپراکسید دیسموتاز (۱۳/۴۲۶ واحد میلی‌گرم بر پروتئین در دقیقه) در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد.

**فعالیت آنزیم پراکسیداز:** نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده پرایمینگ و شوری روی فعالیت آنزیم پراکسیداز در سطح احتمال ۱ درصد و برهمکنش آن‌ها در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). بیش‌ترین فعالیت آنزیم پراکسیداز (۱۹/۴۶۰ واحد میلی‌گرم بر پروتئین در دقیقه) در پرایمینگ با کیتوزان و شوری ۱۵۰ میلی‌مولار و کم‌ترین آن (۱۳/۰۸۰ واحد میلی‌گرم بر پروتئین در دقیقه) در شاهد (آب مقطر) و شوری ۵۰ میلی‌مولار به‌دست آمد (شکل ۴). البته سطوح اسید سالیسیلیک و جبریلین نیز در فعالیت آنزیم پراکسیداز مؤثر بود.

#### بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد، سطوح مختلف شوری تأثیر منفی در بیشتر صفات مورد بررسی در گیاهچه همیشه‌بهار داشت و سبب کاهش رشد گیاهچه گردید. کاربرد اسید سالیسیلیک، جبریلین به‌خصوص کیتوزان توانست اثرات نامطلوب شوری را کاهش دهد. شوری از طریق کاهش جذب آب، سمیت یونی، تنش اکسیداتیو، تغییرات فرآیندهای متابولیک، تخریب غشا، کاهش تقسیم سلولی، گیاهچه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Zhu *et al.*, 2007). در این تحقیق با افزایش سطوح شوری درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، میانگین جوانه‌زنی روزانه و طول گیاهچه کاهش و همچنین میانگین مدت جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی روزانه افزایش یافت که مطابق با تحقیقات انجام‌شده روی گیاهان مختلف بود (سعادت و همکاران، ۲۰۲۳؛ Saadat *et al.*, 2023). تنش تعادل بین تولید گونه‌های فعال اکسیژن داخل سلولی و مهار را مختل کرده، توانایی مهار گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش می‌دهد و در نتیجه پراکسیداسیون لیپید افزایش یافته و آسیب سیستم غشای سلولی را تسریع می‌کند (Li *et al.*, 2019). استفاده از

Laware, 2018). در طول پرایمینگ بخشی از پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها در اثر آنزیم‌ها هیدرولیزکننده تجزیه شده و در فرآیند جوانه‌زنی شرکت می‌کند و این امر سبب تسریع جوانه‌زنی و کاهش متوسط مدت جوانه‌زنی می‌شود (Harris et al., 2001). در واقع، متوسط مدت جوانه‌زنی در بذره‌ای پرایم شده با کیتوزان ممکن است ناشی از برهم‌کنش بین رادیکال‌های آزاد و سنتز مجدد آنزیم‌های متصل به غشا باشد. افزایش میانگین مدت جوانه‌زنی تحت تنش شوری در تحقیقات دیگر روی گیاهان مختلف نیز گزارش شده است (سعادت و همکاران، ۱۴۰۲a؛ سعادت و همکاران، ۱۴۰۱b). کاهش انتقال مواد غذایی از بافت‌های ذخیره‌ای بذر به جنین به دلیل کاهش فعالیت آنزیم آلفا‌آمیلاز طی تنش که، سبب کاهش طول گیاهچه می‌شود (McDonald, 1999). همچنین، کاهش جذب آب توسط بذر تحت تنش سبب کاهش ترشح هورمون‌ها، آنزیم‌ها و در نهایت آن اختلال در طول گیاهچه می‌گردد (Tanveer et al., 2020; Adamipour et al., 2019). در واقع، شوری با کاهش فشار آماس در سلول‌ها سبب کاهش تقسیم سلولی شده در نهایت باعث کاهش طول گیاهچه می‌شود (Balasubramaniam et al., 2023). طول گیاهچه به دلیل استفاده از پرایمینگ با کیتوزان و به‌دنبال آن اسید سالیسیلیک و جیبرلین افزایش یافت و این افزایش در مقایسه با شاهد ممکن است باعث افزایش سرعت تقسیم سلولی و شروع زودتر جوانه‌زنی شود (Afzal et al., 2011). تحقیقات نشان داده است که پرایمینگ بذرها در گیاه همیشه‌بهار طول گیاهچه تحت تنش افزایش می‌دهد (Afzal et al., 2017)؛ هلالی سلطان احمدی و همکاران، ۱۴۰۰). در تحقیقی بر روی گیاه برنج و لوبیا سعادت و همکاران (۱۴۰۲a؛ ۱۴۰۱a) نشان دادند که تنش شوری موجب کاهش طول گیاهچه شد. ضریب آلومتری حاصل طول ریشه‌چه به ساقه‌چه است که مقاومت به تنش‌های محیطی را نشان می‌دهد. از آنجایی که ضریب آلومتری از نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه به دست می‌آید، این امر نشان می‌دهد که میزان افزایش طول ساقه‌چه نسبت به طول ریشه‌چه کمتر است و به عبارتی طول ساقه‌چه کمتر

امر منجر به افزایش سرعت جوانه‌زنی می‌گردد (Shahverdi et al., 2017). پرایمینگ جذب آب را تسهیل کرده و فعالیت‌های متابولیکی را برای تسریع جوانه‌زنی و ظهور ریشه‌چه افزایش می‌دهد (Ofoe et al., 2022). در واقع، پرایمینگ با افزایش میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت نظیر گلوکاتایون و آسکوربات تحت تنش شوری، واکنش‌های پراکسیداسیون لیپید در روند جوانه‌زنی را کاهش داده و سبب افزایش درصد جوانه‌زنی می‌شود (حسن‌زاده کهل‌سفلی و همکاران، ۱۳۹۱). گزارش‌ها نشان داده است که پرایمینگ سرعت جوانه‌زنی در گیاه همیشه‌بهار را افزایش می‌دهد (باقری، و همکاران، ۱۴۰۱). کاهش سرعت جوانه‌زنی در اثر تنش شوری و افزایش این صفت طی پرایمینگ در مطالعات سعادت و همکاران (۱۴۰۱b) بر روی لوبیا و سعادت و همکاران (۱۴۰۲a) در گیاه برنج نیز گزارش شده است. از آنجایی که سرعت جوانه‌زنی روزانه عکس میانگین جوانه‌زنی روزانه است، افزایش در میانگین جوانه‌زنی روزانه طی پرایمینگ سبب کاهش سرعت جوانه‌زنی روزانه می‌شود. تحقیقات کاهش سرعت جوانه‌زنی روزانه در طول پرایمینگ و افزایش آن را تحت تنش شوری نشان داده‌اند (سعادت و همکاران، ۱۴۰۱a). و این می‌تواند به علت بروز اختلالات رشدی و کوچک‌شدن غیرطبیعی سطح در مرحله جوانه‌زنی حاصل از تنش شوری باشد (قنبری و کرم‌نیا، ۱۳۹۵). افزایش میانگین مدت جوانه‌زنی طی تنش شوری به دلیل کاهش بذور جوانه‌زده است و ممکن است میانگین مدت جوانه‌زنی برای جوانه‌زنی این بذرها، نسبت به سطوح تنش با درصد جوانه‌زنی بالاتر کاهش نشان دهد. همچنین، تأثیر منفی شوری بر نفوذپذیری غشا، تقسیم سلولی، سنتز پروتئین و فعالیت‌های آنزیمی، میانگین مدت جوانه‌زنی را افزایش می‌دهد (Emmerich and Hardegree, 1990). پرایمینگ بذر میانگین مدت جوانه‌زنی را کاهش می‌دهد، زیرا سنتز پروتئین را در پایه مسیرهای متابولیک اصلی فعال می‌کند و مواد ذخیره را تحریک می‌کند. در واقع، رویدادهای متابولیکی قبل از جوانه‌زنی اتفاق می‌افتد، قبل از اینکه ریشه‌چه ظهور یابد. این توالی از رویدادها توسط تنش ناشی از پرایمینگ ایجاد می‌شود (Pawar and

انتقال آهسته‌تر این ماده به گیاهچه باشد (Mosavian and EshraghiNejad, 2013). تنش شوری علاوه بر کاهش جذب آب توسط بذر با تأثیر روی تحرک ذخایر بذر و سنتز پروتئین‌های جنینی، بنیه گیاهچه را کاهش می‌دهد (Almansoori et al., 2001). شوری با کاهش میزان آب بافت گیاهچه در اثر کاهش فشار تورگر، جمع‌شدن ماده خشک در بافت‌های ذخیره‌ای ریشه‌چه، تغییر فعالیت‌های طبیعی در اثر سمیت یون‌های کلر و سدیم و ایجاد پتانسیل اسمزی منفی در گیاهچه، بنیه گیاهچه را کاهش می‌دهد (Zia and Khan, 2004; Sharma et al., 2004). تیمارهای پرایمینگ بذر به دلیل افزایش هیدرولیز نشاسته، بنیه گیاهچه را به طور قابل ملاحظه‌ای بهبود می‌بخشد (Mukhtar et al., 2013). در تحقیقی بر روی گیاه همیشه‌بهار باقری و همکاران (۱۴۰۱) نشان دادند که پرایمینگ موجب افزایش شاخص بنیه گیاهچه شد. هلالی سلطان احمدی و همکاران (۱۳۹۷) در گیاه همیشه بهار افزایش شاخص‌های بنیه گیاهچه تحت تنش گزارش نمودند. پرایمینگ با بهبود غشای سیتوپلاسمی موجب کاهش اتلاف الکترولیت‌ها شده و بنیه گیاهچه را افزایش می‌دهد. تحقیقات نشان داده است که استفاده از سطوح پرایمینگ درصد جوانه‌زنی و وزن خشک گیاهچه را افزایش داده که در پی آن شاخص‌های بنیه گیاهچه هم افزایش می‌یابد (سعادت و همکاران، ۱۴۰۲a؛ سعادت و همکاران ۱۴۰۲b؛ سعادت و همکاران، ۱۴۰۱a).

در تحقیق حاضر، فعالیت سوپراکسید دیسمیوتاز در پاسخ به تنش شوری افزایش یافت. به این دلیل که تنش شوری باعث تبدیل رادیکال‌های سوپراکسید به پراکسید هیدروژن در سلول می‌شود. این اتفاق چرخه کلونین را مختل کرد و بر تشکیل قند در گیاهان تأثیر منفی گذاشت. بنابراین، گیاهان با افزایش فعالیت سوپراکسید دیسمیوتاز خود، از اثرات مضر پراکسید هیدروژن از طریق تشکیل قند در کلروپلاست‌ها جلوگیری می‌کنند (Sarker and Oba, 2020). سنتز کاتالاز برای سم‌زدایی پراکسید هیدروژن در شرایط تنش شوری مورد نیاز است (Hasanuzzaman et al., 2020). استفاده از پرایمینگ

تحت تأثیر تیمارهای آماده‌سازی بذر با آب‌مقطر، جیبرلین، اسید سالیسیلیک و کیتوزان قرار گرفته است. کاهش ضریب آلومتری به‌طور مستقیم نشان‌دهنده کاهش رشد ریشه‌چه و ماده خشک ریشه‌چه بوده و به‌طور غیرمستقیم نشان‌دهنده تولید گیاهچه‌های ضعیف و بذرهای با بنیه پایین است. در این تحقیق، ضریب آلومتری طی شوری کاهش یافت هر چند تفاوت معنی‌داری بین سطوح شوری نبود و این امر نشان می‌دهد که کاهش جذب آب توسط بذر تحت تنش شوری منجر به کاهش ترشح هورمون‌ها و آنزیم‌های آلفا آمیلاز، لیپاز و اینورتاز شده و سبب اختلال در ساقه‌چه می‌گردد و در نهایت بر نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه اثر می‌گذارد (پناهی و همکاران، ۱۳۹۱). شوری، سرعت رشد محور جنین را از طریق تحت تأثیر قراردادن انتقال مواد غذایی از لپه‌ها کاهش داده و با محدودکردن رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه (Datta and Dayal, 1991) ضریب آلومتری را کاهش می‌دهد. همچنین، شوری با کاهش پتانسیل اسمزی موجب اختلال در فرآیندهای هیدرولیزی بذر شده و با ایجاد سمیت یونی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه را کاهش داده و با تشدید سطوح شوری ضریب آلومتری را کاهش می‌دهد (Rehman et al., 1997). این تحقیق نشان می‌دهد که کاهش طول ریشه‌چه در مقایسه با ساقه‌چه تحت تنش شوری بیشتر است و پرایمینگ با کیتوزان آن را بهبود بخشید (سعادت و همکاران، ۱۴۰۲a)، هر چند تفاوت معنی‌داری بین سطوح اسید سالیسیلیک، جیبرلین و کیتوزان نبود. پرایمینگ تحت تنش سبب بهبود ضریب آلومتری در گل همیشه‌بهار می‌شود (هلالی سلطانی احمدی و همکاران، ۱۴۰۰). محققان نشان دادند با افزایش سطوح کیتوزان طول ریشه‌چه و ساقه‌چه افزایش یافت که به دنبال آن ضریب آلومتری نیز افزایش می‌یابد (سعادت و همکاران، ۱۴۰۱a). شاخص‌های طولی و وزنی بنیه گیاهچه تحت تأثیر طول گیاهچه، وزن خشک گیاهچه و درصد جوانه‌زنی است و هر تنشی که این صفات را کاهش دهد سبب کاهش بنیه گیاهچه می‌گردد (Hoseini et al., 2013). کاهش بنیه گیاهچه تحت پتانسیل اسمزی کم می‌تواند به دلیل تجزیه مواد آندوسپرم یا

افزایش می‌دهد و تأمین انرژی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تحت شوری را افزایش داده و در نتیجه اثرات نامطلوب تنش شوری در گیاهچه همیشه‌بهار را کاهش می‌دهد. پرایمینگ بذر با کیتوزان یک رویکرد امیدوارکننده برای افزایش جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه تحت شوری است.

### نتیجه‌گیری

در این پژوهش اثر پرایمینگ‌های مختلف بر ویژگی‌های جوانه‌زنی گیاه همیشه‌بهار بررسی شد. براساس نتایج به‌دست آمده از این تحقیق، شوری باعث کاهش ویژگی‌های جوانه‌زنی گیاهچه همیشه‌بهار گردید. اعمال شوری در سطوح مختلف در مقایسه با شاهد و سایر تیمارها روی صفات جوانه‌زنی همیشه‌بهار، کاهش معنی‌داری را نشان داد. کاربرد اسید سالیسیلیک و جیبرلین به‌ویژه کیتوزان توانست تا حدودی آثار مخرب شوری را کاهش دهد. براساس یافته‌های این تحقیق فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در نتیجه استفاده از کلیه تیمارهای مختلف تغییر یافت، اما بیش‌ترین فعالیت آنزیم‌ها در تیمار با کیتوزان به‌دست آمد که می‌توان از این تیمار برای افزایش رشد گیاهچه استفاده نمود. یافته‌های ما نشان داد که پرایمینگ بذر با اسید سالیسیلیک و جیبرلین به‌خصوص کیتوزان برای بهبود جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت همیشه‌بهار تحت تنش شوری امیدوارکننده است. با این حال، مطالعات بیش‌تری برای کشف سازوکارهای تحمل شوری ناشی از پرایمینگ بذر در شرایط آزمایشگاه مورد نیاز است.

در گل همیشه‌بهار فعالیت آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در غلظت‌های بالای شوری افزایش داد. افزایش فعالیت کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز تحت تنش شوری را در گیاهان مختلف گزارش است (سعادت و همکاران، ۱۴۰۲a؛ Saadat et al., 2023). گیاهان با سنتز انواع محافظ اسمزی و آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی از جمله کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز به تنش شوری پاسخ می‌دهند (Kohli et al., 2021). کیتوزان می‌تواند تولید رادیکال‌های آزاد با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی محدود کند و از فعالیت‌های NADPH اکسیداز، پروتئاز و RNAها جلوگیری کند (Verma and Mishra, 2005). البته اسید سالیسیلیک و جیبرلین به‌طور قابل توجهی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت را در گیاه همیشه‌بهار تحت شرایط تنش شوری، اما به میزان کمتر نسبت به کیتوزان، بهبود بخشیدند. پرایمینگ می‌تواند اثرات نامطلوب تنش را کاهش داده و موجب بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانتی از جمله کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در گیاه گل همیشه‌بهار شود (Bayat et al., 2022; Akhtar et al., 2022). در تحقیقی دیگر پرایمینگ تحت تنش سبب بهبود آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت از جمله کاتالاز و پراکسیداز در گل همیشه‌بهار گردید (هلالی سلطان احمدی و همکاران، ۱۴۰۰). در مطالعه حاضر، پرایمینگ با کیتوزان با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در گیاهچه همیشه‌بهار توانست، مهار گونه‌های فعال اکسیژن را افزایش داده و محتوای پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های سوپراکسید را کاهش دهد، در نتیجه آسیب ناشی از تنش اکسیداتیو تحت شوری ایجاد شده را کاهش دهد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که پرایمینگ بذر با کیتوزان ظرفیت مهار گونه‌های فعال اکسیژن را

### منابع

- آقاسی یزدی، نسرین، محمودزاده، هما، و عباسپور، حسین (۱۳۹۱). بررسی جوانه‌زنی بذور گل همیشه‌بهار در شرایط تنش شوری (*Calendula officinalis* L.). دومین همایش ملی علوم و تکنولوژی بذر، مشهد، ایران.
- امیدی، حشمت، جعفرزاده، لیلا، و نقدی بادی، حسنعلی (۱۳۹۳). بذر گیاهان دارویی و زراعی. انتشارات دانشگاه شاهد، تهران.
- باقری، علیرضا، مندنی، فرزاد، گراوندی، آزاده، و امیری، سحر (۱۴۰۱). بررسی اثر هیدرو و اسموپرایمینگ بر خصوصیات جوانه‌زنی بذر پلی‌مورف گیاه همیشه‌بهار رقم پُر پر ایرانی (*Calendula officinalis* L.). علوم و فناوری بذر، ۱۱(۱)، ۱-۱۴.

بیگم‌حسینی، معصومه، طاهری، قدیر، واعظی کاخکی، محمدرضا، و صلاتی، منصور (۱۳۹۲). تأثیر پرایمینگ بذر با کیتوزان بر ویژگی‌های جوانه‌زنی گیاه دارویی همیشه‌بهار (*Calendula officinalis*) در شرایط تنش خشکی. همایش ملی پدافند غیر عامل در بخش کشاورزی، قشم، ایران.

پناهی، مهدی، اکبری، غلامعلی، روستاخیز، جواد، و گلباشی، محمد (۱۳۹۱). واکنش ژنوتیپ‌های گلرنگ به تنش شوری از لحاظ صفات مرتبط با جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه. *علوم و فناوری بذر ایران*، ۱(۲)، ۲۲۲-۲۱۲.

حقیقی، مریم، و عبدالهی‌پور، بهزاد (۱۳۹۸). تأثیر سرکه چوب کاج بر جوانه‌زنی و ویژگی‌های رشدی و فیزیولوژیک، و جذب عناصر در ریحان. *روابط خاک و گیاه (علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای)*، ۱۰(۲)، ۲۴-۱۱.

حسن‌زاده کهل سفلی، سمیه، طاهری، قدیر، و مهرزاد، جمشید (۱۳۹۱). اثرات پرایمینگ بر جوانه‌زنی ذرت شیرین (*Zea mays* Cv. Basin) تحت تنش کلرید سدیم. *تحقیقات بذر (علوم و تکنولوژی بذر)*، ۱۲(۱)، ۶۲-۷۰.

حیدرزاده، سعید، جلیلیان، جلیل، پیرزاد، علیرضا، و جامعی، رشید (۱۳۹۷). اثر کودهای زیستی بر برخی خصوصیات کمی و کیفی ماشک مراغه (*Vicia sp.*) در شرایط دیم و آبیاری تکمیلی. *دانش کشاورزی و تولید پایدار*، ۲۸(۳)، ۱۸۷-۲۰۸.

رضایی، محمد، صدقی، محمد، و سیدشریفی، رئوف (۱۳۹۲). اثر انواع پرایمینگ بر جنبه‌های بیوشیمیایی جوانه‌زنی بذر همیشه‌بهار در شرایط شوری. پایانامه کارشناسی ارشد، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

سعادت، طیبه، صدقی، محمد، سید شریفی، رئوف، و فرزانه، سلیم (۱۴۰۱a). تأثیر کیتوزان بر شاخص‌های جوانه‌زنی لوبیا چیتی (*Phaseolus vulgaris* L.) رقم صدری در شرایط تنش شوری. *پژوهش‌های بذر ایران*، ۹(۲)، ۱۵۱-۱۶۲. DOR: 10.29252/yujs.9.2.151

سعادت، طیبه، صدقی، محمد، سید شریفی، رئوف، و فرزانه، سلیم (۱۴۰۱b). تأثیر پرایمینگ با سطوح مختلف کیتوزان، روی برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی لوبیا چیتی (*Phaseolus vulgaris* L.) تحت تنش شوری. *فن آوری تولیدات گیاهی*، ۱۴(۲)، ۸۹-۷۵. DOR: 10.22084/PPT.2023.26100.2075

سعادت، هانیه، سلطانی، الیاس، و صدقی، محمد (۱۴۰۲a). تأثیر پرایمینگ بذر با کیتوزان بر ویژگی‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهچه‌های برنج (*Oryza sativa* L.) تحت تنش شوری. *فرآیند و کارکرد گیاهی*، ۱۲(۵۴)، ۲۳۹-۲۵۸. <http://jispp.iut.ac.ir/article-1-1728-fa.html>

سعادت، هانیه، و صدقی، محمد (۱۴۰۲b). اثر پرایمینگ و فرسودگی بر شاخص‌های رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در بذر ذرت هیبرید سینگل کراس ۷۰۴. *علوم و فناوری بذر ایران*، ۱۲(۲)، ۶۳-۴۹. DOR: 10.22092/IJSST.2022.360339.1459

سعادت، هانیه، و صدقی، محمد (۱۴۰۲c). اثر پرایمینگ و فرسودگی بذر بر شاخص‌های جوانه‌زنی و فعالیت برخی آنزیم‌های هیدرولیتیک و چرخه گلی‌اکسیلات در ذرت (*Zea mays* L.). *علوم و تحقیقات بذر ایران*، ۱۰(۱)، ۶۷-۸۱. DOR: 10.22124/JMS.2023.23130.1726

عمویی، محمدعلی، مجاهد، مژگان، و مجاهد، مریم (۱۳۹۶). بسته کارآفرینی تولید همیشه‌بهار. جلد ۱، انتشارات اسرار علم، تهران. قنبری، مجید، و کرم‌نیا، سهیل (۱۳۹۵). ارزیابی تأثیر پیری بذر بر برخی خصوصیات جوانه‌زنی لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) توده بومی استان گیلان تحت شرایط تنش شوری. ششمین همایش ملی حبوبات ایران، خرم‌آباد، ایران.

هلالی سلطان احمدی، فهیمه، عامریان، محمدرضا، عباس‌دخت، حمید، و قیاسی، مهدی (۱۴۰۰). مطالعه تأثیر پرایمینگ بر القای مقاومت به تنش خشکی در مرحله جوانه‌زنی و عملکرد کمی و کیفی همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.). رساله دکتری، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران.

هلالی سلطان احمدی، فهیمه، عامریان، محمدرضا، قیاسی، مهدی، و عباس‌دخت، حمید (۱۳۹۷). بررسی تأثیر پیش‌ تیمار بذر بر

عملکرد، اجزا عملکرد و غلظت عنصر معدنی فسفر تحت تنش خشکی در همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.). تحقیقات

گیاهان دارویی و معطر ایران، ۴(۳۴)، ۵۶۵-۵۷۸. DOR: 10.22092/IJMAPR.2018.116528.2214

- Abdel-Mola, M. A. M., & Ayyat, A. M. (2020). Interactive effects of water salinity stress and chitosan foliar-spray application on vegetative and flowering growth aspects and chemical constituents of pot marigold (*Calendula officinalis* L.) plant. *Scientific Journal of Agricultural Sciences*, 2(2), 80-89. <https://doi.org/10.21608/sjas.2020.47674.1048>
- Abdul-Baki, A. A., & Anderson, J. D. (1973). Vigor determination in soybean by multiple criteria. *Crop Science*, 13, 630-633. <https://doi.org/10.2135/cropsci1973.0011183X001300060013x>
- Adamipour, N., Khoshkhui, M., Salehi, H., & Rho, H. (2019). Effect of vermicompost on morphological and physiological performances of pot marigold (*Calendula officinalis* L.) under salinity conditions. *Advances in Horticultural Science*, 33(3), 345-358. <https://doi.org/10.13128/ahs-23714>
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
- Afzal, I., Basra, S. M. A., & Ahmad, N. (2011). Hormonal priming induces salt tolerance in wheat through enhanced antioxidant defence system. *Cereal Research Communications*, 39(3), 334-342. <https://doi.org/10.1556/CRC.39.2011.3.3>
- Afzal, I., Rahim, A., Qasim, M., Younis, A., Nawaz, A., & Bakhtavar, M. A. (2017). Inducing salt tolerance in french marigold (*Tagetes patula*) through seed priming. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 16(3), 109-118. <https://doi.org/10.24326/asphc.2017.3.11>
- Akhtar, G., Faried, H. N., Razzaq, K., Ullah, S., Wattoo, F. M., Shehzad, M. A., Sajjad, Y., Ahsan, M., Javed, T., & Dessoky, E. S. (2022). Chitosan-induced physiological and biochemical regulations confer drought tolerance in pot marigold (*Calendula officinalis* L.). *Agronomy*, 12(2), 474. <https://doi.org/10.3390/agronomy12020474>
- Alam, M. S., Tester, M., Fiene, G., & Mousa, M. A. A. (2021). Early growth stage characterization and the biochemical responses for salinity stress in tomato. *Plants*, 10(4), 712. <https://doi.org/10.3390/plants10040712>
- Almansoori, M., Kinet, M., & Lutts, Y. (2001). Effect of salt and osmotic stresses on germination in durum wheat (*Triticum durum* Defs.). *Plant and Soil*, 231(2), 243-254. <https://doi.org/10.1023/A:1010378409663>
- Balasubramaniam, T., Shen, G., Esmaili, N., & Zhang, H. (2023). Plants' response mechanisms to salinity stress. *Plants*, 12(12), 2253. <https://doi.org/10.3390/plants12122253>
- Bayat, H., Shafie, F., & Shahraki, B. (2022). Salinity effects on growth, chlorophyll content, total phenols, and antioxidant activity in *Salvia lavandulifolia* Vahl. *Advances in Horticultural Science*, 36(2), 145-153. <https://doi.org/10.36253/ahsc-12015>
- Catiempo, R. L., Photchanachai, S., Bayogan, E. R. V., & Wongs-Aree, C. (2021). Impact of hydropriming on germination and seedling establishment of sunflower seeds at elevated temperature. *Plant, Soil and Environment*, 67, 491-498. <https://doi.org/10.17221/163/2021-PSE>
- Chen, X., Zhang, R., Xing, Y., Jiang, B., Li, B., & Xu, X. (2021). The efficacy of different seed priming agents for promoting sorghum germination under salt stress. *PloS One*, 16(1), e0245505. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245505>
- Datta, K. S., & Dayal, J. (1991). Studies on germination and early seedling growth of gram (*Cicer arietinum* L.) as affected by salinity. In: *Plant Physiology* (eds. Dhir, K. K., Dua, I. S. and Chark, K. S.) Pp. 273-276. Haryana Agricultural University, India.
- Ellis, R. H., & Roberts, E. H. (1980). Seed physiology and seed quality in soybean. In: *Advances in Legume Science* (eds. Summerfield, R. J. and Bunting, A. H.) Pp. 287-311. Royal Botanic Gardens, United Kingdom.
- Emmerich, W. E., & Hardegree, S. P. (1990). Polyethylen glycol solution contact effect on seed germination. *Agronomy Journal*, 82, 1103-1107. <https://doi.org/10.2134/agronj1990.00021962008200060015x>
- Garcia-Risco, M. R., Mouhid, L., & Padilla, A. L. (2017). Biological activities of Asteraceae (*Achillea millefolium* and *Calendula officinalis*) and Lamiaceae (*Melissa officinalis* and *Origanum majorana*) plant extracts. *Plant Foods for Human Nutrition*, 72(1), 96-102. <https://doi.org/10.1007/s11130-016-0596-8>
- Giannopolitis, C. N., & Ries, S. K. (1977). Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. *Journal of Plant Physiology*, 59(2), 309-314. <https://doi.org/10.1104/pp.59.2.309>
- Hamza, O. M., & AL-Taey, D. K. A. (2020). A study on the effect of glutamic acid and benzyl adenine application up on growth and yield parameters and active components of two Broccoli hybrids. *International Journal of Agricultural and Statistical Sciences*, 16(1), 1163-1167. <https://doi.org/connectjournals.com/03899.2020.16.1163>
- Harris, D., Raghuvanshi, B. S., & Gangwar, J. S. (2001). Participatory evaluation by farmers of onfarm seed priming in wheat in India and Nepal. *Experimental Agriculture*, 37(3), 403-415. <https://doi.org/10.1017/S0014479701003106>
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Mahmud, J. A., Fujita, M., & Fotopoulos, V. (2020). Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of

- a universal defense regulator. *Antioxidants*, 9(8), 681. <https://doi.org/10.3390/antiox9080681>
- Hemeda, H. M., & Klein, B. P. (1990). Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetable extracts. *Journal of Food Science*, 55, 184-185. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb06048.x>
- Hoseini, M., Baser, S., & Jahandideh, E. (2013). Response of fennel to priming techniques. *Annual Review and Research in Biology*, 3, 124-130. <http://eprint.subtopublish.com/id/eprint/2823>
- Ibrahim Ehab, A. (2016). Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds. *Journal of Plant Physiology*, 192, 38-46. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.12.011>
- Imran, M., Mahmood, A., Römheld, V., & Neumann, G. (2013). Nutrient seed priming improves seedling development of maize exposed to low root zone temperatures during early growth. *European Journal of Agronomy*, 49, 141-148. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2013.04.001>
- Iqbal, H., Yaning, C., Rehman, H., Waqas, M., Ahmed, Z., Raza, S. T., & Shareef, M. (2020). Improving heat stress tolerance in late planted spring maize by using different exogenous elicitors. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 80(1), 30-40. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392020000100030>
- ISTA. (2012). International Rules for Seed Testing. Bassersdorf, Switzerland: The International Seed Testing Association (ISTA).
- Ivushkin, K., Bartholomeus, H., Bregt, A. K., Pulatov, A., Kempen, B., & De Sousa, L. (2019). Global mapping of soil salinity change. *Remote Sensing of Environment*, 231(13), 111260. <https://doi.org/10.1016/j.rse.2019.111260>
- Jamil, M., Lee, D. B., Jung, K. Y., Ashraf, M., Lee, S. C., & Rha, E. S. (2006). Effect of salt (NaCl) stress on germination and early seedling growth of four vegetables species. *Journal of Central European Agriculture*, 7(2), 273-282.
- Kadam, C. L., Bhingare, R., Sumbe, R., Nikam, A., & Patil, G. (2013). Physicochemical and phytochemical investigation of *Tagetes erecta* Linn flowers (Asteraceae). *Journal of Biology Science Open*, 1(1), 21-24. <https://doi.org/10.7897/2321-6328.01124>
- Kaya, M. D., Okcu, G., Atak, M., Cıkili, Y., & Kolsarici, O. (2006). Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *European Journal of Agronomy*, 24(4), 291-295.
- Kohli, S. K., Khanna, K., Bhardwaj, R., Abda Allaha, E. F., Ahmad, P., & Corpas, F. J. (2021). Assessment of subcellular ROS and NO metabolism in higher plants: Multifunctional signalling molecules. *Antioxidants*, 8(12), 641. <https://doi.org/10.3390/antiox8120641>
- Lu, S., Su, W., Li, H., & Guo, Z. (2009). Abscisic acid improves drought tolerance of triploid bermudagrass and involves H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>- and NO-induced antioxidant enzyme activities. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47, 132-138. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2008.10.006>
- Maguire, J. D. (1962). Speed of germination, aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. *Crop Science*, 2, 176-177. <https://doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x>
- McDonald, M. B. (1999). Seed deterioration. Physiology, repair and assessment. *Seed Science and Technology*, 27(1), 177-237. <http://pascalfrancis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt>
- Mirmazloun, I., Kiss, A., Erdelyi, E., Ladanyi, M., Nemeth, E. Z., & Radacsi, P. (2020). The effect of osmopriming on seed germination and early seedling characteristics of *Carum carvi* L. *Agriculture*, 10(4), 94. <https://doi.org/10.3390/agriculture10040094>
- Mondal, S., & Bose, B. (2021). Seed priming: An interlinking technology between seeds, seed germination and seedling establishment. In: *Plant Reproductive Ecology—Recent Advances* (eds. Rustagi, A. and Chaudhry, B.) Pp. 1-16. IntechOpen, London.
- Mosavian, S. N., & Eshraghi-Nejad, M. (2013). The effects of seed size and salinity on seed germination characteristic in wheat (var. Chamran). *International Journal of Farming and Allied Sciences*, 2(2), 1379-1383.
- Mukhtar, K., Afzal, I., Qasim, M., Basra, S. M. A., & Shahid, M. (2013). Does priming promote germination and early stand establishment of French Marigold (*Tagetes patula* L.) seeds by inducing physiological and biochemical changes? *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 12(3), 13-21.
- Ofoe, R., Qin, D., Gunupuru, L. R., Thomas, R. H., & Abbey, L. (2022). Effect of pyroligneous acid on the productivity and nutritional quality of greenhouse tomato. *Plants*, 11(13), 1650-1665.
- Orzali, L., Corsi, B., Forni, C., & Riccioni, L. (2017). Chitosan in agriculture: A new challenge for managing plant disease. In: *Biological Activities and Application of Marine Polysaccharides* (ed. Shalaby, E. A.) Pp. 17-36. Intech. <https://doi.org/10.5772/66840>
- Paniagua-Zambrana, N. Y., Bussmann, R. W., & Romero, C. (2020). *Calendula officinalis* L. asteraceae. In: *Ethnobotany of the Andes* (eds. Paniagua-Zambrana, N. and Bussmann, R.) Pp. 1-4. Ethnobotany of Mountain Regions. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-77093-2\\_51-1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-77093-2_51-1)
- Pawar, V., & Laware, S. (2018). Seed priming a critical review. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*, 5, 94-101. <https://doi.org/10.26438/ijrsbs/v5i5.94101>
- Rajabi Dehnavi, A., Zahedi, M., & Ludwiczak, A. (2020). Effect of salinity on seed germination and seedling development of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) genotypes. *Agronomy*, 10(6), 859.

- <https://doi.org/10.3390/agronomy10060859>
- Ravinder, S., Dhaliwal, H. S., & Joshi, A. S. (2006). Contract farming of floriculture in Punjab- problems and prospects. *Journal of Ornamental Horticulture*, 9, 153-158.
- Rehman, H., Iqbal, H., Basra, S. M. A., Afzal, I., Farooq, M., Wakeel, A., & Ning, W. (2015). Seed priming improves early seedling vigor, growth and productivity of spring maize. *Journal of Integrative Agriculture*, 14(9), 1745-1754. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(14\)61000-5](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(14)61000-5)
- Rehman, S., Harris, P. J. C., Bourne, W. F., & Wikin, J. (1997). The effect of sodium chloride on germination and the potassium and calcium contents of Acacia seeds. *Seed Science and Technology*, 25, 45-57. <http://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=2682205>
- Rahneshan, Z., Nasibi, F., & Moghadam, A. A. (2018). Effects of salinity stress on some growth physiological, biochemical parameters and nutrients in two pistachio (*Pistacia vera* L.) rootstocks. *Journal of Plant Interactions*, 13, 73-82. <https://doi.org/10.1080/17429145.2018.1424355>
- Rhaman, M. S., Imran, S., Rauf, F., Khatun, M., Baskin, C. C., Murata, Y., & Hasanuzzaman, M. (2021) Seed priming with phytohormones: An effective approach for the mitigation of abiotic stress. *Plants*, 10, 37. <https://doi.org/10.3390/plants10010037>
- Saadat, H., Sedghi, M., Seyed Sharifi, R., & Farzaneh, S. (2023). Expression of gibberellin synthesis genes and antioxidant capacity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Sadri) seeds induced by chitosan under salinity. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 13(4), 4715-4728. <https://doi.org/10.30495/IJPP.2023.1978837.1460>
- Sairam, R. K., Rao, K. V., & Srivastava, G. C. (2002). Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science*, 163, 1037-1046. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00278-9](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00278-9)
- Sarker, U, & Oba, S. (2020). The response of salinity stress induced A. tricolor to growth, anatomy, physiology, nonenzymatic and enzymatic antioxidants. *Frontiers in Plant Science*, 11, 559876. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.559876>
- Savvides, A., Ali, S., Tester, M., & Fotopoulos, V. (2016). Chemical priming of plants against multiple abiotic stresses: Mission possible? *Trends in Plant Science*, 21(4), 329-340. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.11.003>
- Shabani Fard, R., Aghaee Hanjani, E., & Danaee, E. (2024). Effects of polyamines on morphophysiological traits of *Calendula officinalis* L. under salinity stress caused by potassium chloride and sodium chloride salts. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 11(2), 189-200. <https://doi.org/10.22059/IJHST.2023.357306.630>
- Shahverdi, M. A., Omidi, H., & 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(4), 353-362. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v39n4172539>
- Sharif, M. A., El-Beshbeshy, T. R., & Richter, C. (1998). Response of some Egyptian varieties of wheat to salt stress through potassium application. *Seed Abstracts*, 21(10), 470.
- Sharma, A. D., Thakur, M., Rana, M., & Singh, K. (2004). Effect of plant growth hormones and abiotic stresses on germination, growth and phosphates activities in *Sorghum bicolor* L. Moench seeds. *African Journal of Biotechnology*, 3(6), 308-312. <https://hdl.handle.net/1807/6501>
- Skott, S. J., James, R. A., & Williams, W. A. (1984). Review of data analysis methods for seed germination. *Crop Science*, 24(6), 1192-1199. <https://doi.org/10.2135/cropsci1984.0011183X002400060043x>
- Tanveer, A., Khan, M. A., Ali, H. H., Javaid, M. M., Raza, A., & Chauhan, B. S. (2020). Influence of different environmental factors on the germination and seedling emergence of *Ipomoea eriocarpa* R. Br. *Crop Protection*, 130, 105070. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.105070>
- Turhan, H. & Ayaz, C. (2004). Effect of salinity on seedling emergence and growth of sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars. *International Journal of Agriculture and Biology*, 6, 149-152.
- Verma, S, & Mishra, S. N. (2005). Putrescine alleviation of growth in salt stressed *Brassica juncea* by inducing antioxidative defense system. *Journal of Plant Physiology*, 162(6), 669-677. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2004.08.008>
- Yadegari, M. (2015). Foliar application of micronutrients on essential oils of Borage, Thyme and Marigold. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 15(4), 949-964. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162015005000066>
- Zhang, H. J., Zhang, N., Yang, R. C., Wang, L., Sun, Q. Q., & Li, D. B. (2014). Melatonin promotes seed germination under high salinity by regulating antioxidant systems, ABA and GA 4 metabolites in response to stress. *Molecules*, 57(3), 269-79. <http://dx.doi.org/10.1111/jpi.12167>. Epub 2014 Sep 9
- Zhu, J. K. (2007). Plant salt stress. *Nyclopedia of Life Sciences*, 1-5. <https://doi.org/10.1038/npg.els.0001300>
- Zia, S, & Khan, M. A. (2004). Effect of light salinity and temperature on seed germination of *Limonium stocksii*. *Canadian Journal of Botany*, 82, 1-151. <https://doi.org/10.1139/b03-118>
- Zhou, G., Ma, B. L., Li, J., Feng, C., Lu, J., & Qin, P. (2010). Determining salinity threshold level for castor bean emergence and stand establishment. *Crop Science*, 50, 2030-2036. <https://doi.org/10.2135/cropsci2009.09.0535>

## Effect of priming using different combinations on germination indicators and antioxidant enzyme activity in Marigold seedling (*Calendula officinalis*) under salinity stress

Haniyeh Saadat<sup>1</sup>, Mohammad Sedghi<sup>\*2</sup>

<sup>1</sup> Crop Ecology, University of Mohaghegh Ardabili, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Ardabil, Iran

<sup>2</sup> Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

(Received: 2024/04/09, Accepted: 2024/10/15)

### Abstract

In order to investigate the effect of priming on germination indicators and antioxidant enzyme activity in Marigold under salinity stress, a factorial experiment was conducted based on a completely randomized design with 3 replications. Treatments were accelerated at four salinity levels (0, 50, 100, and 150 mM) and four priming levels (control (distilled water), priming with salicylic acid (100 mg/L), gibberellin (20 mg/L) and chitosan (0.8% weight volume, all of which had been dissolved in 1% acetic acid). The results showed that the germination percentage (GP), seedling length (SL), Allometric Coefficient (CA) and Seedling weight vigor index (SWVI) decreased by 21, 37, 17 and 43% respectively compared to the salinity control, but priming with salicylic acid, gibberellin especially chitosan improved these traits. The lowest Daily Germination Speed (DGS) in priming with salicylic acid and gibberellin, especially priming with chitosan, and Mean Germination Time (MGT) were obtained in priming with chitosan and without salinity. The Germination rate (GR) and Seedling length vigor index (SLVI) in chitosan treatment and non-salinity compared to the control and 150 mM salinity showed an increase respectively about 75% and 73%. The catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) enzymes activity in priming with chitosan compared to the control (distilled water) showed an increase respectively of about 18% and 15%. Also, peroxidase (POX) enzyme activity in priming with chitosan and salinity of 150 mM was about 32% higher than the control (distilled water) and salinity of 50 mM. The results showed that seed treatment with salicylic acid, gibberellin, especially chitosan by stimulating antioxidant enzymes and neutralizing free radicals can reduce the harmful effects of salinity stress on some traits in Marigold seedling and improve seedling growth. Therefore, since pot marigold seeds are generally weak and have low germination power, the application of 0.8% chitosan is a suitable option for improving germination and seedling growth of this plant.

**Keywords:** Chitosan, Gibberellin, Priming, Marigold, Salicylic Acid

Corresponding author, Email: m\_sedghi@uma.ac.ir