فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد ۱۴، شماره ۶۸، مهر و آبان‌ماه ۱۴۰۴ صفحه: ۱۳۳-۱۵۳
https://doi.org/10.22034/14.68.133

مقاله پژوهشی

اثر پرایمینگ بذر با عناصر روی و آهن بر برخی شاخص‌های جوانه‌زنی، صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی و بیان ژن‌های CBDAS و THCAS در گیاه شاهدانه (*Cannabis sativa* L.) تحت تنش شوری

فاطمه زندی طغان، حمید سبحانیان*، عنایت‌اله یزدان پناه ، غلام‌رضا بخشی خانیکی و محمد علی ابراهیمی
گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام‌نور، صندوق پستی ۴۶۹۷-۱۹۳۹۵، تهران، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۵/۰۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۳/۱۲/۲۱)

چکیده

پرایمینگ بذر با عناصر کم‌مصرف می‌تواند رویکرد امیدبخشی در کاهش اثرات مضر تنش شوری در گیاه شاهدانه باشد. برای پرایمینگ، بذور در معرض محلول‌های $ZnSO_4.7H_2O$ با غلظت ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار و $FeSO_4.7H_2O$ با غلظت ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار قرار گرفتند. تیمار شوری با افزودن ۲ میلی‌لیتر در سه روز متوالی از محلول ۵۰ (تنش ملایم) و ۱۰۰ (تنش شدید) میلی‌مولار کلرید سدیم در پتری‌دیش اعمال شد. در ادامه، گیاهچه‌ها از پتری‌دیش به گلدان‌های پلاستیکی منتقل و در آنجا با محلول نمکی ۵۰ (تنش ملایم) و ۱۰۰ (تنش شدید) میلی‌مولار کلرید سدیم آبیاری شدند. داده‌ها بر مبنای آزمایش فاکتوریل با طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار تجزیه‌تحلیل شدند. تنش شوری باعث کاهش طول گیاهچه، وزن خشک گیاهچه، درصد جوانه‌زنی، بنیه بذر، وزن خشک بوته، پروتئین کل، کلروفیل، کاروتنوئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت شد، درحالی‌که نشت الکترولیت و محتوی پرولین را افزایش داد. در مقابل، پرایمینگ بذور شاهدانه با ریزمغذی‌های آهن و روی سبب افزایش پایداری غشاء و تولید اسمولیت‌های سازگار مثل پرولین، حفاظت از رنگیزه‌های فتوسنتزی و بهبود فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز شد. بیان ژن‌های *CBDAS* و *THCAS* تحت تأثیر شوری قرار گرفت؛ غلظت‌های مختلف آهن و روی توانستند باعث افزایش بیان این ژن‌ها شوند و امکان تولید بیشتر فرآورده‌های آنها را در سلول فراهم کنند. تیمار ترکیبی ۵۰ میلی‌مولار روی و ۷۵ میلی‌مولار آهن در بیشتر موارد توانست بهترین نتیجه را ایجاد کند. با توجه به تأثیر مثبت آهن و روی، توصیه می‌شود که از غلظت ترکیبی ۵۰ میلی‌مولار روی و ۷۵ میلی‌مولار آهن برای بهبود رشد شاهدانه تحت تنش شوری استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدانت، کانابینوئید، گیاه دارویی، ریزمغذی‌ها

مقدمه

گیاه شاهدانه (*Cannabis sativa* L.) دارای خواص درمانی است که به نوبه خود به دلیل حضور کانابینوئیدهای کانابیدیول (CBD) و دلتا-۹-تتراهیدروکانابینول (THC) است (Andre *et al.*, 2016). علیرغم اهمیت درمانی این گیاه، جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های آن تحت تأثیر غلظت بالای نمک‌ها در خاک و آب آبیاری و متعاقباً کمبود ریزمغذی‌های آهن و روی قرار دارند (Andre *et al.*, 2016). مطالعات گذشته حاکی از این است که

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: hamid.sobhanian@pnu.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]
[DOI: 10.22034/14.68.133]

گیاه شاهدانه از نظر حساسیت به شوری در دسته گیاهان نیمه‌حساس قرار دارد (Beheshti *et al*., 2022). در شرایط تنش شوری، توانایی جوانه‌زنی بذرها کاهش یافته و متعاقباً درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی بذرها و طول ساقه‌چه و ریشه‌چه نیز کاهش می‌یابد (Hao *et al*., 2021). در واقع، تنش شوری با محدودسازی جذب آب، کاهش تجزیه مواد ذخیره‌ای بذر و اختلال در ساخت پروتئین‌های ذخیره‌ای سبب تضعیف جوانه‌زنی بذر می‌شود (Zhao *et al*., 2021). ریشه‌های گیاهچه‌ها در معرض تأثیرات نامطلوب تنش شوری قرار می‌گیرند و این موضوع به نوبه خود باعث کاهش طول ریشه، کمبود جذب آب و عناصر غذایی و کاهش عملکرد می‌شود (Yang and Guo, 2018). گیاهان از سازوکارهای مختلف مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی به منظور پاسخ به فراوانی بالای نمک‌ها استفاده می‌کنند. برای مثال، گیاهچه‌ها اقدام به اتخاذ سازوکارهایی نظیر افزایش سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مثل کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیدازها می‌کنند تا بدین طریق مانع از آسیب به غشای سلولی و پراکسیداسیون اسیدهای چرب شوند. همچنین، محتوای پرولین، قند، فنل، فلاونوئید و غیره در گیاه افزایش می‌یابد تا از این طریق، بر اثرات سوء ناشی از غلظت بالای نمک‌ها در محیط غلبه کند (Ondrasek *et al*., 2022).

تحت تنش شوری، کمبود عناصر ریزمغذی آهن و روی می‌تواند تأثیر قابل‌توجهی بر مراحل جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای شاهدانه داشته باشد (Hassanpouraghdam *et al*., 2020). اهمیت کمبود آهن (Fe) به این دلیل است که یک عنصر ضروری برای تولید کلروفیل است و ضمناً در فرآیند فتوسنتز ایفای نقش می‌کند. در مرحله جوانه‌زنی، کمبود آهن می‌تواند باعث کاهش توانایی جوانه‌زنی بذرها، ضعف ریشه‌زنی و کاهش سرعت رشد گیاهچه‌ها شود. در مرحله گیاهچه‌ای، کمبود آهن می‌تواند باعث کلروز و زردشدن برگ‌ها شود که نشان‌دهنده کمبود کلروفیل است (Naeem *et al*., 2017). اهمیت کمبود روی (Zn) نیز به این دلیل است که روی به عنوان یک ریزمغذی مهم در فعالیت بسیاری از آنزیم‌های کلیدی در گیاهان نقش دارد. کمبود روی به نوبه خود می‌تواند باعث کاهش سرعت و درصد جوانه‌زنی بذرها، ضعف رشد گیاهچه‌ها و اختلال در تشکیل ریشه‌ها شود (Xue *et al*, 2021). محققان پیشنهاد می‌کنند که تیمار آهن سبب افزایش بیوسنتز کلروفیل و ممانعت از زردشدن برگ‌ها در گیاهان مواجه با شوری می‌شود. همچنین، تیمار روی نیز با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، ظرفیت مقابله سلولی با رادیکال‌های آزاد تولیدشده طی تنش اکسیداتیو را ارتقا می‌دهد (Serrano and Rodriguez-Navarro, 2011). در نتیجه، اطمینان از تأمین عناصر آهن و روی برای تضمین جوانه‌زنی و رشد سالم گیاهچه‌ها در شرایط تنش شوری لازم است (Xue *et al*, 2021).

تا کنون، رویکردهای مختلفی به منظور غلبه بر مشکل کمبود ریزمغذی‌های آهن و روی در شرایط تنش شوری ارائه شده است (Rhaman *et al*., 2020). در این میان، پرایمینگ بذر با عناصر کم‌مصرف یا نوتروپرایمینگ به دلیل مزایای منحصربه‌فرد خود مثل آسان، مؤثر و کم‌هزینه بودن بیشتر مورد توجه قرار گرفته است (Ibrahim, 2016). بذور پرایم‌شده عموماً دارای جوانه‌زنی همزمان و بیشتری، آبگیری کوتاه مدت‌تر بذر و فعالیت متابولیکی بیشتری برای جوانه‌زنی هستند (Farooq *et al*., 2019). در یک پژوهش اخیر، Ahmad و همکاران (۲۰۲۴) نشان دادند که پرایمینگ بذر اسفناج با نانوذرات اکسید روی می‌تواند اثرات سوء تنش شوری و تنش اکسیداتیو بر فتوسنتزی و دسترسی به مواد مغذی را کاهش دهد. آنها دریافتند که پرایمینگ بذر سبب بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، شاخص‌های رشد، محتوای کلروفیل و پارامترهای تبادل گاز تحت تنش شوری می‌شود. نانوذرات روی همچنین به طور قابل‌توجهی باعث کاهش محتوای یون‌های سدیم در ریشه شدند که نشان‌دهنده تحریک سازوکارهای دفاعی گیاه در برابر غلظت بالای نمک‌ها در محیط است. در پژوهش مشابهی، Umair و همکاران (۲۰۲۴) نشان دادند که پرایمینگ بذر با روی باعث بهبود سنتز کلروفیل، محتوای آب برگ، فعالیت‌های آنتی اکسیدانی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]

[DOI: DOI: 10.22034/14.68.133]

(آسکوربات پراکسید، کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز)، قندهای محلول، پرولین، جذب/ تجمع پتاسیم و کاهش نشت الکترولیت، مالون دی‌آلدئید و H_2O_2 می‌شود. آنها همچنین نشان دادند که پرایمینگ بذر با روی سبب تقویت جوانه‌زنی و رشد گیاهچه می‌شود. بنابراین، پیشنهاد کردند که پرایمینگ بذر با روی قادر است تا سمیت شوری را از طریق تنظیم هموستاز مواد مغذی، فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، سنتز کلروفیل، تجمع اسمولیت و حفظ وضعیت آب مدیریت کند. در مطالعه‌ای، Zafar و همکاران (۲۰۲۲)، نقش پرایمینگ نانوذرات روی و آهن را در کاهش تأثیر مضر تنش شوری (کلرید سدیم) بر رشد گیاهان اسفناج بررسی کردند. محققان دریافتند که نانوذرات آهن و روی باعث کاهش غلظت پراکسید هیدروژن، مالون دی‌آلدئید و محتوای آنتوسیانین و افزایش پروتئین‌های محلول، محتویات کلروفیل، اسید آسکوربیک، قندها و محتویات فنلی کل می‌شود. بنابراین، پرایمینگ بذر با نانوذرات روی و آهن در تجمع اسمولیت‌های مختلف و تولید مولکول‌های آنتی‌اکسیدان تحت تنش در گیاهان مفید است. در مطالعه مشابهی، Askari و همکاران (۲۰۱۹)، تأثیر پرایمینگ نانوکلات آهن و پتاسیم بر بهبود جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاه سیاهدانه را تحت تنش شوری ارزیابی کردند. پرایمینگ نانوکلات آهن اثر مثبتی بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه سیاهدانه تحت تنش داشت به‌طوری‌که پرایمینگ نانوکلات آهن سبب افزایش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه شد. در نتیجه، محققان پیشنهاد کردند که می‌توان برای کاهش اثرات سوء شوری بر سیاهدانه، از پیش‌تیمار نانوکلات آهن و پتاسیم بهره برد. همچنین، Hoseinpur-Askarian و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که پرایمینگ بذر موسیر با مواد مغذی آهن و روی منجر به بهبود شاخص‌های مختلف جوانه‌زنی و بنیه گیاه موسیر می‌شود. آنها همچنین مشاهده کردند که غلظت‌های مختلف آهن و روی دارای اثرات متفاوتی بر جوانه‌زنی بذر هستند. در کل، این مطالعات نشان می‌دهد که جوانه‌زنی و صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی شاهدانه تحت پرایمینگ بذر با آهن و روی قرار می‌گیرند.

با توجه به تأثیر منفی شوری بر شاهدانه و کاهش دسترسی این گیاه به آهن و روی، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر پرایمینگ بذر با عناصر روی و آهن بر شاخص‌های جوانه‌زنی، صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی و بیان ژن‌های *CBDAS* و *THCAS* در گیاه شاهدانه (*Cannabis sativa* L.) تحت تنش شوری انجام شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و آزمایش: در این مطالعه، بذور گیاه شاهدانه از شرکت پاکان بذر تهیه شد. سپس، در قالب آزمایش فاکتوریل (فاکتور اول شامل ریزمغذی‌ها و فاکتور دوم شامل تنش) بر مبنای طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار، تأثیر پرایمینگ عناصر آهن و روی بر گیاه شاهدانه تحت تنش شوری در دانشگاه پیام‌نور تهران مورد مطالعه قرار گرفت. نخست بذرها به مدت ۱۰ دقیقه در معرض هیپوکلریت سدیم ۱/۵ درصد قرار گرفتند و بعد از سه بار شستشو با آب‌مقطر، به‌مدت ۳۰ ثانیه در معرض قارچ‌کش بنومیل (دو در هزار) قرار گرفتند و سه بار دیگر با آب‌مقطر شستشو شدند.

تیمارهای آزمایشی: بذور به مدت ۲۴ ساعت در معرض محلول‌های $ZnSO_4.7H_2O$ با غلظت ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار (Bukhari *et al.*, 2021) و $FeSO_4.7H_2O$ با غلظت ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار (Hoseinpur *et al.*, 2019) در فضای انکاباتور با دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بعد از پرایمینگ، بذرها با آب استریل سه مرتبه شستشو شدند.

جهت اعمال تنش بر جوانه‌زنی، تعداد ۱۵ بذر (پنج بذر برای هر تکرار) بر روی پد پارچه‌ای خیس در داخل پتری‌دیش قرار گرفتند. تنش شوری معادل با ۵۰ (تنش ملایم) و ۱۰۰ (تنش شدید) میلی‌مولار محلول کلرید سدیم اعمال شد. نحوه تیمار شوری بدین شکل بود که پدهای پارچه‌ای در پتری‌دیش به طور روزانه (تا ۳ روز) با ۲ میلی‌لیتر از محلول نمکی مرطوب شدند. در ادامه، بشقابک‌های حاوی بذر در داخل

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]
[DOI: DOI: 10.22034/14.68.133]

آنکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا روز هفتم خصوصیات جوانه‌زنی آنها مطالعه شود. سپس، جوانه‌ها به گلدان‌های پلاستیکی حاوی بستر کشت (کوکوپیت، پیت‌ماس و پرلیت با نسبت حجمی ۶۰، ۴۰ و ۱۰ درصد) منتقل شدند.

جهت اعمال تنش بر گیاه کامل، دو سطح کلرید سدیم شامل ۵۰ (تنش ملایم) و ۱۰۰ (تنش شدید) میلی‌مولار لحاظ شد (Beheshti *et al.*, 2022). سطح شوری برای ممانعت از شوک اسمزی و یا اعمال تنش ناگهانی، از ۲۵ میلی‌مولار کلرید سدیم شروع شد و به‌تدریج غلظت نمک در گلدان‌های شاهدانه بیشتر شد. آبیاری با محلول نمکی (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار NaCl) انجام شد. بعد از چهار مرتبه اعمال تنش با فاصله یک هفته، از آب خروجی ته گلدان‌ها جهت سنجش هدایت الکتریکی (EC) استفاده شد. در نمونه‌ایی که شوری بیش از حد بود، آبشویی صورت گرفت تا به مقدار موردنظر برسند.

اندازه‌گیری صفات شاهدانه در پاسخ به تیمارها: جوانه‌زنی در این مطالعه به‌صورت خروج ریشه‌چه به میزان دو میلی‌متر در نظر گرفته شد. در روز هشتم بعد از جوانه‌زنی، طول گیاهچه به همراه وزن تر و در نهایت وزن خشک گیاهچه اندازه‌گیری و ثبت گردید. خصوصیات جوانه‌زنی با استفاده از برنامه Garmin محاسبه شدند (Soltani, and Maddah, 2010). وزن خشک و تر گیاهان شاهدانه نیز با استفاده ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شدند.

نشت الکترولیت: نخست میزان ۰/۳ گرم بافت برگی با آب‌مقطر شستشو و درون فالکون ۱۵ میلی‌لیتری از آب دیونیزه در دمای ۲۵°C برای یک شبانه‌روز نگهداری شد. متعاقباً ضریب هدایت الکتریکی اول (EC_1) تعیین شد. در مرحله بعدی، لوله‌های آزمایش در حمام بن‌ماری به مدت ۵۰ دقیقه با دمای ۱۰۰°C قرار گرفتند. سپس، نمونه‌ها در دمای ۲۵ °C خنک شده و ضریب هدایت الکتریکی دوم (EC_2) محاسبه شد. در نهایت، سطح نشت الکترولیت با استفاده از رابطه زیر برآورد شد (Lutts *et al.*, 1996).

$$EC\% = (EC1/EC2) \times 100$$

محتوی پرولین: غلظت پرولین با استفاده از اسپکتروفتومتری و بر اساس روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) اندازه‌گیری شد. به طور خلاصه، ۰/۵ گرم نمونه برگی به لوله حاوی ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک افزوده شد. بعد از سانتریفیوژ، ۲ میلی‌لیتر از عصاره به لوله آزمایش حاوی ۲ میلی‌لیتر اسید نایندرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلایسال منتقل شد. بعد از قرارگیری به مدت ۶۰ دقیقه در حمام آب گرم، نمونه‌ها بر روی یخ قرار گرفته تا کاملاً سرد شوند. در ادامه، ۴ میلی‌لیتر تولوئن به محلول اضافه شد. با استفاده از استانداردهای صفر، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر پرولین، معادله رگرسیون منحنی استاندارد در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر به روش اسپکتروفتومتری رسم شد. در نهایت، غلظت پرولین موجود در نمونه‌ها برآورد شد.

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی: جهت استخراج عصاره پروتئینی و تعیین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، ۰/۲۵ گرم از پودر برگی با ۲/۵ میلی‌لیتر بافر استخراج (بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار) ترکیب شد. غلظت پروتئین در برگ بر اساس روش بردفورد برآورد شد (Bradford, 1976). برای سنجش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، از روش Beyer و Fridovich (۱۹۸۷) استفاده شد و فعالیت آنزیم بر مبنای واحد آنزیم در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین برآورد شد. به طور خلاصه، ۳۰۰ میکرولیتر بافر واکنش شامل ترایتون ایکس- ۱۰۰ (۰/۰۲۵ درصد)، بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار، متیونین ۱۲ میلی‌مولار، نیتروبلو تترازولیوم ۷۵ میکرومولار و ۵ میکرولیتر از بافر ریبوفلاوین ۲ میکرومولار به هر چاهک افزوده شد. واکنش‌ها بر اساس احیای نوری نیتروبلو تترازولیوم و توانایی سوپراکسید دیسموتاز در ممانعت از این واکنش‌ها بررسی می‌شود. فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) نیز از طریق اسپکتروفتومتر برآورد شد و فعالیت آن بر اساس میکرومول H_2O_2 تجزیه‌شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین ارائه شد (Chance and Maehly, 1955). برای نیل به این هدف، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیم، ۵ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۳/۴۱ مولار، ۳۰۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]

[DOI: DOI: 10.22034/14.68.133]

استفاده شد. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) توسط اسپکتروفتومتری مخلوط واکنش حاوی ۱۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی، آسکوربات ۵ میلی‌مولار، H_2O_2 یک میلی‌مولار، بافر فسفات پتاسیم (pH=۷/۸) ۵۰ میلی‌مولار تعیین شد. در نهایت، فعالیت APX بر اساس حداکثر جذب آسکوربات در طول‌موج ۲۹۰ nm سنجش و بر مبنای میکرومول آسکوربات اکسیدشده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین ارائه شد (Ranieri *et al.*, 2003).

کلروفیل و کاروتنوئید: محتوای کلروفیل و کاروتنوئید بر مبنای روش Arnon (۱۹۴۹) تعیین شد. نخست ۰/۱ گرم نمونه برگی با ۳ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد خرد شده و حجم نهایی به ۱۵ میلی‌لیتر رسید. با سرعت $g \times$ ۵۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه، عصاره حاصل از طریق سانتریفیوژ صاف شد. از اسپکتروفتومتر (Shimadzu UV-160) برای تعیین میزان جذب نمونه‌ها استفاده شد. اسپکتروفتومتر با استون ۸۰ درصد صفر و میزان جذب عصاره در طول‌موج‌های ۶۴۵، ۶۶۳، ۴۸۰ و ۵۱۰ نانومتر یادداشت‌برداری شد.

آنالیز آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS و رسم نمودارها توسط نرم‌افزار Excel انجام شد. آنالیز واریانس به طریق ANOVA و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون LSD در سطح ۵ درصد انجام شد.

بیان ژن‌های *CBD* و *THC*: برای ردیابی الگوی بیان ژن‌های *CBDAS* و *THCAS* از تکنیک Real-time PCR استفاده شد. جهت طراحی آغازگرهای اختصاصی، توالی‌های ژن‌های *CBDAS* و *THCAS* از NCBI برداشت شد. در ادامه، این توالی‌ها با نرم‌افزار ClustalW هم‌ردیف شدند. با توجه به نواحی حفاظت‌شده، طراحی آغازگرها برای هر ژن با استفاده از Primer3 انجام شد. در کنار ژن‌های *CBDAS* و *THCAS*، ژن اکتین ۲ نیز به‌عنوان ژن مرجع بررسی شد (Guo *et al.*, 2018). توالی آغازگرها در جدول ۱ آورده شده است. استخراج RNA توسط کیت Plant RNA isolation kit از شرکت کیاژن انجام شد. در راستای تعیین غلظت RNA و اطمینان از کیفیت آن، نسبت‌های جذب ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر توسط نانودراپ تعیین شد. سپس، الکتروفورز RNA روی ژل آگارز با غلظت ۱/۵ درصد انجام شد. از کیت cDNA Reverse transcription kit طبق دستورالعمل شرکت کیاژن نیز جهت سنتز cDNA استفاده شد. اختصاصیت آغازگرها با دو روش تأیید شد: ۱) حضور تنها یک سیگنال تک‌پیکی در منحنی ذوب؛ ۲) حضور یک باند تکی بر روی ژل آگارز. واکنش PCR شامل ۲ میکرولیتر بافر PCR، ۲/۵ میکرولیتر $MgCl_2$، ۲۰۰ میکرولیتر dNTP، ۱ میکرولیتر از هر آغازگر، ۲ میکرولیتر cDNA در دستگاه PCR (واسرشت‌سازی در ۹۴ درجه برای ۵۰ ثانیه، اتصال در ۶۰ درجه برای ۵۰ ثانیه و گسترش در ۷۲ درجه برای ۵۰ ثانیه) انجام شد. برای سنتز cDNA، PCR از طریق آغازگرهای F&R ژن‌خانه‌دار انجام شد. بعد از اتمام PCR، پنج میکرولیتر از نمونه‌ها بر روی ژل آگاروز ۲٪ تفکیک شد تا کیفیت cDNA معلوم شود. بررسی سنتز cDNA نشان داد که کیفیت cDNA سنتزشده برای اجرای Real Time PCR مطلوب است. واکنش Real-time PCR (۴ میکرولیتر مخلوط واکنش SYBRGreen، ۱ میکرولیتر از هر آغازگر، ۲ میکرولیتر cDNA) بدین شکل بود که جهت تکثیر اولیه در ۳۵ چرخه، نمونه‌ها در دمای واسرشت‌سازی به مدت ۱۰ ثانیه، در دمای اتصال آغازگرها به مدت ۱۰ ثانیه و در مرحله گسترش رشته (۷۲ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۱۰ ثانیه قرار گرفتند. در آخر، بیان نسبی ژن‌ها (به شکل چند برابری) با روش ساده $2^{-\Delta\Delta Ct}$ برآورد شد که در آن ΔΔCt معادل با اختلاف ΔCt مابین نمونه تیمار و شاهد است. پارامتر ΔCt به نوبه خود از اختلاف معیار چرخه آستانه (Ct) مابین ژن هدف و ژن مرجع بدست آمد. آنالیز بیان ژن با استفاده از نرم‌افزار REST انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه گیاه شاهدانه تحت پرایمینگ ریزمغذی‌های آهن و روی و تنش شوری در جدول‌های ۲ تا ۴ آورده شده است.

جدول ۱- آغازگرهای اختصاصی ژن‌های *CBDAS* و *THCAS*

Gene	Primer	Sequence 5' to 3'	Product size

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]
[DOI: DOI: 10.22034/14.68.133]

			(bp)
ACT2	F	ATATTCAGCCACTTGTCTGCGA	137
	R	TATGCGTCTTTCTGGCCCAT	
CBDAS	F	AAGTGAAAACCCTGGTTGATCC	182
	R	GAGCATACACAGTACATCCGG	
THCAS	F	AAAACTTCCTTAAATGCTTCTCAA	173
	R	TAAAATAGTTGCTTGGATATGGGAGTT	

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات جوانه‌زنی و مورفولوژیکی گیاه شاهدانه تحت پرایمینگ ریزمغذی‌های آهن و روی و تنش شوری

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		طول گیاهچه	وزن خشک گیاهچه	درصد جوانه‌زنی	بنیه بذر	وزن خشک بوته
شوری	۲	۱۹/۶۱*	۷/۳۲**	۱۹۳۴/۷**	۷۱/۵۱**	۱۷۴/۶۴**
آهن	۳	۶۷/۷۳**	۱۰/۹۲**	۱۴۵۷/۷**	۱۷۱/۶۱**	۸۱/۹۶**
روی	۳	۳۳/۱۴**	۶/۶۶**	۱۵۹۲/۷**	۶۵/۸۸**	۸۳/۷۵**
آهن × شوری	۳	۳۱/۷۶**	۷/۵۲**	۲۷/۷*	۵/۸۷*	۵/۸۴*
روی × شوری	۳	۱۳/۶۷**	۲/۲۰*	۲۰/۳۵*	۱۵/۹۸*	۶/۶۹*
آهن × روی	۱	۴۱/۸۷*	۶/۸*	۱۶۷۱**	۱۹/۲۲*	۱۰۶/۴**
آهن × روی × شوری	۱	۴۵/۷۰**	۲۷/۱۵**	۱۷۷/۵۶**	۲۳/۸۰*	۶/۵*
خطا	۳۴	۵/۴۹	۱/۰۹	۱۴/۱۶	۳/۷۲	۱/۷
ضریب تغییرات	-	۲۲/۴۴	۲۱/۰۱	۷/۰۵	۱۴/۲۲	۱۰/۵

*** و ** به ترتیب گویای معنی‌داری در سطح ۱ و ۵ درصد**

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات فیزیکوبیوشمیایی گیاه شاهدانه تحت پرایمینگ ریزمغذی‌های آهن و روی و تنش شوری

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		نشت الکترولیت	پرولین	پروتئین کل	SOD	کاتالاز	APX
شوری	۲	۶۸۸/۲۶**	۳۵/۹۵*	۵۴/۹۵**	۲۸/۳۵*	۰/۰۱۲*	۲۱/۶۹**
آهن	۳	۶۰۴/۵۵**	۲۵/۸۳*	۱۶۵/۱۳**	۳۹/۶۲**	۰/۰۲۷**	۱۲/۴۵*
روی	۳	۵۱۲/۷۷**	۵۵/۶۵**	۱۲۰/۹۷**	۸۶/۱۵**	۰/۰۲۱**	۲۵/۴۹**
آهن × شوری	۳	۲۱۴/۰۵**	۸۷/۶۲**	۱۴۶/۵۲**	۷۴/۶۷**	۰/۰۰۲*	۲۳/۵۱**
روی × شوری	۳	۱۸۳/۵۷**	۳۴/۰۹*	۶۹/۳۶**	۲۲/۳۲*	۰/۰۰۸*	۶/۱۸*
آهن × روی	۱	۱۸۲/۱۰*	۴۹/۵۳*	۹/۸۵*	۸۱/۴۳**	۰/۰۳۳**	۰/۴۳*
آهن × روی × شوری	۱	۴۰/۹۷*	۳۰/۹۳*	۴۶/۲۸*	۷۸/۰۱**	۰/۰۳۱**	۱/۹*
خطا	۳۴	۲۹/۴۳	۹/۹۷	۶/۸۸	۷/۰۷	۰/۰۰۰۳	۰/۳۴
ضریب تغییرات	-	۱۸/۳۳	۲۶/۲۹	۱۷/۳۴	۰۶/۲۱	۲۵/۲۷	۲۲/۳۲

*** و ** به ترتیب گویای معنی‌داری در سطح ۱ و ۵ درصد**

جدول ۴- تجزیه واریانس صفات فیزیکوبیوشیمیایی و بیان ژن گیاه شاهدانه تحت پرایمینگ ریزمغذی‌های آهن و روی و تنش شوری

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]

[DOI: DOI: 10.22034/14.68.133]

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		کلروفیل کل	کاروتنوئید	بیان ژن *CBDAS*	بیان ژن *THCAS*
شوری	۲	۰/۰۰۳۶*	۰/۰۰۲*	۲/۴۰**	۱/۷۷**
آهن	۳	۰/۰۰۳۵*	۰/۰۰۱۷*	۲/۲۹**	۰/۴۴*
روی	۳	۰/۰۰۰۵ns	۰/۰۰۱۸*	۰/۴۶*	۴/۷۳**
آهن × شوری	۳	۰/۰۰۰۸*	۰/۰۰۰۷*	۲/۳۴**	۱/۵۵**
روی × شوری	۳	۰/۰۰۰۹ns	۰/۰۰۲۷**	۱/۲۹**	۱/۰۵*
آهن × روی	۱	۰/۰۰۰۵ns	۰/۰۰۵۱**	۳/۰۸**	۳/۳۱**
آهن × روی × شوری	۱	۰/۰۰۰۳۳ns	۰/۰۰۰۷*	۲/۲۸**	۲/۸۵**
خطا	۳۴	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰۵۹	۰/۲۶	۰/۲۷
ضریب تغییرات	–	۲۸/۳۲	۱۹/۷۸	۱۵/۷۲	۱۸/۱۳

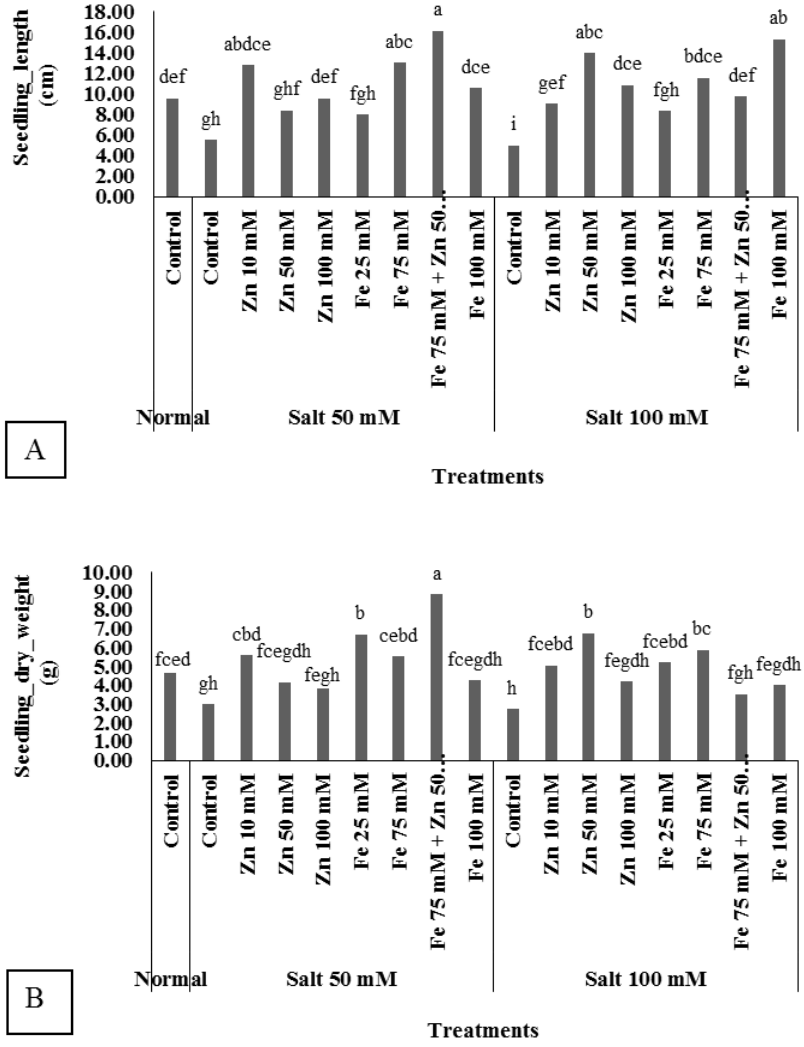
*** و ** به ترتیب گویای معنی‌داری در سطح ۱ و ۵ درصد و ns عدم معنی‌داری**

طول و وزن گیاهچه: تنش شوری سبب کاهش طول و وزن خشک گیاهچه در گیاهان شاهدانه شد به‌طوری‌که این کاهش وابسته به شدت تنش بود و با افزایش غلظت نمک، کاهش بیشتری در طول و وزن خشک گیاهچه مشاهده شد (شکل ۱). تحت هر دو شرایط تنش، تیمار ریزمغذی‌ها در غلظت‌های مختلف منجر به یک افزایش (عموماً معنی‌دار) در صفات گیاهچه شد. تحت تیمار ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، بیشترین طول گیاهچه با غلظت ۱۰ میلی‌مولار روی و همچنین غلظت ۷۵ میلی‌مولار آهن بدست آمد. در تنش شدید، بیشترین طول و وزن خشک گیاهچه با غلظت ۵۰ میلی‌مولار روی و همچنین غلظت ۷۵ میلی‌مولار آهن حاصل شد. بنابراین، با افزایش سطح شوری، به غلظت بیشتری از روی و آهن نیاز است تا زیست‌توده گیاه حفظ شود. تیمار ترکیبی ۵۰ میلی‌مولار روی و ۷۵ میلی‌مولار آهن باعث حصول حداکثر طول و وزن خشک گیاهچه در شرایط تنش ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم شوری شد (شکل ۱).

در خصوص تأثیر مثبت آهن و روی بر صفات مورفولوژیکی گیاهچه، Gorzi و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که پرایمینگ بذر با ریزمغذی‌های آهن و روی سبب تقویت طول و وزن گیاهچه‌ها شد. یافته‌های ما در توافق با نتایج این محققان بود. به نظر می‌رسد که تأثیر بیشتر تیمار ترکیبی ۵۰ میلی‌مولار روی و ۷۵ میلی‌مولار آهن در مقایسه با سایر تیمارها بر طول و وزن گیاهچه ناشی از یک نوع اثر هم‌افزایی آهن و روی باشد. تأثیر مثبت آهن بر طول و وزن گیاهچه به دلیل مشارکت آهن در ساختار و فعالیت سیتوکروم‌های حاوی هِم و پروتئین‌های گوگرد آهن غیر هم است که نقش مهمی در فتوسنتز و رشد گیاه بر عهده دارند (Ravet and Pilon, 2013). تأثیر مثبت روی بر طول و وزن گیاهچه نیز ظاهر به دلیل مشارکت این ریزمغذی در سنتز پروتئین‌ها است که منجر به شکل‌گیری گیاهچه‌ای قوی‌تر می‌شود (Umair *et al.*, 2020).

درصد جوانه‌زنی و بنیه بذر: تنش شوری تأثیر منفی بر درصد جوانه‌زنی و بنیه بذر در شاهدانه داشت. تحت تنش شوری، تیمار ریزمغذی‌ها باعث افزایش درصد جوانه‌زنی و بنیه بذر شد. تحت هر دو تیمار ۵۰ و ۱۰۰ ملی‌مولار کلرید سدیم، بیشترین درصد جوانه‌زنی با غلظت ۵۰ میلی‌مولار روی و همچنین غلظت ۷۵ میلی‌مولار آهن و بیشترین بنیه بذر با غلظت ۱۰ میلی‌مولار روی و همچنین غلظت ۷۵ میلی‌مولار آهن حاصل شد. در نتیجه، جوانه‌زنی شاهدانه متأثر از غلظت ریزمغذی‌ها است و غلظت ۵۰ میلی‌مولار روی و ۷۵ میلی‌مولار آهن برای نیل به حداکثر بنیه بذر و جوانه‌زنی لازم

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]
[DOI: DOI: 10.22034/14.68.133]



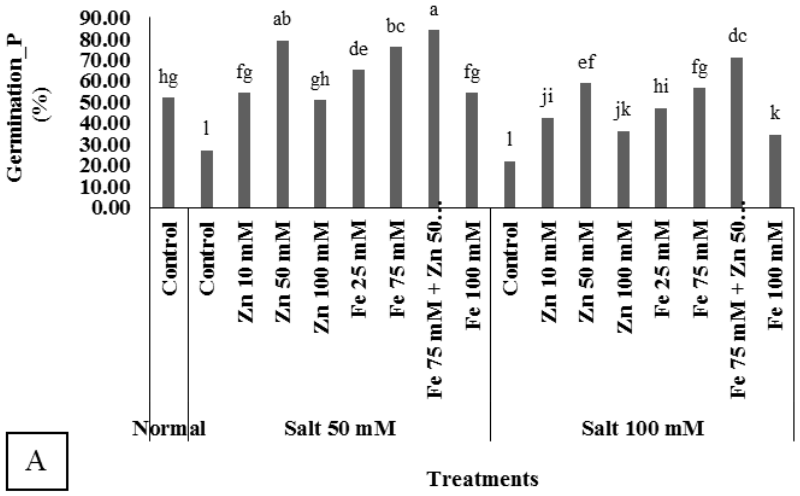
شکل ۱- تأثیر پرایمینگ ریزمغذی‌های آهن و روی و تنش شوری بر طول (A) و وزن خشک (B) گیاهچه شاهدانه. حروف غیرمشابه گویای وجود اختلافات معنی‌دار در سطح P < ۰/۰۵ است.

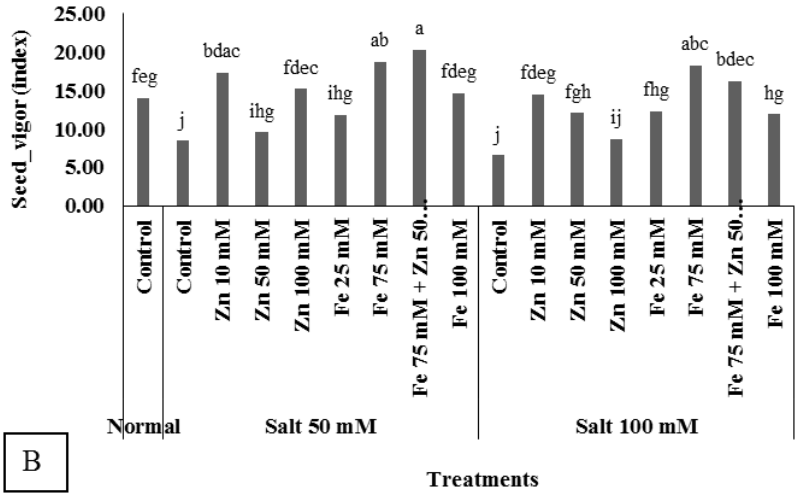
است. غلظت بیشتر این دو ریزمغذی می‌تواند تأثیر معکوس بر جوانه‌زنی داشته باشد (شکل ۲). در مطالعه‌ای، Askari و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که پرایمینگ آهن اثر مثبتی بر شاخص‌های جوانه‌زنی سیاهدانه تحت شوری دارد. نتایج ما در رابطه با تأثیر مثبت آهن و روی بر درصد جوانه‌زنی و بنیه بذر تحت شوری هم‌راستا با یافته‌های این محققان است.

در مقایسه با سایر تیمارها، تأثیر بیشتر تیمار ترکیبی ۵۰ میلی‌مولار روی و ۷۵ میلی‌مولار آهن بر درصد جوانه‌زنی و بنیه بذر ناشی از اثر هم‌افزایی آهن و روی است. تأثیر مثبت آهن بر جوانه‌زنی و بنیه بذر بخاطر نقش کلیدی این عنصر در آنزیم‌هایی مانند سیتوکروم‌ها است که برای فرآیندهای تنفسی و تولید انرژی (ATP) ضروری هستند. این انرژی برای تقسیم سلولی و رشد محور جوانه حائز اهمیت است (Ravet and Pilon, 2013). تأثیر مثبت روی نیز به دلیل مشارکت آن در بیوسنتز و فعالیت هورمون‌های رشد مانند اکسین (IAA) است که برای تقسیم و کشیدگی سلول‌ها ضروری هستند (Umair *et al.*, 2020). علاوه‌براین، محققان نشان داده‌اند که روی نقش بسیار مهمی در تولید ریشه‌چه و ساقه‌چه دارد و هر گونه کمبود آن منجر به کاهش توان جوانه‌زنی می‌شود (Ozturk *et al.*, 2016).

وزن خشک بوته: با افزایش غلظت نمک از ۵۰ به ۱۰۰ میلی‌مولار، کاهش بیشتری در وزن خشک بوته ثبت شد

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]
[DOI: DOI: 10.22034/14.68.133]



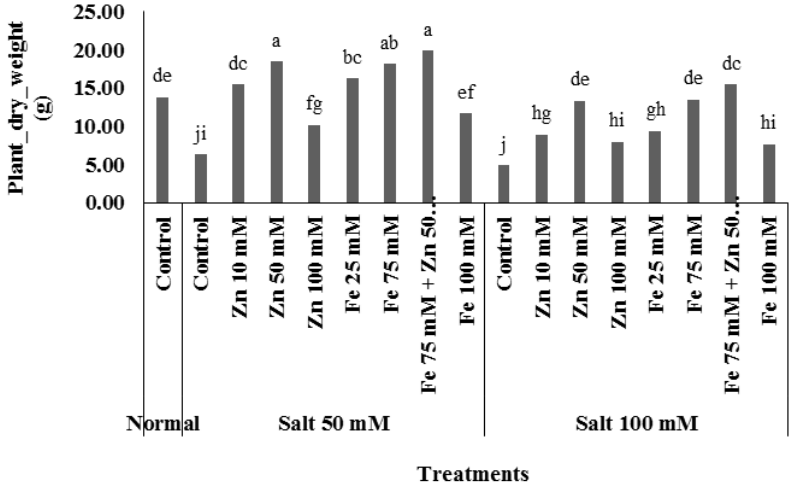


شکل ۲- تأثیر پرایمینگ ریزمغذی‌های آهن و روی و تنش شوری بر درصد جوانه‌زنی (A) و بنیه بذر (B) شاهدانه. حروف غیرمشابه گویای وجود اختلافات معنی‌دار در سطح P < ۰/۰۵ است.

(شکل ۳). تیمار ریزمغذی‌های آهن و روی سبب افزایش معنی‌دار وزن خشک بوته شد. پاسخ وزن خشک بوته به ریزمغذی‌های آهن و روی تحت هر دو سطح شوری، وابسته به غلظت آهن و روی بود. در تیمار مجزای آهن و روی، بیشترین وزن خشک بوته با غلظت ۵۰ میلی‌مولار روی و ۷۵ میلی‌مولار بدست آمد. تیمار ترکیبی ۵۰ میلی‌مولار روی و ۷۵ میلی‌مولار آهن نیز سبب تولید بیشترین وزن خشک بوته شد، هر چند اختلاف معنی‌داری با کاربرد جداگانه آهن و روی نداشت (شکل ۳). چنین مشاهداتی حاکی از آن است که غلظت بالاتر ریزمغذی‌ها تأثیر معکوس بر زیست‌توده گیاه می‌گذارد. در مطالعه‌ای، Tolay (۲۰۲۱)، تأثیر سطوح مختلف روی را بر صفات رشدی ریحان ارزیابی کردند. افزایش سطح شوری باعث کاهش تولید زیست‌توده و جذب مواد مغذی ریحان شد. در مقابل، کاربرد روی، تولید زیست‌توده و جذب مواد مغذی را در شرایط شور بهبود بخشید. بنابراین، محققان پیشنهاد کردند که کاربرد روی می‌تواند تحمل به شوری ریحان را بهبود بخشد. مشاهدات ما در رابطه با تأثیر مثبت آهن و روی تحت شوری بر وزن خشک بوته در توافق با نتایج این محققان بود.

تیمار ترکیبی ۵۰ میلی‌مولار روی و ۷۵ میلی‌مولار آهن

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]
[DOI: DOI: 10.22034/14.68.133]



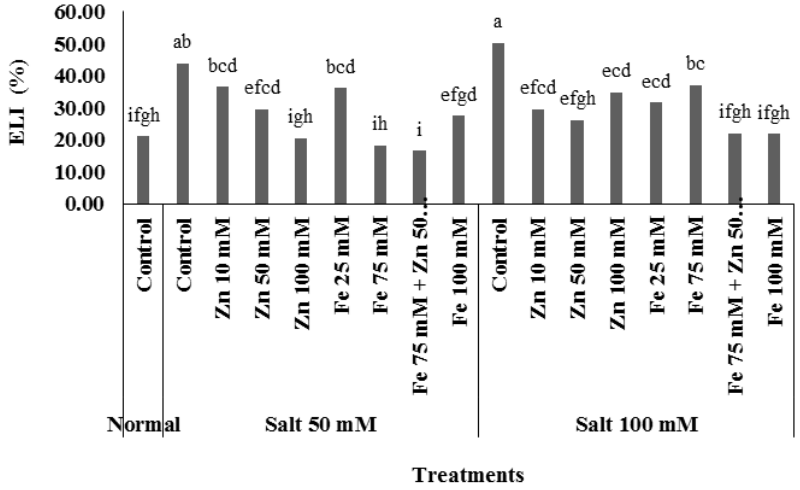
شکل ۳- تأثیر پرایمینگ ریزمغذی‌های آهن و روی و تنش شوری بر وزن خشک بوته گیاه شاهدانه. حروف غیرمشابه گویای وجود اختلافات معنی‌دار در سطح $P < ۰/۰۵$ است.

اختلاف معنی‌داری با کابرد تنهایی آهن و روی نداشت. تأثیر مثبت آهن بر وزن خشک بوته از یک طرف به دلیل نقش این عنصر در ساخت کلروفیل است و از طرف دیگر به دلیل افزایش کارایی فتوسیستم ۲ است که بر عملکرد فتوسنتز اثر مستقیم می‌گذارد. همچنین، آهن به عنوان کوفاکتور آنزیم‌هایی مانند پراکسیداز عمل می‌کند و لذا امکان مقابله با تنش‌های زیستی مثل شوری را فراهم می‌کند (Nenova, 2006). تأثیر مثبت روی نیز می‌تواند به دلیل نقش آن در خنثی‌سازی افت پتاسیم طی شوری است. به عبارتی دیگر، غلظت پتاسیم تحت شوری کاهش می‌یابد اما کاربرد روی باعث بهبود جذب پتاسیم در شرایط شور می‌شود. پتاسیم نیز به واسطه نقش خود در ساختار گیاه، در تولید زیست‌توده بیشتر کمک می‌کند (Tolay, 2021).

صفات فیزیکوبیوشیمیایی، نشت الکترولیت: مشاهدات ما گویای این مطلب بود که نشت الکترولیت با افزایش شدت تنش شوری افزایش یافت. دلیل این افزایش در سطح نشت الکترولیت را می‌توان اینگونه استنباط کرد که با افزایش غلظت نمک‌ها و متعاقباً افزایش سطح رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS)، سطح نشت الکترولیتی بیشتری در غشایی سلولی اتفاق می‌افتد (Hao *et al.*, 2021). در مقابل، تیمار ریزمغذی‌ها وابسته به نوع عنصر و غلظت آن، سبب کاهش اثر منفی شوری بر غشا پلاسمایی شد (شکل ۴). در تنش ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، با افزایش غلظت روی از نشت الکترولیت کاسته شد؛ درحالی‌که در تنش ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، تأثیر وابسته به غلظت مشاهده نشد و تمام غلظت‌های روی به یک اندازه مانع تخریب غشا شدند. غلظت ۷۵ میلی‌مولار آهن تحت تنش ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و همچنین غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار آهن تحت تنش ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم منجر به بیشترین کاهش سطح نشت الکترولیتی شدند. پاسخ شاهدانه به تیمار ترکیبی ۵۰ میلی‌مولار روی و ۷۵ میلی‌مولار آهن تحت تنش ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم شبیه به غلظت ۷۵ میلی‌مولار آهن و تحت تنش ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم شبیه به غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار آهن بود. این امر گویای پتانسیل بیشتر آهن در حفاظت از غشا پلاسمایی و کاهش سطح نشت الکترولیتی است.

Zafar و همکاران (۲۰۲۲)، نقش روی و آهن (۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد) را در کاهش تأثیر مضر تنش شوری (کلرید سدیم) بر رشد گیاهان اسفناج ارزیابی کردند. تیمار نانوذرات آهن و روی، غلظت پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید را کاهش دادند که گویای کاهش آسیب به غشا پلاسمایی است. محققان به این نتیجه رسیدند که روی و آهن در تولید مولکول‌های آنتی‌اکسیدان و حفاظت از غشا طی مواجه با تنش شوری مفید

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]
[DOI: DOI: 10.22034/14.68.133]



شکل ۴- تأثیر پرایمینگ ریزمغذی‌های آهن و روی و تنش شوری بر نشت الکترولیت در گیاه شاهدانه. حروف غیرمشابه گویای وجود اختلافات معنی‌دار در سطح $P < ۰/۰۵$ است.

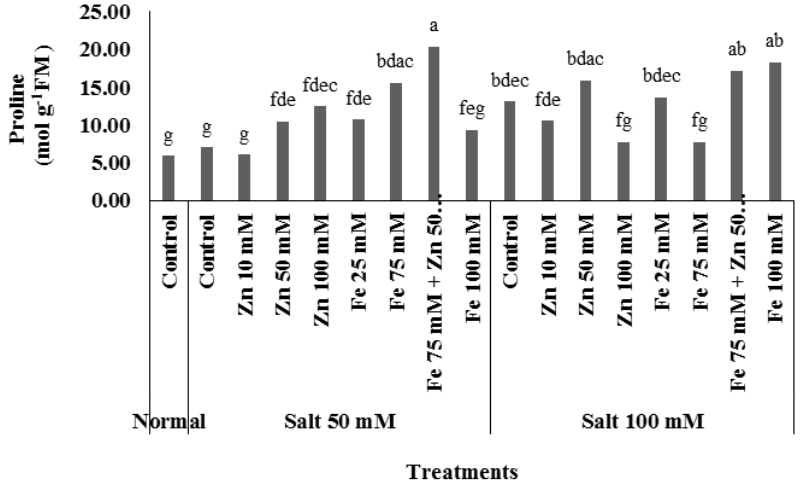
هستند. مشاهدات ما در توافق با نتایج این محققان است. از نظر مکانیزم درگیر در حفاظت غشا توسط روی، محققان پیشنهاد کرده‌اند که استفاده از روی با کاهش تولید MDA و H_2O_2 از طریق بهبود فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، تجمع اسمولیت‌ها و کاهش تجمع Na^+ و Cl^-، پایداری غشا را بهبود می‌بخشد (Shao *et al.*, 2023). از لحاظ مکانیزم دخیل در حفاظت غشا توسط آهن، این عنصر در سنتز مولکول‌های ضروری مانند لیپیدها و پروتئین‌هایی دخالت دارد که بخش اساسی ساختار غشاهای سلولی را تشکیل می‌دهند. متعاقباً، غشاهای سالم و تقویت‌شده، توانایی بیشتری در حفظ یون‌ها و جلوگیری از نشت الکترولیت‌ها دارند (Nenova, 2006).

پرولین: یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که محتوی پرولین با تنش ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به طور معنی‌داری افزایش یافت. محققان دریافته‌اند که افزایش سطح پرولین در پاسخ به شوری به دلیل افزایش بیان ژن‌های مسئول بیوسنتز پرولین است (Moukhtari *et al.*, 2020). تیمار ریزمغذی‌های آهن و روی کم و بیش منجر به افزایش تولید پرولین برگ شد. در تنش ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، بیشترین تأثیرگذاری مثبت آهن بر محتوای پرولین مربوط به غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار آهن بود. این درحالی است که بیشترین اثرگذاری روی بر پرولین برگ مرتبط با غلظت ۷۵ میلی‌مولار طی تنش ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار طی تنش ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بود. پاسخ شاهدانه به تیمار ترکیبی ۵۰ میلی‌مولار روی و ۷۵ میلی‌مولار آهن تحت تنش ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم شبیه به غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار آهن بود. این مشاهدات گویای پتانسیل بیشتر آهن در تحریک بیوسنتز پرولین است (شکل ۵).

در مطالعه مشابهی، Mushtaq و همکاران (۲۰۲۳) اثر روی را بر متابولیسم پرولین و مکانیسم‌های پاسخ‌دهنده به شوری مطالعه کردند. نتایج آنها حاکی از نقش تعدیلی روی در حفظ محتوای پرولین طی مواجه گیاه با تنش NaCl بود. یافته‌های ما نیز گویای تأثیر روی بر غلظت پرولین در شاهدانه بود. آهن و روی به عنوان کوفاکتور در فعالیت آنزیم‌هایی مانند گلوتامات دهیدروژناز و دلتا-۱-پیرولین-۵-کربوکسیلات سنتتاز (P5CS) مؤثر هستند که در مسیر بیوسنتز پرولین نقش دارند. افزایش فعالیت این آنزیم‌ها در تبدیل گلوتامات به پرولین منجر به افزایش تولید این اسمولیت طی مواجه گیاه با شوری می‌شود. همچنین، روی با کاهش فعالیت آنزیم پرولین دهیدروژناز (که پرولین را به گلوتامات بازمی‌گرداند)، باعث افزایش ماندگاری پرولین در سلول می‌شود (Mushtaq *et al.*, 2023).

محتوای پروتئین کل: بررسی پاسخ شاهدانه به شوری نشان داد که بیشترین مقدار پروتئین در شاهد و کمترین آن در

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]
[DOI: DOI: 10.22034/14.68.133]



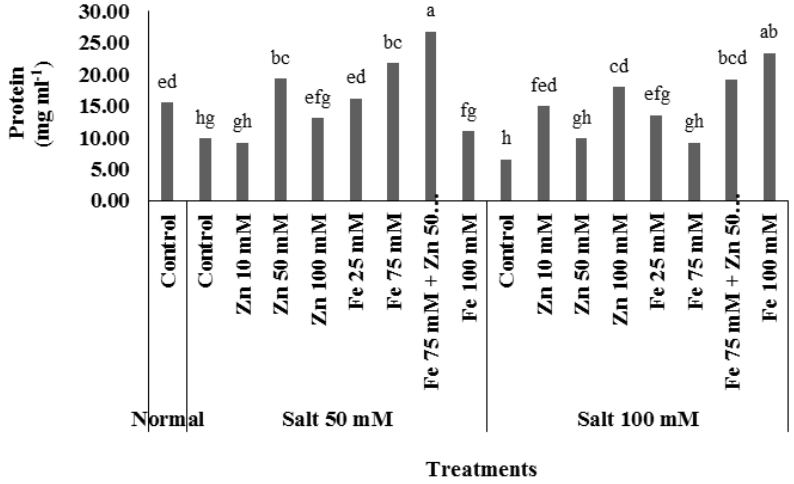
شکل ۵- تأثیر پرایمینگ ریزمغذی‌های آهن و روی و تنش شوری بر محتوی پرولین در گیاه شاهدانه. حروف غیرمشابه گویای وجود اختلافات معنی‌دار در سطح $P < ۰/۰۵$ است.

تنش ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم رخ داد. بررسی رفتار گیاهان از لحاظ تغییرات مقدار پروتئین کل طی تنش شوری نشان داده است که تغییر پروتئین سلولی طی غلظت بالای نمک‌ها مرتبط با گروه متنوعی از پروتئین‌ها مثل پروتئین‌های درگیر در فعالیت پروتئازی، متابولیسم‌های سلولی و مکانیسم‌های دفاعی است (Koyro *et al.*, 2013). تحت تنش ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، مؤثرترین غلظت آهن و روی بر پروتئین سلولی به ترتیب ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار بودند درحالی‌که، مؤثرترین غلظت آهن و روی در تنش ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم مربوط به غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار روی و ۱۰۰ میلی‌مولار آهن بود. چنین یافته‌هایی حاکی از این موضوع است که با افزایش شدت تنش شوری به غلظت بیشتری از آهن و روی نیاز است تا محتوای پروتئین سلولی حفظ شود. تیمار ترکیبی ۵۰ میلی‌مولار روی و ۷۵ میلی‌مولار آهن در شرایط تنش ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم سبب بیشترین مقدار پروتئین شد درحالی‌که در تنش ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، معادل با تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار آهن عمل کرد (شکل ۶).

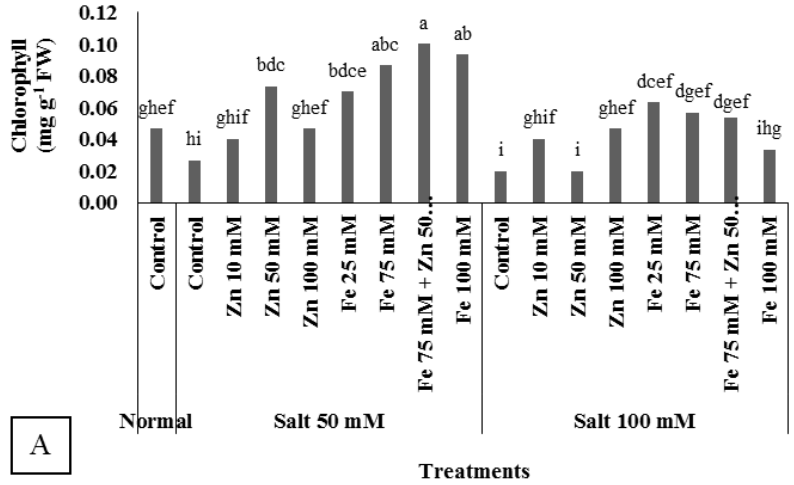
در پژوهشی، Zafar و همکاران (۲۰۲۲)، نقش روی و آهن را به دو شکل پرایمینگ و محلول‌پاشی در کاهش تأثیر مضر تنش شوری بر رشد گیاهان اسفناج بررسی کردند. محققان به این نتیجه رسیدند که روی و آهن برای حفظ هموستازی پروتئین‌های سلولی در مواجه با غلظت بالای نمک‌ها لازم هستند. در کل، مشاهدات ما همراستا با نتایج این محققان بود به‌طوری‌که اثر مثبت آهن و روی بر محتوای پروتئین شاهدانه تحت شوری مشاهده شد. به نظر می‌رسد که تاثیر مثبت آهن بر سطح پروتئین به این دلیل باشد که آهن به عنوان کوفاکتور بسیاری از آنزیم‌های متابولیکی، به تنظیم مسیرهای سنتز آمینواسیدها مانند گلوتامات و گلوتامین کمک می‌کند که پایه اصلی تولید پروتئین هستند. همچنین، آهن در زنجیره انتقال الکترون میتوکندری و تنفس سلولی نقش دارد که انرژی تولیدشده در این فرآیندها برای سنتز پروتئین‌ها ضروری است (Hoseinpur-Askarian *et al.*, 2019). تأثیر مثبت روی بر سطح پروتئین نیز ممکن است به این دلیل باشد که روی در پایداری و عملکرد ریبوزوم‌ها نقش دارد و بدون حضور روی، فعالیت ریبوزوم‌ها مختل شده و سنتز پروتئین کاهش می‌یابد (Umair *et al.*, 2024).

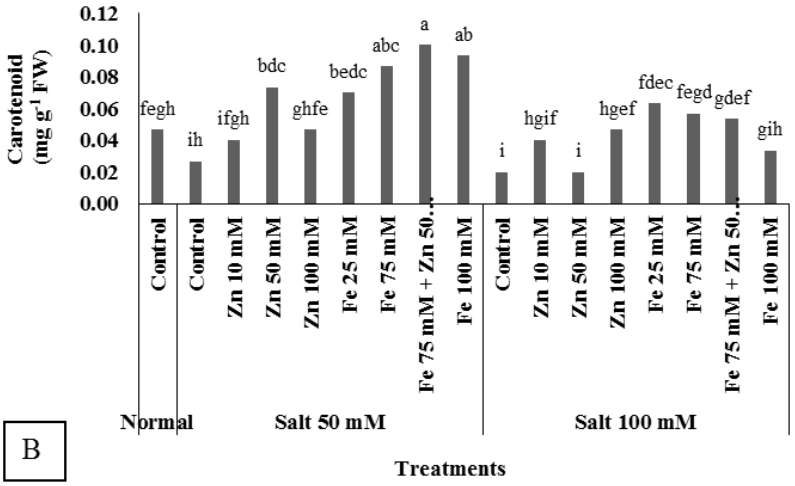
مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی: به‌طورکلی، مقدار کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها با افزایش شدت تنش شوری کاهش یافت. کاهش سطح کلروفیل‌ها به نوبه خود سبب خسارت به سیستم فتوسنتزی گیاهان به خاطر کاهش تولید انتقال‌دهنده‌های پیام می‌شود (Jaleel *et al.*, 2008). محققان پیشنهاد کرده‌اند که فرایندهای ساخت و تخریب کلروفیل‌ها حساس به شوری

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]
[DOI: DOI: 10.22034/14.68.133]



شکل ۶- تأثیر پرایمینگ ریزمغذی‌های آهن و روی و تنش شوری بر محتوی پروتئین در گیاه شاهدانه. حروف غیرمشابه گویای وجود اختلافات معنی‌دار در سطح P < ۰/۰۵ است.





شکل ۷- تأثیر پرایمینگ ریزمغذی‌های آهن و روی و تنش شوری بر محتوی کلروفیل‌ها (A) و کاروتنوئیدها (B) در گیاه شاهدانه. حروف غیرمشابه گویای وجود اختلافات معنی‌دار در سطح P < ۰/۰۵ است.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]

[DOI: DOI: 10.22034/14.68.133]

هستند زیرا شوری با اختلال در تولید کلروفیل‌ها و تخریب ساختار کلروپلاست‌ها سبب افت فتوسنتز می‌شود (Jaleel *et al.*, 2008). در این مطالعه، تیمار ریزمغذی‌ها اثرات متنوعی بر مقدار کلروفیل و کاروتنوئیدهای برگی به همراه داشت (شکل ۷). تحت تنش ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، تیمار انفرادی غلظت ۵۰ میلی‌مولار روی و غلظت‌های ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار آهن مؤثرترین تیمارها بر میزان کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها بودند. پاسخ شاهدانه به تیمار ترکیبی ۵۰ میلی‌مولار روی و ۷۵ میلی‌مولار آهن مشابه با تیمار آهن در هر دو شرایط تنش شوری بود.

از نظر مکانیزمی، آهن یک جزء ضروری در سنتز پروتوپورفیرین است که پیش‌ماده کلروفیل است. آهن همچنین در مرحله تبدیل پروتوپورفیرین به کلروفیل، به عنوان یک کوفاکتور در آنزیم‌های دخیل عمل می‌کند. همچنین آهن به کاهش تولید گونه‌های فعال اکسیژن کمک می‌کند که عامل اصلی تخریب کلروفیل هستند؛ این امر پایداری و تجمع بیشتر رنگدانه‌های فتوسنتزی را تضمین می‌کند (Roosta *et al.*, 2018). به تازگی محققان دریافته‌اند که حضور یون‌های آهن سبب تقویت بیوسنتز کاروتنوئیدها می‌شود (Li *et al.*, 2021). روی نیز به عنوان کوفاکتور آنزیم‌های مسیر بیوسنتز کلروفیل عمل می‌کند که تولید کلروفیل را افزایش می‌دهند (Ahmad *et al.*, 2024).

فعالیت آنزیم کاتالاز: فعالیت کاتالاز با تنش ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم افزایش یافت اما با تنش ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم کاهش یافت. به نظر می‌رسد که کاهش فعالیت سازوکارهای سنتز پروتئین از یک طرف و افزایش فعالیت سازوکارهای تخریب پروتئین از طرف دیگر، سبب کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در تنش شوری می‌شوند. در واقع، از آنجایی که کاتالاز یک آنزیم حساس به سوپراکسید است، لذا شوری و تنش اکسیداتیو سبب غیرفعال‌شدن آنزیم کاتالاز در سلول می‌شوند (Batova *et al.*, 2022). مؤثرترین غلظت روی و آهن برای فعالیت کاتالاز تحت تنش شوری به ترتیب ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار بود. تیمار ترکیبی ۵۰ میلی‌مولار روی و ۷۵ میلی‌مولار آهن سبب حداکثر فعالیت کاتالاز در تنش ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم شد (شکل ۸).

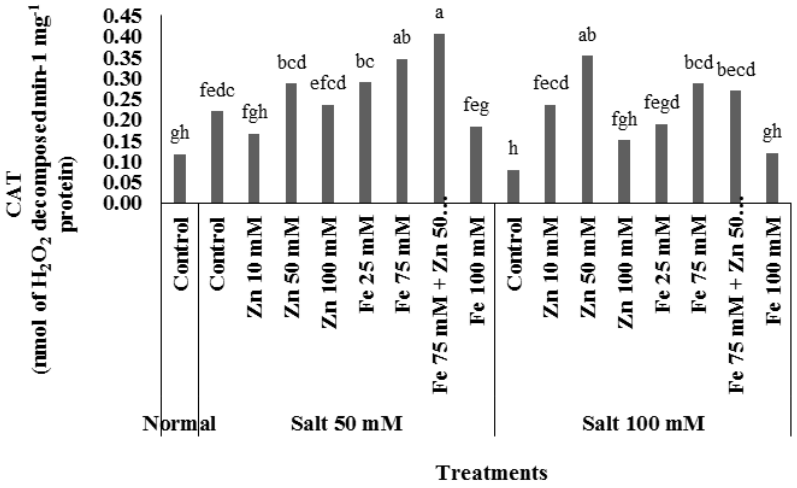
در پژوهشی، Chouliaras و همکاران (۲۰۰۵) با بررسی تأثیر آهن بر فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی کاتالاز دریافتند که کمبود عنصر آهن به شدت بر فعالیت این آنزیم اثر می‌گذارد. آنها پیشنهاد کردند که شاید حضور عنصر آهن در ساختار کاتالاز دلیلی بر رابطه آنها باشد. همچنین، Batova و همکاران (۲۰۲۲) در بررسی تأثیر روی بر فعالیت آنزیم کاتالاز متوجه شدند که یون‌های روی باعث تغییرات ساختاری در آنزیم کاتالاز می‌شوند که مجموعه این تغییرات منجر به تقویت فعالیت کاتالاز می‌شود. جالب اینکه آنزیم درگیر در بیوسنتز کاتالاز یعنی *CAT2* تحت تأثیر فراوانی یون‌های روی قرار گرفت. یافته‌های ما همراستا با مشاهدات این محققان بود و تأثیر مثبت پرایمینگ روی و آهن را بر فعالیت آنزیم کاتالاز نشان داد.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با افزایش شدت تنش شوری به طور غیرمعنی‌داری کاهش یافت. کاهش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) می‌تواند به دلیل تخریب پروتئین‌های سلولی باشد که کاهش سنتز آنزیم را در پی دارد (de Azevedo Neto *et al.*, 2006). مؤثرترین غلظت روی در تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار بود که گویای نیاز شاهدانه به روی در تنش شوری است. مؤثرترین غلظت آهن در تنش ۵۰ میلی‌مولار شوری، ۱۰۰ میلی‌مولار بود درحالی‌که در تنش ۱۰۰ میلی‌مولار شوری، ۲۵ میلی‌مولار بود. تیمار ترکیبی ۵۰ میلی‌مولار روی و ۷۵ میلی‌مولار آهن سبب حداکثر فعالیت آسکوربات پراکسیداز در هر دو شرایط تنش شوری شد (شکل ۹). این تیمار ترکیبی رفتاری مشابه با غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار آهن تحت تنش ۵۰ میلی‌مولار شوری و غلظت ۲۵ میلی‌مولار آهن تحت تنش ۱۰۰ میلی‌مولار شوری داشت.

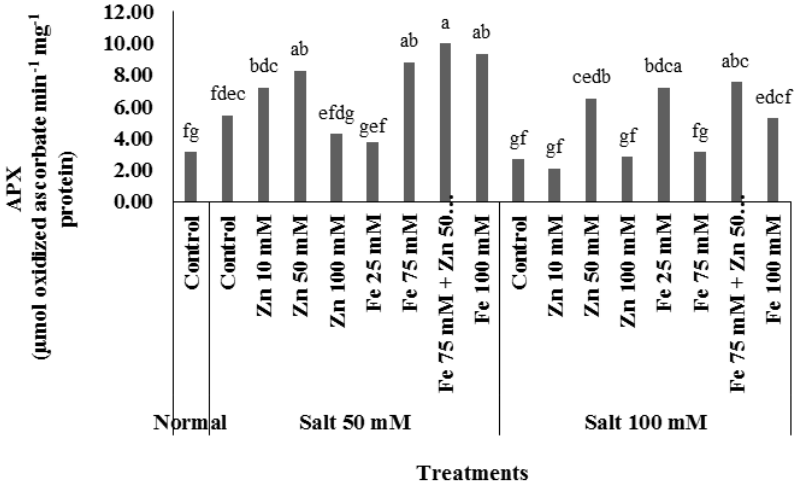
در توافق با یافته‌های ما، Aazami و همکاران (۲۰۲۱) تأثیر نانوذرات آهن و روی را بر پاسخ آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت به تنش شوری در گیاه گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*)

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]

[DOI: DOI: 10.22034/14.68.133]



شکل ۸- تأثیر پرایمینگ ریزمغذی‌های آهن و روی و تنش شوری بر فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه شاهدانه. حروف غیرمشابه گویای وجود اختلافات معنی‌دار در سطح P < ۰/۰۵ است.

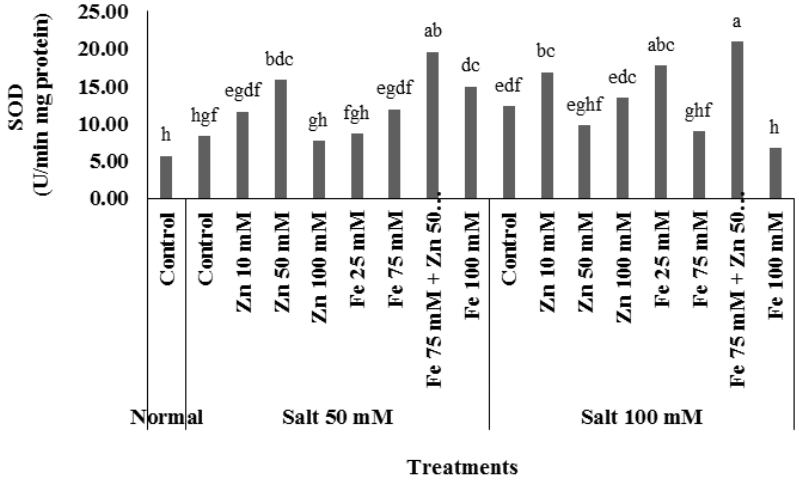


شکل ۹- تأثیر پرایمینگ ریزمغذی‌های آهن و روی و تنش شوری بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گیاه شاهدانه. حروف غیرمشابه گویای وجود اختلافات معنی‌دار در سطح P < ۰/۰۵ است.

بررسی کردند. محققان دریافتند که نانوذرات آهن و روی باعث افزایش بیان ژن‌های مسئول تولید آنزیم و فعالیت خود آنزیم آسکوربات پراکسیداز شدند. فعالیت بالای APX ناشی از پرایمینگ ریزمغذی‌ها حاکی از نقش آنها در برابر تنش اکسیداتیو القاءشده توسط شوری است. از آنجای‌که H_2O_2، سوبسترای فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز است، لذا H_2O_2 نقش سیگنال را برای القا APX بر عهده دارد. در ادامه، فعالیت بیشتر آنزیم APX سبب تجزیه بیشتر H_2O_2 و تحمل بیشتر گیاهان به تنش شوری می‌شود (de Azevedo Neto *et al.*, 2006).

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: با افزیش شدت تنش شوری، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در گیاهان شاهدانه افزایش یافت. افزایش فعالیت آنزیم SOD می‌تواند به خاطر سازوکارهای حفاظتی پروتئین باشد که سنتز و فعالیت آنزیم را حفظ می‌کنند (Aazami *et al.*, 2021). مؤثرترین غلظت روی در تنش ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار شوری

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]
[DOI: DOI: 10.22034/14.68.133]

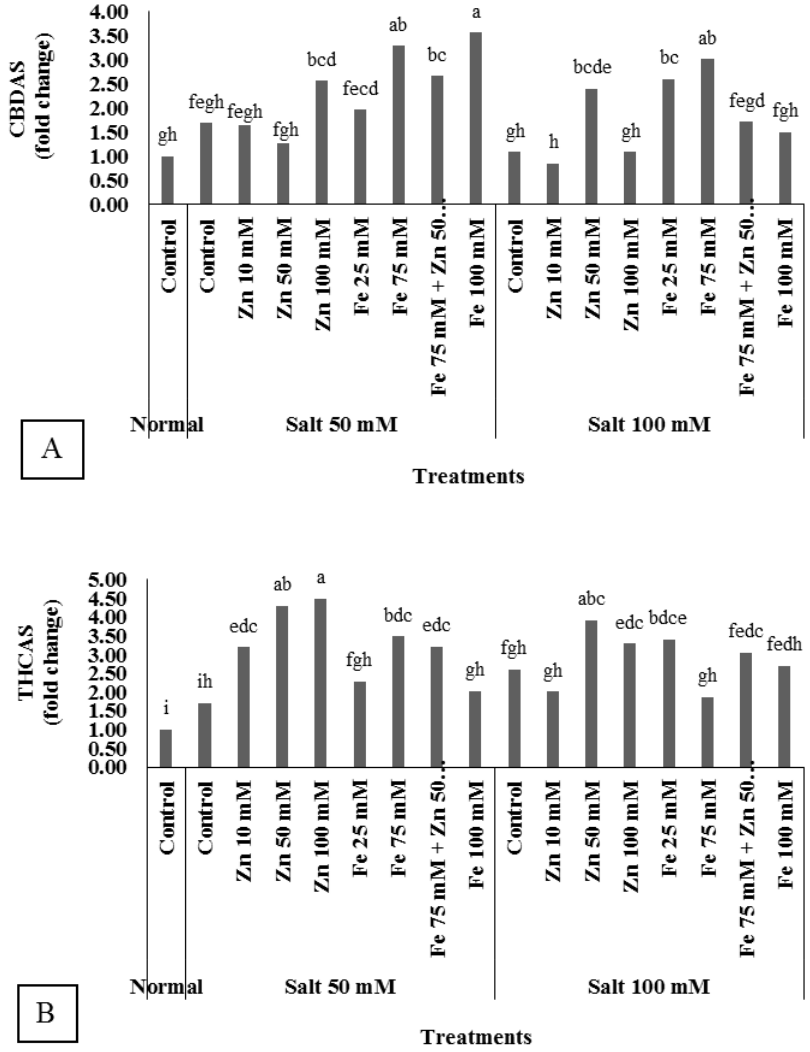


شکل ۱۰- تأثیر پرایمینگ ریزمغذی‌های آهن و روی و تنش شوری بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاه شاهدانه. حروف غیرمشابه گویای وجود اختلافات معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ > P است.

به ترتیب ۵۰ و ۱۰ میلی‌مولار بودند که گویای نیاز کمتر گیاه به روی در شدت بالاتر شوری است. مؤثرترین غلظت آهن نیز در تنش ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار شوری به ترتیب ۱۰۰ و ۲۵ میلی‌مولار بودند. تیمار ترکیبی ۵۰ میلی‌مولار روی و ۷۵ میلی‌مولار آهن سبب حداکثر فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در هر دو شرایط تنش شوری شد (شکل ۱۰). در پژوهشی، Jithesh و همکاران (۲۰۰۶) عملکرد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را در پاسخ به شوری و محلول‌پاشی آهن بررسی کردند. آنها، cDNA کدکننده آنزیم SOD1 را از کتابخانه cDNA Avicennia marina جدا کردند. ژن *Sod1*، پروتئین با طول ۱۵۲ اسیدآمینه را کدگذاری کرد. رونوشت *Sod1* در پاسخ به تنش NaCl تغییر کم یافت اما بیان *Sod1* توسط آهن القا شد. بنابراین، محققان پیشنهاد کردند که یون‌های آهن بر بیان ژن‌های درگیر در بیوسنتز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت نظیر SOD و احتمالاً فعالیت آنها در سلول مؤثر هستند. یافته‌های ما همسو با نتایج این محققان بود و نشان داد که پرایمینگ روی و آهن سبب افزایش فعالیت آنزیم SOD می‌شوند.

تعیین بیان ژن‌های *CBDAS* و *THCAS*: در مسیر بیوسنتز کانوبیدها، بیوسنتز کانابینوئید CBDA و THCA از اسید چرب و پیش‌سازهای ایزوپرنوئید از طریق یک چرخه کوتاه، هگزانوآت و مسیر دیاکسیزایلوز فسفات و یا متیل- اریتریتول فسفات (DOXP/MEP) شروع می‌شود. آنزیم‌های CBDAS و THCAS نقش کلیدی در بیوسنتز کانابینوئیدهای CBDAS و THCA بر عهده دارند (Kim *et al.*, 2022). در مطالعه ما، تنش شوری باعث افزایش بیان ژن‌های *CBDAS* و *THCAS* در گیاهان شاهدانه شد (شکل ۱۱). مؤثرترین غلظت روی بر بیان *CBDAS* در تنش ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار شوری به ترتیب ۱۰۰ و ۵۰ میلی‌مولار بودند که گویای نیاز کمتر گیاه به روی در شدت بالاتر شوری است. مؤثرترین غلظت آهن بر بیان *CBDAS* در تنش ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار شوری نیز به ترتیب ۱۰۰ و ۷۵ میلی‌مولار بودند (شکل ۱۱). مؤثرترین غلظت روی بر بیان *THCAS* تحت تنش ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار شوری به ترتیب ۱۰۰ و ۵۰ میلی‌مولار بودند که گویای نیاز کمتر گیاه به روی در شدت بالاتر شوری است. مؤثرترین غلظت آهن بر بیان *THCA* تحت تنش ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار شوری نیز به ترتیب ۷۵ و ۲۵ میلی‌مولار بودند (شکل ۱۱). تاکنون تأثیر یون‌های آهن و روی بر بیان ژن *CBDAS* و *THCAS* مورد مطالعه قرار نگرفته است. مطالعات در زمینه مکانیزم‌های تأثیرگذاری یون‌های آهن و روی بر بیان ژن‌ها محدود است. در یک مطالعه، De Nisi و همکاران (۲۰۱۰) اقدام به شناسایی ژن‌های متأثر از فراوانی یون‌های آهن در *Cucumis sativus* کردند. آنها پیشنهاد کردند که یون‌های آهن

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]
[DOI: DOI: 10.22034/14.68.133]



شکل ۱۱- تأثیر پرایمینگ ریزمغذی‌های آهن و روی و تنش شوری بر بیان ژن *CBDAS* (A) و *THCAS* (B) در گیاه شاهدانه. حروف غیرمشابه گویای وجود اختلافات معنی‌دار در سطح P < ۰/۰۵ است.

بر بیان ژن‌های کلیدی تأثیرگذار هستند که البته مکانیزم‌های این اثرگذاری هنوز معلوم نیست.

نتیجه‌گیری

پرایمینگ بذور با ریزمغذی‌های آهن و روی توانست جوانه‌زنی بذور و رشد گیاچه شاهدانه را افزایش دهد و احتمالاً باعث کاهش حساسیت شاهدانه به شوری از طریق افزایش پایداری غشا، تولید اسمولیت‌های‌سازگار، حفاظت از رنگیزه‌های فتوسنتزی و بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت شود. پرایمینگ آهن و روی همچنین توانست بیان ژن *CBDAS* و *THCAS* را افزایش دهد که احتمالاً منجر به تولید بیشتر کانابینوئیدهای کانابیدیول و دلتا-۹-تتراهیدروکانابینول خواهد شد. از نظر بیشتر شاخص‌های مورد بررسی، تیمار ترکیبی ۵۰ میلی‌مولار روی و ۷۵ میلی‌مولار آهن توانست بهترین نتیجه را ایجاد کند و لذا برای مقابله با شوری در کشت‌وکار شاهدانه توصیه می‌شود.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]
[DOI: DOI: 10.22034/14.68.133]

منابع

Ahmad, S., Khan Sehrish, A., Hussain, A., Zhang, L., Owdah Alomrani, S., Ahmad, A., ... & Sarker, P. K. (2024). Salt stress amelioration and nutrient strengthening in spinach (*Spinacia oleracea* L.) via biochar amendment and zinc fortification: seed priming versus foliar application. *Scientific Reports, 14*(1), 15062.

Andre, C. M., Hausman, J. F., & Guerriero, G. (2016). *Cannabis sativa*: The plant of the thousand and one molecules. *Frontiers in Plant Science, 7*, 19. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00019

Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology, 24(1)*, 1. https://doi.org/10.1104%2Fpp.24.1.1

Aazami, M. A., Rasouli, F., & Ebrahimzadeh, A. (2021). Oxidative damage, antioxidant mechanism and gene expression in tomato responding to salinity stress under in vitro conditions and application of iron and zinc oxide nanoparticles on callus induction and plant regeneration. *BMC Plant Biology, 21(1)*, 597. https://doi.org/10.1186/s12870-021-03379-7

Askari, M., Nourafcan, H., Hojjati, L., & Nemati, S. P. (2019). Effect of seed priming by nano-iron and nano-potassium chelated on seed germination and growth of black cumin (*Nigella sativa* L.) under salinity stress. *Journal of Seed Research, 9*(32), 23-34.

Bates, L. Waldren, R., & Teare, I. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil, 39*, 205-207. https://doi.org/10.1007/BF00018060

Batova, Y., Kaznina, N., Repkina, N., & Titov, A. (2022). Effect of zinc deficiency and excess on catalase activity and *HvCAT2* gene expression in barley. *Vegetos, 35*(3), 833-838. https://doi.org/10.1007/s42535-022-00370-x

Beheshti, F., Khorasaninejad, S., & Hemti, K. (2022). The effect of salinity stress on morphological, physiological and biochemical characteristics of male and female stems of cannabis (*Cannabis sativa* L). *Genetic Research and Improvement of Pasture and Forest Plants, 30*(2), 242-262.

Beyer, W. F, & Fridovich, I. (1987). Assaying for superoxide dismutase activity: Some large consequences of minor changes in conditions. *Analytical Biochemistry, 161*(2), 559-66. https://doi.org/10.1016/0003-2697(87)90489-1

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry, 72*, 248-54. https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999

Bukhari, S. A., Farah, N., Mahmood, S., Altaf, J., & Mustafa, G. (2021). Effects of Seed priming with zinc sulfate on nutritional enrichment and biochemical fingerprints of *Momordica charantia*. *Journal of Food Quality, 2021*, 1-13.

Chance, B, & Maehly, A. C. (1955). Assay of catalases and peroxidases. *Methods in Enzymology, 11*, 764-755. https://doi.org/10.1002/9780470110171.ch14

Chouliaras, V., Therios, I., Molassiotis, A., Patakas, A., & Diamantidis, G. (2005). Effect of iron deficiency on gas exchange and catalase and peroxidase activity in citrus. *Journal of Plant Nutrition, 27*(12), 2085-2099.

de Azevedo Neto, A. D., Prisco, J. T., Eneas-Filho, J., de Abreu, C. E. B., & Gomes-Filho, E. (2006). Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. *Environmental and Experimental Botany, 56*(1), 87-94. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.01.008

De Nisi, P., Vigani, G., & Zocchi, G. (2010). Modulation of iron responsive gene expression and enzymatic activities in response to changes of the iron nutritional status in *Cucumis sativus* L. *Nature Precedings*, 1-1. https://doi.org/10.1038/npre.2010.4658.1

El Moukhtari, A., Cabassa-Hourton, C., Farissi, M., & Savoure, A. (2020). How does proline treatment promote salt stress tolerance during crop plant development?. *Frontiers in Plant Science, 11*, 1127. https://doi.org/10.3389%2Ffpls.2020.01127

Farooq, M., Usman, M., Nadeem, F., ur Rehman, H., Wahid, A., Basra, S. M., & Siddique, K. H. (2019). Seed priming in field crops: Potential benefits, adoption and challenges. *Crop and Pasture Science, 70(9)*, 731-771. https://doi.org/10.1071/CP18604

Gorzi, A., Omidi, H., & Bostani, A. (2020). Effect of stevia (*Stevia rebaudiana*) seed priming treatments with salicylic acid, iron, and zinc on some germination traits and photosynthetic pigments under drought stress. *Iranian Journal of Seed Research, 6*(2), 125-135.

Guo, R., Guo, H., Zhang, Q., Guo, M., Xu, Y., Zeng, M., ... & Yang, M. (2018). Evaluation of reference genes for RT-qPCR analysis in wild and cultivated Cannabis. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 82*(11), 1902-1910.

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(6)*, 132. https://doi.org/10.3390/horticulturae7060132

Hassanpouraghdam, M. B., Mehrabani, L. V., & Tzortzakis, N. (2020). Foliar application of nano-zinc and iron affects physiological attributes of *Rosmarinus officinalis* and quietens NaCl salinity depression. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 20*, 335-345.

Hoseinpur-Askarian, E., Abbasi Surki, A., & Danesh Shahraki, A. (2019). Effect of seed priming with $ZnSO_4$ and $FeSO_4$ on dormancy break optimization and germination traits of shallot (*Allium hirtifolium*). *Iranian Journal of Seed Research, 6*(1), 33-49.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]

[DOI: DOI: 10.22034/14.68.133]

Ibrahim, E. 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

Jaleel, C. A., Sankar, B., Sridharan, R., & Panneerselvam, R. (2008). Soil salinity alters growth, chlorophyll content, and secondary metabolite accumulation in *Catharanthus roseus*. *Turkish Journal of Biology, 32*(2), 79-83.

Jithesh, M. N., Prashanth, S. R., Sivaprakash, K. R., & Parida, A. (2006). Monitoring expression profiles of antioxidant genes to salinity, iron, oxidative, light and hyperosmotic stresses in the highly salt tolerant grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. by mRNA analysis. *Plant Cell Reports, 25*, 865-876. https://doi.org/10.1007/s00299-006-0127-4

Kim, A. L., Yun, Y. J., Choi, H. W., Hong, C. H., Shim, H. J., Lee, J. H., & Kim, Y. C. (2022). Profiling cannabinoid contents and expression levels of corresponding biosynthetic genes in commercial cannabis (*Cannabis sativa* L.) cultivars. *Plants, 11*(22), 3088.

Koyro, H. W., Zorb, C., Debez, A., & Huchzermeyer, B. (2013). The effect of hyper-osmotic salinity on protein pattern and enzyme activities of halophytes. *Functional Plant Biology, 40*(9), 787-804. https://doi.org/10.1071/fp12387

Li, J., Cao, X., Jia, X., Liu, L., Cao, H., Qin, W., & Li, M. (2021). Iron deficiency leads to chlorosis through impacting chlorophyll synthesis and nitrogen metabolism in *Areca catechu* L. *Frontiers in Plant Science, 12*, 710093. https://doi.org/10.3389/fpls.2021.710093

Lutts, S., Kinet, J. M., & Bouharmont, J. (1996). NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of Botany, 78*, 389-398. https://doi.org/10.1006/anbo.1996.0134

Mushtaq, N. U., Alghamdi, K. M., Saleem, S., Tahir, I., Bahieldin, A., Henrissat, B., ... & Hakeem, K. R. (2023). Exogenous zinc mitigates salinity stress by stimulating proline metabolism in proso millet (*Panicum miliaceum* L.). *Frontiers in Plant Science, 14*, 1053869. https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1053869

Naeem, M., Ansari, A. A., Gill, S. S., Aftab, T., Idrees, M., Ali, A., & Khan, M. M. A. (2017). Regulatory role of mineral nutrients in nurturing of medicinal legumes under salt stress. *Essential Plant Nutrients: Uptake, Use Efficiency, and Management*, 309-334. https://doi.org/10.1007/978-3-319-58841-4_12

Nenova, V. (2006). Effect of iron supply on growth and photosystem II efficiency of pea plants. *General and Applied Plant Physiology, 32*, 81-90. https://doi.org/10.1023/A:1004451728237

Ondrasek, G., Rathod, S., Manohara, K. K., Gireesh, C., Anantha, M. S., Sakhare, A. S., ... & Horvatinec, J. (2022). Salt stress in plants and mitigation approaches. *Plants, 11*(6), 717. https://doi.org/10.3390/plants11060717

Ozturk, L., Yazici, M. A., Yucel, C., Torun, A., Cekic, C., Bagci, A., ... & Cakmak, I. (2016). Concentration and localization of zinc during seed development and germination in wheat. *Physiologia Plantarum, 128*(1), 144-152.

Ranieri, A., Castagna, A., Pacini, J., Baldan, B., Sodi, A. M., & Soldatini, G. F. (2003). Early production and scavenging of hydrogen peroxide in the apoplast of sunflower plants exposed to ozone. *Journal of Experimental Botany, 54*(392), 2529-2540. https://doi.org/10.1093/jxb/erg270

Ravet, K, & Pilon, M. (2013). Copper and iron homeostasis in plants: The challenges of oxidative stress. *Antioxidants and Redox Signaling, 19*(9), 919-932. https://doi.org/10.1089/ars.2012.5084

Rhaman, M. S., Rauf, F., Tania, S. S., & Khatun, M. (2020). Seed priming methods: Application in field crops and future perspectives. *Asian Journal of Research in Crop Science, 5*(2), 8-19.

Roosta, H. R., Estaji, A., & Niknam, F. (2018). Effect of iron, zinc and manganese shortage-induced change on photosynthetic pigments, some osmoregulators and chlorophyll fluorescence parameters in lettuce. *Photosynthetica, 56*, 606-615.

Serrano, R, & Rodriguez-Navarro, A. (2011). Ion homeostasis during salt stress in plants. *Current Opinion in Cell Biology, 13*(4), 399-404. https://doi.org/10.1016/s0955-0674(00)00227-1

Shao, J., Tang, W., Huang, K., Ding, C., Wang, H., Zhang, W., ... & Qari, S. H. (2023). How does zinc improve salinity tolerance? Mechanisms and future prospects. *Plants, 12*(18), 3207. https://doi.org/10.3390/plants12183207

Soltani, A, & Maddah, V. (2010). Simple Applied Programs for Education and Research in Agronomy. ISSA Press.

Tolay, I. (2021). The impact of different Zinc (Zn) levels on growth and nutrient uptake of Basil (*Ocimum basilicum* L.) grown under salinity stress. *PLoS One, 16*(2), e0246493. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0246493

Umair, M., Aamer, M., Umer Chattha, M., Haiying, T., Shahzad, B., Barbanti, L., ... & Guoqin, H. (2020). The critical role of zinc in plants facing the drought stress. *Agriculture, 10*(9), 396.

Umair, M., Chattha, M. U., Khan, I., Khan, T. A., Nawaz, M., Tang, H., ... & Guoqin, H. (2024). Zinc seed priming alleviates salinity stress and enhances sorghum growth by regulating antioxidant activities, nutrient homeostasis, and osmolyte synthesis. *Agronomy, 14*(8), 1815.

Xue, X., Du, S., Jiao, F., Xi, M., Wang, A., Xu, H., ... & Wang, M. (2021). The regulatory network behind seed germination: Effects of temperature, water, phytohormones, and nutrients. *The Crop Journal, 9*(4), 718-724.

Yang, Y, & Guo, Y. (2018). Elucidating the molecular mechanisms mediating plant salt-stress responses. *New Phytologist, 217*(2), 523-539. https://doi.org/10.1016/j.cj.2020.11.005

Zafar, S., Perveen, S., Kamran Khan, M., Shaheen, M. R., Hussain, R., Sarwar, N., ... & Siddiqui, M. H. (2022). Effect of zinc nanoparticles seed priming and foliar application on the growth and physio-biochemical

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]

[DOI: DOI: 10.22034/14.68.133]

indices of spinach (*Spinacia oleracea* L.) under salt stress. *PLoS One*, *17*(2), e0263194. https://doi.org/10.1371%2Fjournal.pone.0263194

Zhao, S., Zhang, Q., Liu, M., Zhou, H., Ma, C., & Wang, P. (2021). Regulation of plant responses to salt stress. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(9), 4609. https://doi.org/10.3390%2Fijms22094609

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]

[DOI: DOI: 10.22034/14.68.133]

The effect of seed priming with zinc and iron elements on the germination parameters, morphological, physiological, and biochemical traits, and *CBDAS* and *THCAS* expression in *Cannabis sativa* L. plants under salt stress

Fateme Zandi Toghan, Hamid Sobhaniyan*, Enayatallah Yazdanpanah, Gholamreza Bakshi Khaniki, Mohammad Ali Ebrahimi

Department of Biology, Payame Noor University (PNU), P.O. Box 19395-4697, Tehran, Iran
(Received: 2024/07/25, Accepted: 2025/03/11)

Abstract

The use of seed priming with micronutrients can be a promising approach in reducing the effects of salinity stress in cannabis plants. For priming, seeds were exposed to $ZnSO_4.7H_2O$ solution with concentrations of 10, 50, and 100 mM and to $FeSO_4.7H_2O$ with concentrations of 25, 50, and 75 mM. Salinity treatments were applied by adding 2 mL of 50 mM (mild) and 100 mM (severe) sodium chloride for 3 days in the Petri dish. The seedlings, then, were transferred from Petri dishes to plastic pots, and there they were watered with 50 (mild) and 100 (severe) mM NaCl solution. Data were analyzed based on a factorial experiment with a completely randomized design in three repeats. Salinity stress decreased seedling length, seedling dry weight, germination percentage, seed vigor, plant dry weight, total protein, chlorophyll, carotenoid, and antioxidant enzyme activity, while it increased electrolyte leakage and proline content. On the other hand, priming of cannabis seeds with iron and zinc micronutrients led to an increase in membrane stability and compatible osmolytes such as proline, protection of photosynthetic pigments, and improved activity of superoxide dismutase, catalase, and ascorbate peroxidase. The expression of *CBDAS* and *THCAS* genes was affected by salinity; different concentrations of iron and zinc were able to increase the expression of these genes and enable the production of more of their products in the cell. The combined treatment of 50 mM zinc and 75 mM iron was able to produce the best results in most cases. Considering the positive effect of iron and zinc on the cannabis plant, it is recommended to use a combined concentration of 50 mM zinc and 75 mM iron to improve the growth of cannabis under salt stress.

Keywords: Antioxidant, Cannabinoid, Medicinal plant, Micronutrients

Corresponding author, Email: hamid.sobhanian@pnu.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]

[DOI: DOI: 10.22034/14.68.133]