Iranian Journal of Seed Research, 2024, 11(1): 43-60

Research Article

Enhancement of the seed germination characteristics and longevity of Forssk (*Suaeda fruticosa*) under salinity stress using hormone-priming and post-priming heat-shock treatments

Mohammad Rezaee Chermehini [1], Farzad Sharifzadeh [2,*], Manijeh Sabokdast [3]

Extended abstract

Introduction: In order to improve seed germination under environmental stress conditions such as salinity, one of the solutions is to use seed priming. Despite this advantage of priming, the longevity of primed seeds usually decreases and it has been observed that using post-priming treatments such as heat shock can improve the longevity of primed seeds. This research investigates the effect of seed priming with salicylic acid, methyl jasmonate, and brassinosteroid under salinity stress and the effect of heat shock after priming on improving the longevity of primed seeds.

Materials and Methods: The effect of seed priming with hormonal substances such as methyl jasmonate at three concentrations of 1, 100, and 1000 micromolar and brassinosteroid at three concentrations of 25, 75, and 100 mg/liter on increasing the seed germination traits of *Suaeda fruticosa* was investigated under salinity stress during separate experiments. In both studied hormones, priming temperatures of 5, 10, and 15°C were used for 1 and 2 days. Hormonal seed priming with salicylic acid at a concentration of 25 mg L^{-1} for 2 days at 10°C -obtained from the previous results (unpublished)- was used for comparison with those of the studied treatments. To determine the most suitable accelerated aging stress for evaluating and determining the best heat shock treatment, the accelerated aging test of seeds was carried out for two, four, six, eight, and ten days. In this research, to improve the longevity of primed seeds, they were exposed to heat shock treatment at temperatures of 30, 35, and 40°C for 1, 2, 3, and 4 hours after seed priming.

Results: Both seed priming treatments with methyl jasmonate and brassinosteroid significantly increased all the tested germination traits compared to the control (without priming). This increase in traits such as germination percentage, vigor index, and seedling length in seed priming with methyl jasmonate was 46.4%, 67%, and 41%, respectively, and in the case of priming with brassinosteroid was 32%, 44%, and 38%, respectively. Also, in this research, the heat shock treatment at 40°C for four hours after priming had a significant and positive effect on seed germination. Application of the mentioned treatment increased germination by 60% at the end of the aging period compared with the control (without the application of heat shock).

Conclusions: Despite the significant increase in germination percentage by each of the hormonal substances like methyl jasmonate and brassinosteroid, the comparison of the best treatment combination of these substances with salicylic acid showed that seed priming with 25 mg L^{-1} of salicylic acid for two days at 10°C caused a significant increase in the percentage of germination under salinity stress. Also, the heat-shock post-priming treatment significantly improved the longevity of primed seeds.

Keywords: ***Accelerated Aging, Brassinosteroid, Methyl jasmonate, Salicylic acid***

***Highlights*:**

1. Seed priming significantly increases the seed germination characteristics of the Forssk plant against high salinity stress.
2. As the aging period increases, the primed seeds experience a significant drop in germination compared with the control.
3. Heat shock immediately after priming can significantly increase the longevity of primed seeds compared with the control.

[1] Ph.D Student of Seed Science and Technology, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
[2] Professor, Faculty of Agriculture, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
[3] Associated Professor, Faculty of Agriculture, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.

*Corresponding author, E-mail: sharifz@ut.ac.ir

DOI: 10.61186/yujs.11.1.43

ISSN: 2383-1480 (On-Line); 2383-1251 (Print)

Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Received: 16.4.2024; Revised: 25.5.2024;
Accepted: 28.5.2024; Online Published: 21.9.2024

پژوهش‌های بذر ایران/ سال یازدهم/ شماره اول/ ۱۴۰۳/ صفحات: ۶۰-۴۳

مقاله پژوهشی

بهبود خصوصیات جوانه‌زنی و طول عمربذر گیاه سیاه شور (*Suaeda fruticosa*) در مواجهه با تنش شوری با استفاده از هورمون پرایمینگ و شوک حرارتی بعد از پرایمینگ

محمد رضائی چرمهینی[۱]، فرزاد شریف زاده*[و۲]، منیژه سبکدست [۳]

چکیده مبسوط

مقدمه: جهت بهبود جوانه‌زنی بذر در شرایط تنش‌های محیطی از جمله شوری، یکی از راهکارها استفاده از پرایمینگ بذر می باشد. علی‌رغم این مزیت پرایمینگ، معمولاً طول عمر بذرهای پرایم‌شده کاهش می‌یابد. استفاده از تیمارهای پس از پرایمینگ همچون شوک حرارتی می‌تواند طول عمر بذرهای پرایم‌شده را بهبود بخشد. در این تحقیق تأثیر پرایمینگ بذر با اسید سالیسیلیک، متیل جاسمونات و براسینواستروئید در مواجهه با تنش شوری و همچنین تأثیر شوک حرارتی بعد از پرایمینگ بر بهبود طول عمر بذرهای پرایم شده مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: تحت آزمایش‌های جداگانه تأثیر پرایمینگ بذر با مواد هورمونی همچون متیل جاسمونات در سه غلظت ۱، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار و براسینو استروئید در سه غلظت ۲۵، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر روی افزایش میزان شاخص‌های جوانه‌زنی بذر گیاه سیاه شور *Suaeda fruticosa* (L.) Forssk در مواجهه با تنش شوری مورد بررسی قرار گرفت. در هر دو هورمون مورد مطالعه از دماهای پرایمینگ ۵، ۱۰ و ۱۵ درجه سلسیوس به مدت‌های ۱ و ۲ روز استفاده گردید. تیمار هورمونی بذر با اسید سالیسیلیک در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر و مدت ۲ روز و در دمای ۱۰ درجه سلسیوس بدست آمده از نتائج قبلی (منتشر نشده) جهت مقایسه با تیمارهای مورد آزمایش استفاده شد. به منظور تعیین مناسب‌ترین تنش پیری تسریع شده جهت ارزیابی و تعیین بهترین تیمار شوک حرارتی، از آزمایش پیری تسریع شده بذرها به مدت دو، چهار، شش، هشت و ده روز استفاده شد. در این تحقیق جهت بهبود طول عمر بذرهای پرایم شده از تیمار شوک حرارتی دماهای ۳۰، ۳۵ و ۴۰ درجه سلسیوس و مدت‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ ساعت بعد از پرایمینگ بذر استفاده گردید.

یافته‌ها: هر دو تیمار پرایمینگ بذر با متیل جاسمونات و براسینو استروئید همه صفات جوانه‌زنی مورد آزمایش را نسبت به شاهد (بدون پرایمینگ) بطور معنی داری افزایش دادند. این مقدار افزایش در مورد صفاتی همچون در صد جوانه‌زنی، شاخص بنیه و طول گیاهچه در حالت پرایمینگ بذر با متیل جاسمونات به ترتیب ۴۶/۴، ۶۷ و ۴۱ درصد و در مورد پرایمینگ با براسینواستروئید به ترتیب ۳۲، ۴۴ و ۳۸ درصد بود. در این تحقیق همچنین انجام آزمایش شوک حرارتی در دمای ۴۰ درجه سلسیوس به مدت چهار ساعت بعد از پرایمینگ، اثرهای مثبت و معنی‌داری روی بهبود جوانه‌زنی داشت و اعمال تیمار مذکور به میزان ۶۰٪ جوانه‌زنی در انتهای دوره پیری را نسبت به شاهد (بدون اعمال تیمار شوک حرارتی) افزایش داد.

نتیجه‌گیری: علی‌رغم افزایش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی توسط هر یک از مواد هورمونی متیل جاسمونات و براسینواستروئید، مقایسه بهترین ترکیب تیماری این مواد با اسید سالیسیلیک نشان داد که تیمار آماده سازی بذر با اسید سالیسیلیک ۲۵ میلی‌گرم در لیتر به مدت دو روز در دمای ۱۰ درجه سلسیوس پتانسیل جوانه‌زنی بیشتری در شرایط تنش شوری داشت. همچنین تیمار شوک حرارتی پس از پرایمینگ بطور معنی داری طول عمر بذر پرایم شده را افزایش داد.

واژه‌های کلیدی: براسینواستروئید، پیری تسریع شده، اسید سالیسیلیک، متیل جاسمونات

جنبه‌های نوآوری:

۱- تیمار پرایمینگ بذر بطور معنی‌داری صفات جوانه‌زنی بذر گیاه سیاه شور را در مواجهه با تنش بحرانی شوری افزایش می‌دهد.

۲- با افزیش دوره پیری، بذرهای پرایم شده بطور معنی‌داری با افت جوانه‌زنی در مقایسه با شاهد مواجه می‌شوند.

۳- شوک حرارتی پس از پرایمینگ، می‌تواند طول عمر بذرهای پرایم شده را بطور معنی‌داری نسبت به بذرهای شاهد افزایش دهد.

[۱] دانشجوی دکتری علوم و تکنولوژی بذر، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران.

[۲] استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی ، دانشگاه تهران، کرج، ایران.

[۳] دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.

*رایانامه نویسنده مسئول: sharifz@ut.ac.ir

DOI: 10.61186/yujs.11.1.43

شاپا: ۲۳۸۳-۱۴۸۰ (برخط)؛ ۲۳۸۳-۱۲۵۱ (چاپی)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱/۲۸؛ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۳/۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۳/۸؛ تاریخ انتشار برخط: ۱۴۰۳/۶/۳۱

مقدمه

به دلیل بارش کم و تبخیر زیاد در مناطق خشک و نیمه‌خشک، شوری خاک باعث کاهش پتانسیل آب می شود و جذب آب و مواد غذایی را برای گیاه سخت می کند (پروسل[1]و همکاران، ۲۰۱۲)؛ از اینرو، خاک و آب شور به علت محدود کردن رشد و کاهش عملکرد از مشکلات عمده‌ی کشاورزی می‌باشند. انصاری و شریف زاده[2](۲۰۱۲)، و روحی[3]و همکاران (۲۰۱۱)، بیان کردند افزایش غلظت نمک موجب کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی می‌شود. شوری علاوه بر ایجاد تنش اسمزی، با ایجاد تنش یونی برای سلول‌ها ایجاد سمیت می‌کند (کلر[4]و همکاران، ۲۰۰۹). شوری در خاک می‌تواند از طریق ایجاد تنش خشکی، کاهش نرخ جوانه‌زنی، کاهش میزان فتوسنتز و افزایش میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن اثرگزار باشد (قدیر و همکاران[5]، ۲۰۰۳). یکی از عوامل احتمالی برای کاهش رشد در هنگام افزایش شوری این است که از تولید هورمون‌های گیاهی مانند جیبرلیک اسید و سیتوکینین ممانعت می‌شود (خان[6]و همکاران، ۲۰۰۰).

کشور ایران با دارا بودن ۶/۸ میلیون هکتار اراضی شور (مومنی[7]، ۲۰۱۱)، از کشورهای در معرض تهدید از نظر تنش شوری محسوب می‌گردد. شیعتی[8] (۱۹۹۸)، گزارش کرد حدود ۱۱ میلیارد متر مکعب از کل آبهای کشور دارای شری بـــیش از ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر می باشند. گسترش محصولات مقاوم به شوری جهت افزایش مقاومت در مناطق نیمه خشک و زمین‌های شور در دهه های اخیر از اهداف اصلاح نباتات بوده است (شریواستاوا و کومار[9]، ۲۰۱۵).

تنش دمای پایین از تنش های غیر زیستی است که از اثرات منفی آن بر گیاهان می‌توان به اختلال در فتوسنتز، افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن، آسیب غشاء سلولی، تخریب رنگدانه‌های گیاهی و اسیدهای نوکلوئیک، اشاره کرد (شانکر و ونکاتسوارلو[10]، ۲۰۱۱). اولین قسمت ساختار گیاهی که تحت تأثیر تنش دمای پایین دچار آسیب می‌شود، غشاء های سلولی هستند که به علت عدم توانایی غشاء در مهار ورود و خروج یون‌ها، افزایش نشت یونی رخ می‌دهد (هینچا[11]و همکاران، ۱۹۹۶).

سیاه شور با نام علمی *Suaeda fruticosa* گیاهی از تیره اسفناجیان است. شورپسند و بوته‌ای، همراه با برگ‌های گوشتی و مقاومت بالایی به شوری خاک می باشد. پراکنش آن در نواحی ساحلی و باتلاق‌های نمکی در بیابان‌های پاکستان (گلزار و خان[12]، ۱۹۹۸)، و همچنین در مرکز، جنوب و جنوب شرقی ایران است (اسدی[13]، ۲۰۰۱). سیاه شور با داشتن ۲۵ درصد روغن که ۷۴ درصد آن اسید چرب غیر اشباع است منبع خوبی از روغن خوراکی می‌باشد (وبر[14]و همکاران، ۲۰۰۷). همچنین دارای خواص دارویی مانند کاهش قند خون (بنانی کوباچی[15]و همکاران، ۱۹۹۸؛ اوسلاتی[16]و همکاران، ۲۰۱۲)، بوده و به عنوان گیاه علوفه‌ای نیز کاربرد دارد (توحیدی[17]، ۲۰۱۱). علاوه بر این موارد قادر به جذب فلزات سنگین (بارن[18]و همکاران، ۲۰۱۱؛ بنکجی[19]و همکاران، ۲۰۱۵)، و جذب شوری خاک نیز می‌باشد (خان[20]و همکاران، ۲۰۰۹).

جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه از جمله مراحل بسیار مهم رشدگیاه بوده (هابارد[21]و همکاران، ۲۰۱۲)، و در استقرار سریع گیاهچه و تولید محصول در شرایط تنش نقش مهمی ایفا می‌کنند (ابراهیم[22]، ۲۰۱۶). این مراحل دارای بیشترین حساسیت به تنش‌های غیر زنده را دارند

[1] Porcel
[2] Ansari and Sharif-Zadeh
[3] Rouhi
[4] Kohler
[5] Qadir
[6] Khan
[7] Moameni
[8] Shiati
[9] Shrivastava and Kumar
[10] Shanker and Venkateswarlu
[11] Hincha
[12] Gulzar and Khan
[13] Asadi
[14] Weber
[15] Bennani-Kabachi
[16] Oueslati
[17] Towhidi
[18] Bareen
[19] Bankaji
[20] Khan
[21] Hubbard
[22] Ibrahim

(یاداو[1]و همکاران، ۲۰۱۱؛ بلوچی[2]و همکاران، ۲۰۲۳)، و جوانه‌زنی می‌تواند تحت تأثیر بسیای از این تنش‌ها قرار گیرد، و در میان آنها تنش شوری یکی از تنش های غیر زیستی عمده است که روی جوانه‌زنی بذر و رشد و تولید مثل گیاه تاثیر می‌گذارد (فاضلی نسب[3]و همکاران، ۲۰۲۳؛ ژو[4]، ۲۰۰۲).

روش‌های متفاوتی برای کاهش اثرات تنش شوری در گیاهان انجام شده است. این روش‌ها شامل روش‌های اصلاح ژنتیکی قدیمی و روش‌های جدید مانند خاموش کردن بیان ژن، جهش ژنی، ناک اوت (غیر فعال کردن) و غیره است. روش‌های اصلاحی رایج نقش زیادی در ایجاد تحمل به تنش در محصولات کشاورزی داشته است. اما تمام این روش‌های اصلاحی مرسوم مشکل هستند و همچنین دارای محدودیت‌هایی مانند نیاز زیاد به نیروی انسانی، انرژی و غیره هستند. روش‌های تاریخته سازی ژن ها شامل تغییراتی در سطح ژن برای انتقال توانایی تحمل به عوامل تنش زای مختلف است. اما این روش‌ها زمان‌بر، پرهزینه، نیاز به نیروی انسانی زیادی دارند و شامل مسائل ایمنی زیستی هستند. با توجه به این محدودیت‌ها، روش‌های جایگزینی که ساده و ارزان باشد، باید مشخص شود تا کشاورزان بدون هیچ مشکلی از آن استفاده کنند. با توجه به این موارد، ایجاد یک روش با قیمت مناسب و اقتصادی برای غلبه بر تنش شوری یک چالش است. در سطح جهانی، مطالعات متنوعی برای مقابله با تنش شوری انجام شده است که در میان آنها پرایمینگ بذر یکی از روش‌های امیدوارکننده است که توانایی کاهش اثرات منفی شوری و بهبود عملکرد و کیفیت محصولات گیاهی را دارد (جانسون و پوتر[5]، ۲۰۲۱؛ مرادی[6]و همکاران، ۲۰۱۸).

برخی اثرات مفید پرایمینگ هنگام خشک کردن بذرهای پرایمینگ شده نزول می‌یابد. همچنین اگر بذرهای پرایمینگ شده فورا مورد استفاده قرار نگیرند ممکن است در هنگام انبارداری آسیب بینند. ازاین رو محققان یکی از عمده ترین محدودیت های این روش را ماندگاری بذرهای پرایمینگ شده دانستند (حسین و همکاران[7]، ۲۰۱۵). موارد متفاوتی در خصوص ماندگاری بذرهای پرایمینگ شده وجود دارد. برای مثال کاهش قابلیت انبارداری بذرهای پرایمینگ شده در گیاهان مختلف ازجمله ذرت شیرین (چیو[8]و همکاران، ۲۰۰۲)، کاهو (هیل[9]و همکاران، ۲۰۰۷)، و همچنین در گونه هایی دیگری از گیاهان زراعی و سبزیجات (هاکیاسالی هوگلو[10]و همکاران، ۱۹۹۹) گزارش شده است. در مقابل گزارش‌هایی مبنی بر افزایش ماندگاری بذرها تحت تأثیر پرایمینگ نیز وجود دارد (چیو و همکاران، ۲۰۰۲؛ بوتلر[11] و همکاران، ۲۰۰۹). بیشتر مطالعات در خصوص بررسی قابلیت ماندگاری بذرهای پرایمینگ شده در گونه های مختلف گیاهی تحت آزمون های زوال مصنوعی انجام شده‌اند (شومبر و برادفورد[12]، ۲۰۰۵؛ هیل و همکاران، ۲۰۰۷). درحالی که آزمون های سریع برآورد ، طول عمر بذرها نمی‌تواند شرایط طبیعی انبار را به طور صحیح شبیه سازی کند و موجب بیان نتایج اشتباه می گردد و این یک امر ضروری است که قابلیت ماندگاری محموله‌های بذری تحت شرایط طبیعی بررسی شود تا به نتایج واقعی‌تری رسید (شومبر و برادفورد، ۲۰۱۰).

جهت بررسی تیمار های مختلف بذری و انتخاب بهترین تیمار پرایمینگ و همچنین جهت برآورد شرایط انبارداری بذر سیاه شور بعد از پرایمینگ آزمایش‌های پیری تسریع شده و شوک حرارتی جهت بهبود عملکرد بذرهای پرایم شده انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

به این تحقیق در آزمایشگاه تکنولوژی بذر گروه زراعت و اصلاح نباتات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران از شهریورماه ۱۳۹۸ تا آذرماه ۱۴۰۰ در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی صورت گرفت و صفات جوانه‌زنی بررسی شد.

[1] Yadav
[2] Balouchi
[3] Fazeli-Nasab
[4] Zhu
[5] Johnson and Puthur
[6] Moradi
[7] Hussain
[8] Chiu
[9] Hill
[10] Hacisalihoglu
[11] Butler
[12] Schwember and Bradford

پرایمینگ بذر

آزمایش پرایمینگ بذر با استفاده از جاسمونات و براسینو استروئید و اسید سالیسیلیک به شرح زیر در پتری ۱۰ سانتی‌متری با ۱۵ میلی‌لیتر محلول پرایم انجام گرفت. تیمار هورمونی بذر شامل جاسمونات در سه غلظت ۱، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار و مدت ۱ و ۲ روز و در دماهای ۵، ۱۰ و ۱۵ درجه سلسیوس و تیمار هورمونی بذر با براسینو استروئید در سه غلظت ۲۵، ۷۵ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر و مدت ۱ و ۲ روز و در دماهای ۵، ۱۰ و ۱۵ درجه سلسیوس انجام گردید. تیمار هورمونی بذر با اسید سالیسیلیک در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر و مدت ۲ روز و در دمای ۱۰ درجه سلسیوس از آزمایش‌های گذشته جهت مقایسه با تیمار های جدید و انتخاب بهترین تیمار استفاده شد. پس از پرایم بذر ها ۱۲ ساعت خشک شده و سپس در پتری ۱۰ سانتی‌متری در دمای۲۰ درجه سلسیوس در بستر حاوی محلول کلرید سدیم ۱۶- بار کشت شدند. پتانسیل شوری بر اساس معادله ونت-هوف (برادفورد[1]و همکاران، ۱۹۷۰) از رابطه ۱مورد محاسبه قرار گرفت.

رابطه ۱:

$$\Psi = MIRT$$

Ψ شوری (مگاپاسکال)، M مولاریته محلول بر حسب مول در لیتر، I ضریب یونیزاسیون، R ثابت عمومی گازها (۰/۰۰۸۳۱۴۳ لیتر مگاپاسکال بر مول کلوین) و T دما بر حسب درجه کلوین (درجه سلسیوس+۲۷۳)

برای بدست آوردن درصد جوانه‌زنی پس از شمارش روزانه تعداد بذرهای جوانه‌زده، جوانه‌زنی از رابطه ۲ محاسبه شد (آیکیک[2]و همکاران، ۲۰۱۲).

رابطه ۲:

$$GP = n/N \times 100$$

N تعداد بذر کشت شده، n تعداد بذر جوانه زده و GP درصد جوانه‌زنی می‌باشد.

برای بدست آوردن سرعت جوانه‌زنی روزانه تعداد بذرهای جوانه‌زده شمارش و ثبت گردید. پس از آن شاخص یا سرعت جوانه‌زنی از رابطه ۳ و ۴ محاسبه شد (الیس و روبرتز[3]، ۱۹۸۰).

رابطه ۳:

$$MGT = \frac{\Sigma(ni \times di)}{N}$$

رابطه ۴:

$$GR = \frac{1}{MGT}$$

MGT متوسط زمان جوانه‌زنی، n_i تعداد بذرهای جوانه زده در روز i ، d_i تعداد روزها از زمان شروع آزمایش، N تعداد کل بذرهای‌جوانه زده در روز آخر شمارش و GR سرعت جوانه‌زنی می باشد.

پس از پایان آزمایش‌ها و اندازه‌گیری طول گیاهچه، شاخص بنیه‌ی بذر با استفاده از رابطه ۵ (کالسا و ابیی[4]، ۲۰۱۲) محاسبه شد.

رابطه ۵:

$$VI = GP\,(\%) \times SL\,(cm)$$

VI شاخص بنیه‌ی بذر، GP میزان جوانه‌زنی استاندارد و SRL طول گیاهچه (cm) است.

افزایش طول عمر بذر های پرایم شده

علی‌رغم بهبود صفات جوانه‌زنی با اعمال تیمار پرایمینگ بذر، معمولا طول عمر بذرهای پرایم شده کاهش می‌یابد. در این تحقیق ابتدا با انجام آزمون پیری تسریع شده طول عمر بذرهای پرایم شده در مقایسه با بذرهای شاهد (پرایم نشده) مورد بررسی قرار گرفت تا در صورت کاهش معنی‌دار جوانه‌زنی بذرهای پرایم شده نسبت به شاهد، از تیمارهای پس از پرایمینگ از جمله شوک حرارتی برای بهبود طول عمر بذرهای پرایم شده نیز استفاده گردد.

آزمون پیری تسریع شده

آزمون پیری تسریع شده نه تنها جهت بررسی طول عمر بذر های پرایم شده نسبت به شاهد، بلکه به منظور تعیین مناسب‌ترین تنش پیری تسریع شده جهت ارزیابی و تعیین بهترین تیمار شوک حرارتی در آزمایش بعدی انجام گرفت. بدین منظور بذرهای مربوط به بهترین تیمار پرایمینگ آزمایش قبل (پرایم شده با تیمار اسید سالیسیلیک ۲۵ میلی‌گرم در لیتر در دمای ۱۰ درجه سلسیوس به مدت دو روز) و همچنین بذرهای شاهد (پرایم نشده) به مدت دو، چهار، شش، هشت و ده روز در شرایط پیری زودرس (رطوبت نسبی ۹۹

[1] Bradford
[2] Ikic
[3] Ellis and Roberts
[4] Kalsa and Abebie

درصد و دمای ۴۱ درجه سلسیوس در جعبه‌های مخصوص این آزمون) قرار گرفتند. پس از مدت‌های مذکور بذرها تحت آزمون جوانه‌زنی استاندارد در دمای ۲۰ درجه سلسیوس قرار گرفته تا با استفاده از نتایج حاصل مناسب ترین مدت پیری تسریع شده جهت ارزیابی بهترین تیمار شوک حرارتی در آزمایش بعدی تعیین گردد.

شوک حرارتی

به منظور افزایش طول عمر بذرهای پرایم شده از تیمار شوک حرارتی بعد از پرایمینگ استفاده شد. بدین منظور بذرها پس از خارج شدن از محلول پرایمینگ و کاهش ۱۰ در صدی رطوبت محتوی در بسته‌های از جنس فویل آلومینیم (بدون تبادل رطوبتی با محیط خارج) قرار داده شدند. جهت اعمال شوک حرارتی، بسته های بذری فوق الذکر در معرض دماهای ۳۰، ۳۵ و ۴۰ درجه سلسیوس و مدت‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ ساعت قرار گرفتند. پس از اعمال تیمارهای شوک حرارتی بذرها در معرض پیری زودرس ۸ روز (بدست آمده از آزمایش قبل) قرار گرفته و پس از آن جوانه‌زنی استاندارد در دمای۲۰ درجه سلسیوس انجام گرفت. از نتائج حاصل از جوانه‌زنی استاندارد مناسب ترین تیمار شوک حرارتی برای افزایش طول عمر بذرهای پرایم شده تعیین گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد انجام شد. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel ۲۰۱۹ رسم گردیدند.

نتایج و بحث

پرایمینگ بذر با متیل جاسمونات

پرایمینگ با متیل جاسمونات بر تمام صفات اندازه گیری شده تحت تنش شوری ۱۶- بار تفاوت معنی داری نشان داد (جدول ۱). در آزمایش پرایمینگ با متیل جاسمونات بیش‌ترین مقدار جوانه‌زنی (۲۷٪) در غلظت ۱۰۰ میکرومولار به مدت ۲ روز در دمای پرایمینگ ۱۰ درجه سلسیوس بدست آمد که نسبت به شاهد (بدون پرایمینگ) تفاوت معنی داری داشت. کمترین میزان آن (۱۵٪) در غلظت ۱ میکرومولار به مدت ۱ روز در ۱۵ درجه سلسیوس رخ داد که با برخی تیمارهای مورد آزمایش و همچنین شاهد تفاوت آماری معنی‌داری نداشت (شکل ۱).

بیش‌ترین میزان سرعت جوانه‌زنی (۰/۱۵ بذر در روز) با تیمار متیل جاسمونات در غلظت ۱۰۰ میکرومولار، دمای پرایم ۱۰ درجه سلسیوس و به مدت ۲ روز بود و بطور معنی داری از شاهد آزمایش (بدون پرایم) از سرعت جوانه‌زنی بیشتری برخوردار بود.

جدول ۱. تجزیه واریانس اثر پرایمینگ بذر با با متیل جاسمونات روی شاخص‌های جوانه‌زنی بذر سیاه شور تحت تحت تنش شوری (۱۶- بار)

Table 1. Analysis of variance for effect of seed priming with methyl jasmonate on the germination indices of forssk under salinity stress (-16 bar)

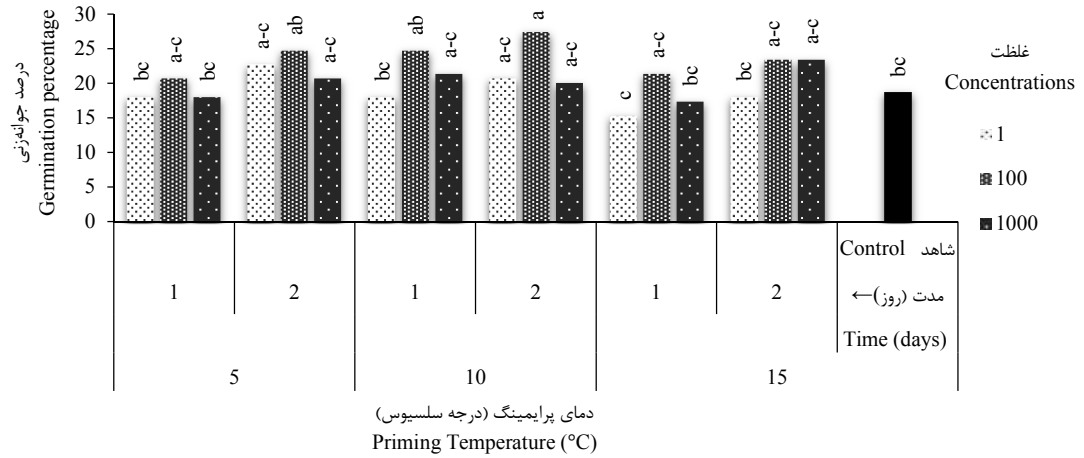
منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Seed germination	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	طول گیاهچه Seedling length	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight	شاخص بنیه Vigor index
پرایمینگ با متیل جاسمونات Priming with methyl jasmonate	18	27.98**	0.0001594**	49.86**	0.00000000189**	0.7246**
خطا Error	38	19.087	0.00053	17.32	0.00000000386	0.4096
ضریب تغییرات (درصد) C.V. (%)		1.47	5.28	10.8	6.76	12.31

** نشان دهنده معنی‌داری در سطح ۱٪ می باشد.

** Indicates significant difference at the P≤ 0.01 level

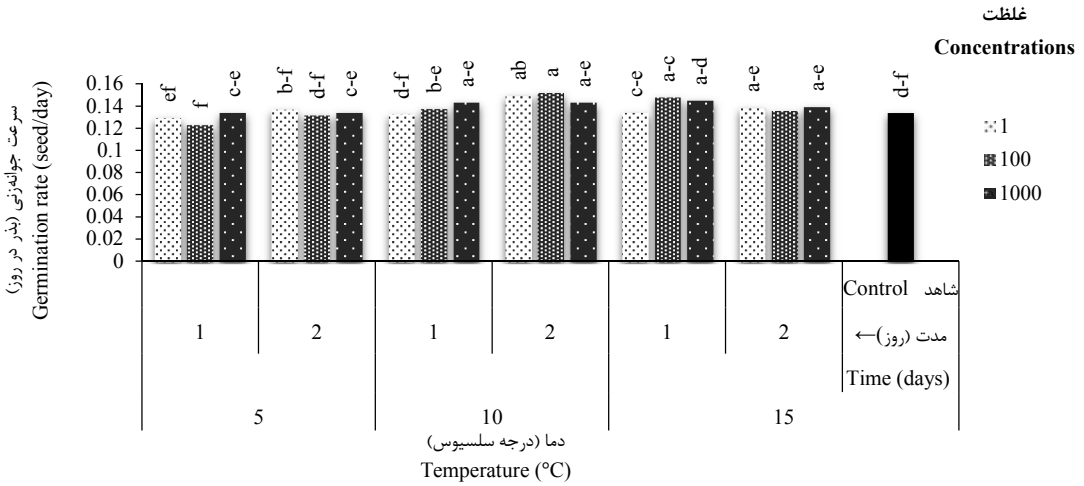
کمترین میزان آن (۰/۱۲ بذر در روز) در غلظت ۱۰۰ میکرومولار، دمای پرایمینگ ۵ درجه سلسیوس به مدت ۱ روز بدست آمد (شکل ۲).

در مورد تیمار پرایمینگ با متیل جاسمونات، بالاترین مقدار طول گیاهچه (۴۶ میلی‌متر)، مربوط به بذرهایی بود که در غلظت ۱ میکرومولار این ماده، در دمای ۱۵ درجه سلسیوس به مدت ۱ روز پرایم شدند. مقدار بدست آمده طول گیاهچه این تیمار از شاهد آزمایش بطور معنی داری بیشتر بود. کمترین میزان آن (۳۲ میلی‌متر)، مربوط به بذرهای پرایم شده در غلظت ۱۰۰ میکرومولار، در دمای ۵ درجه سلسیوس و مدت زمان ۱ روزبود (شکل ۳).



شکل ۱. مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی بذر سیاه شور در تنش شوری (۱۶- بار)، تحت تأثیر پرایمینگ بذر با متیل جاسمونات در غلظت‌ها (۱، ۱۰۰، و ۱۰۰۰ میکرومولار)، دماها (۵، ۱۰ و ۱۵ درجه سلسیوس) و مدت‌های (۱ و ۲ روز) مختلف

Figure 1. Mean comparisons of seed germination percentage of forssk under salinity stress (-16 bar) as affected by seed priming with different concentrations (1, 100, and 1000 µM) of methyl jasmonate at different priming temperatures (5, 10, and 15 °C), and durations (1 and 2 days)

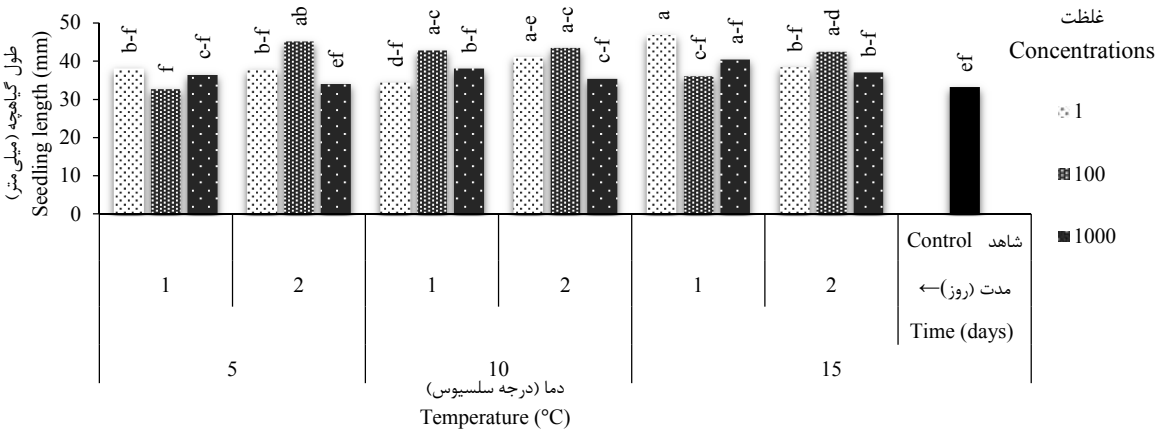


شکل ۲. مقایسه میانگین سرعت جوانه‌زنی بذر سیاه شور در تنش شوری (۱۶- بار)، تحت تأثیر پرایمینگ بذر با متیل جاسمونات در غلظت‌ها (۱، ۱۰۰، و ۱۰۰۰ میکرومولار)، دماها (۵، ۱۰ و ۱۵ درجه سلسیوس) و مدت‌های (۱ و ۲ روز) مختلف

Figure 2. Mean comparisons of germination rate of forrssk under salinity stress (-16 bar) as affected by seed priming with different concentrations (1, 100, and 1000 µM) of methyl jasmonate at different priming temperatures (5, 10, a 15 °C), and durations (1 and 2 days)

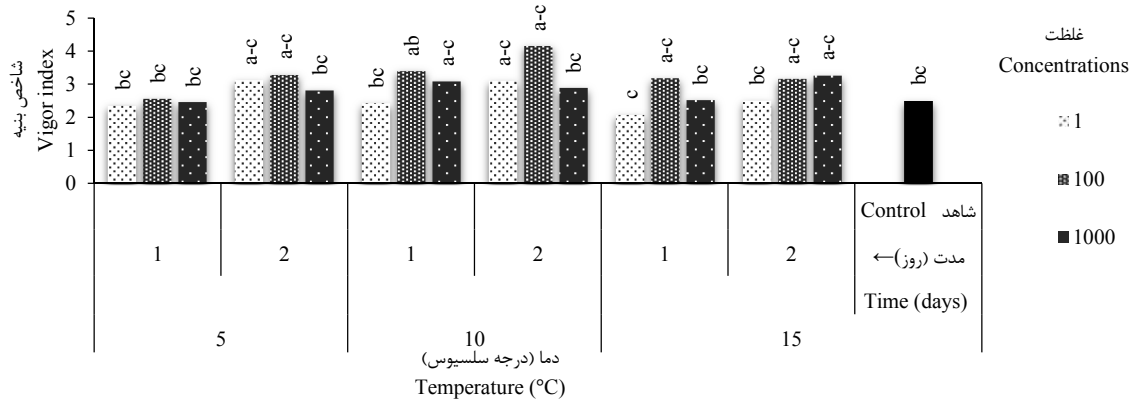
بیش‌ترین میزان شاخص بنیه (۴/۱۳) ناشی از تیمار پرایمینگ بذرها با متیل جاسمونات در غلظت ۱۰۰ میکرومولار در دمای ۱۰ درجه سلسیوس و به مدت ۲ روز بود که از شاهد آزمایش بطور معنی داری مقدار بیشتری داشت. کمترین میزان شاخص بنیه (۲/۰۵) مربوط به بذرهای پرایم شده در غلظت ۱ میکرومولار در دمای ۱۵ درجه سلسیوس و به مدت ۴ روز بود (شکل ۴).

بیش‌ترین میزان وزن خشک گیاهچه (۰/۰۰۱۰۴ گرم)، از بذرهای پرایم شده در غلظت ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات در دمای پرایمینگ ۱۰ درجه سلسیوس به مدت ۲ روز و دارای تفاوت معنی‌دار با شاهد (بدون پرایم)، و کمترین میزان آن (۰/۰۰۰۷۸ گرم) مربوط به بذرهایی بود که در غلظت ۱۰۰ میکرومولار در دمای ۱۰ درجه سلسیوس به مدت ۱ روز پرایم شدند (شکل ۵).



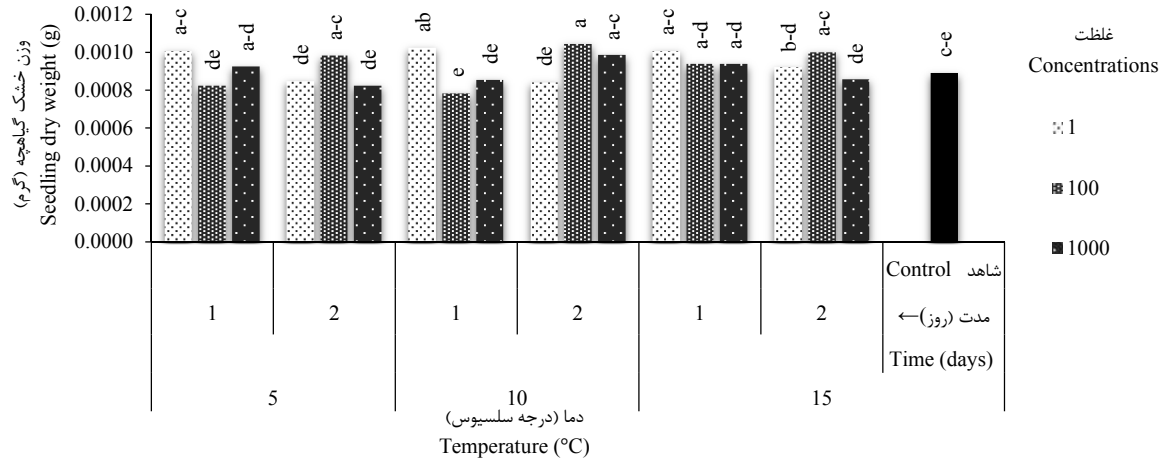
شکل ۳. مقایسه میانگین طول گیاهچه سیاه شور در تنش شوری (۱۶- بار)، تحت تاثیر پرایمینگ بذر با متیل جاسمونات در غلظت‌ها (۱، ۱۰۰، و ۱۰۰۰ میکرومولار)، دماها (۵، ۱۰ و ۱۵ درجه سلسیوس) و مدت‌های (۱ و ۲ روز) مختلف

Figure 3. Mean comparisons of seedling length of forssk under salinity stress (-16 bar) as affected by seed priming with different concentrations (1, 100, and 1000 µM) of methyl jasmonate at different priming temperatures (5, 10, and 15 °C) and durations (1 and 2 days**)**



شکل ۴. مقایسه میانگین شاخص بنیه گیاهچه سیاه شور در تنش شوری (۱۶- بار)، تحت تأثیر پرایمینگ بذر با متیل جاسمونات در غلظت‌ها (۱، ۱۰۰، و ۱۰۰۰ میکرومولار)، دماها (۵، ۱۰ و ۱۵ درجه سلسیوس) و مدت‌های (۱ و ۲ روز) مختلف

Figure 4. Mean comparisons of vigor index of Forssk under salinity stress (-16 bar) as affected by seed priming with different concentrations (1, 100, and 1000 µM) of methyl jasmonate at different priming temperatures (5, 10, and 15 °C) and durations (1 and 2 days)



شکل ۵. مقایسه میانگین وزن خشک گیاهچه سیاه شور در تنش شوری (۱۶- بار)، تحت تاثیر پرایمینگ بذر با متیل جاسمونات در غلظت‌ها (۱، ۱۰۰، و ۱۰۰۰ میکرومولار)، دماها (۵، ۱۰ و ۱۵ درجه سلسیوس) و مدت‌های (۱ و ۲ روز) مختلف

Figure 5. Mean comparisons of seedling dry weight of Forssk under salinity stress (-16 bar) as affected by seed priming with different concentrations (1, 100, and 1000 µM) of methyl jasmonate at different priming temperatures (5, 10, and 15 °C) and durations (1 and 2 days)

در تمام صفات اندازه‌گیری شده کاربرد متیل جاسمونات تاثیرات معنی داری نشان داد که برای درصد جوانه‌زنی مشهودتر و برای سرعت جوانه‌زنی اختلاف کمتری با شاهد مشاهده شد. این نتایج می‌تواند به علت کاهش میزان نشت یونی و غلظت سدیم باشد (اسکندری[1] و همکاران، ۲۰۱۹).

محمدیان[2] و همکاران (۲۰۱۸)، با کاربرد پرایمینگ متیل جاسمونات روی بذر استویا تحت تنش شوری به این نتیجه رسیدند که متیل جاسمونات و اثر متقابل شوری و متیل جاسمونات بر درصد و سرعت جوانه‌زنی، میانگین زمان جوانه‌زنی، ارزش جوانه‌زنی، شاخص بنیه بذر، کلروفیل کل، پرولین و فعالیت آنزیم کاتالاز معنی دار بود. پرایمینگ بذر با ۵ میکرومولار متیل جاسمونات در سطح شوری با هدایت الکتریکی صفر دسی زیمنس بر متر، بیشترین درصد و سرعت جوانه‌زنی، ارزش جوانه‌زنی، شاخص بنیه بذر، میزان کلروفیل کل و پرولین آزاد را داشته است. با افزایش تنش شوری و میزان متیل جاسمونات فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش معنی داری نشان داده بود. می‌توان اظهار داشت که متیل جاسمونات به عنوان بهبود دهنده احتمالاً می‌تواند باعث کاهش اثرات منفی شوری شود و با افزایش شاخص های جوانه‌زنی مثل درصد و سرعت جوانه‌زنی در بهبود رشد گیاه استویا مؤثر باشد.

قنبری[3] و همکاران (۲۰۲۰) ارزیابی اثر متیل جاسمونات و تیمار شوری بر ویژگیهای جوانه‌زنی و فعالیت آنزیمی ماش (*Vigna radiata*) را مورد بررسی و گزارش نمودند که کاربرد پیشتیمار متیل جاسمونات، از طریق بهبود فعالیت آنزیمهای جوانه‌زنی و افزایش فعالیت آنزیم‌های تنش، موجب افزایش فعالیت آنزیمهای هیدرولیزکننده در آندوسپرم بذرهای جوانه زده شده، که این امر سبب کاهش مدت زمان جوانه‌زنی، افزایش سرعت جوانه‌زنی و کاهش تنش اکسیداتیو در شرایط تنش شوری می‌گردد.

پرایمینگ بذر با براسینواستروئید

پرایمینگ با براسینو استروئید بر تمام صفات اندازه گیری شده تحت تنش شوری ۱۶- بار تفاوت معنی داری نشان داد (جدول ۲). در تیمار با براسینواستروئید بیش‌ترین مقدار جوانه‌زنی (۲۴٪)، در غلظت ۷۵ میلی گرم در لیتر برای بذرهای پرایم شده در دمای ۱۵ درجه سلسیوس به مدت ۱ روز بود که نسبت به شاهد (بدون پرایمینگ) تفاوت معنی داری داشت. کمترین میزان آن (۱۵٪)، در غلظت ۷۵ میلی‌گرم در لیتر، دمای پرایم ۵

[1] Eskandari
[2] Mohammadian
[3] Ghanbari

درجه سلسیوس به مدت ۱ روز رخ داد که با برخی تیمار های مورد آزمایش و همچنین شاهد تفاوت آماری معنی داری نداشت (شکل ۶).

در پرایم با براسینواستروئید بالاترین سرعت جوانه‌زنی (۰/۱۵ بذر در روز)، در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر، بذرهای پرایم شده در دمای ۱۵ درجه سلسیوس و به مدت ۲ روز بود و کمترین میزان آن (۰/۱۲ بذر در روز)، در غلظت ۷۵ میلی‌گرم در لیتر دمای پرایم۱۰ درجه سلسیوس به مدت ۲ روز، و بدست آمد (شکل ۷).

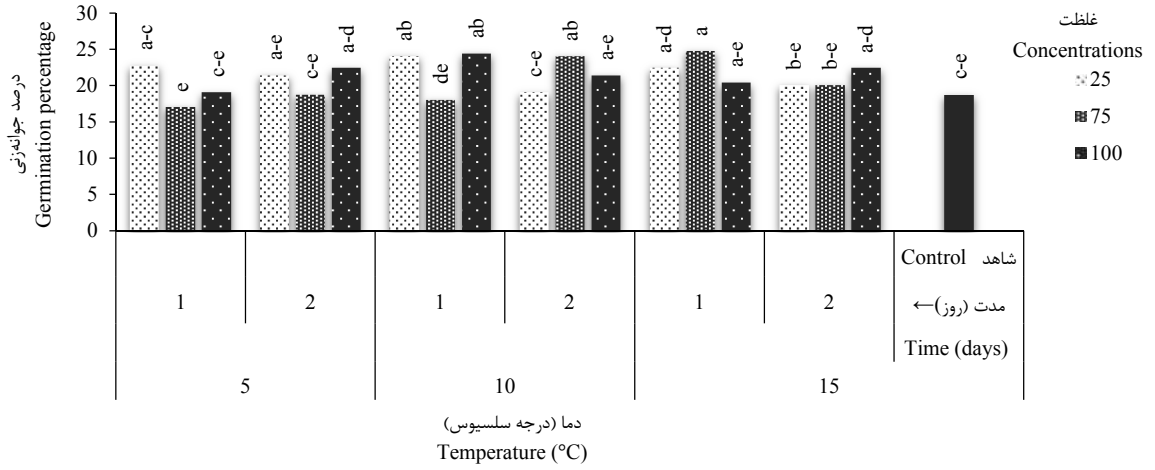
جدول ۲. تجزیه واریانس اثر پرایمینگ بذر با براسینو استروئید روی شاخص‌های جوانه‌زنی بذر سیاه شور تحت تحت تنش شوری (۱۶- بار)

Table 2. Analysis of variance for effect of seed priming with brassinosteroids on the germination indices of Forssk under salinity stress (-16 bar)

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Seed germination	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	طول گیاهچه Seedling length	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight	شاخص بنیه Vigor index
پرایمینگ با براسینو استروئید Priming with brassinosteroids	18	16.1949318**	0.00011068**	63.345634**	0.00000000394**	0.37889433**
خطا Error	38	5.5614035	0.00002674	4.921579	0.00000000266	0.1146
ضریب تغییرات (درصد) C.V. (%)		11.20175	3.6825	5.8916	5.6171	11.47

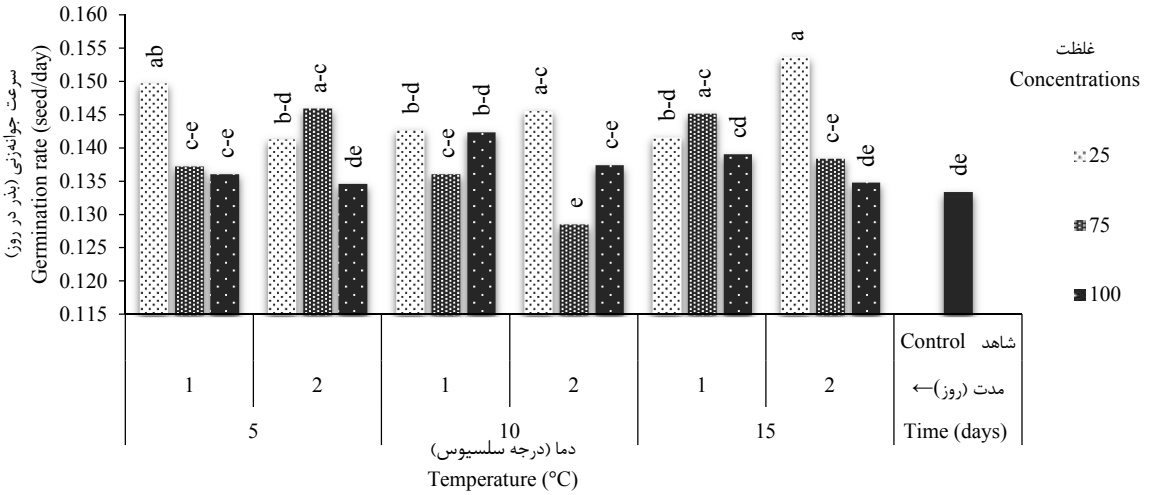
** نشان دهنده معنی داری در سطح ۱٪ می باشد.

**Indicates significant difference at the P≤ 0.01 level



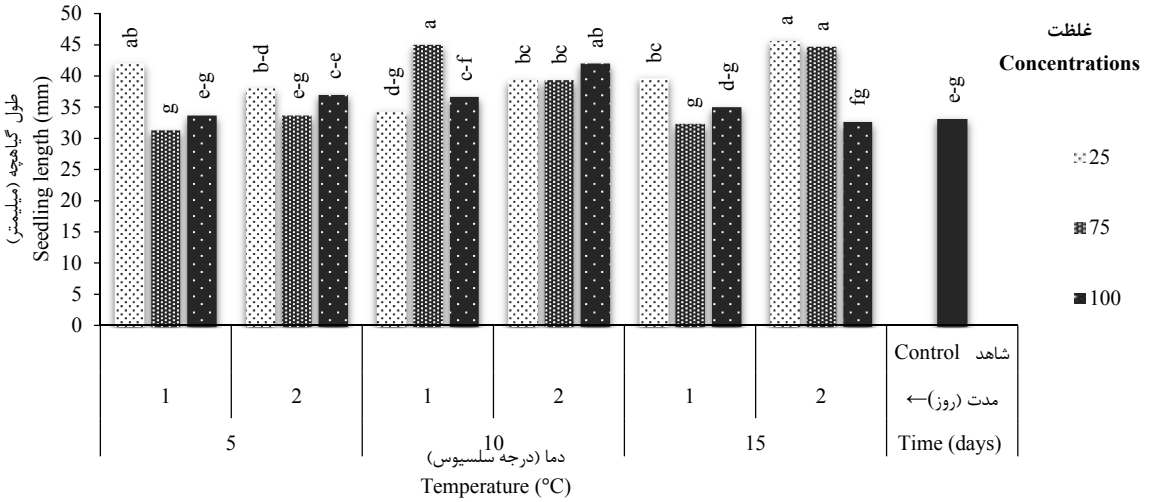
شکل ۶. مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی بذر سیاه شور در تنش شوری (۱۶- بار)، تحت تأثیر پرایمینگ بذر با براسینواستروئید در غلظت‌ها (۲۵، ۷۵، و ۱۰۰ میلیگرم در لیتر)، دماها (۵، ۱۰ و ۱۵ درجه سلسیوس) و مدت‌های مختلف (۱ و ۲ روز) مختلف

Figure 6. Mean comparisons of seed germination percentage of Forssk under salinity stress (-16 bar) as affected by seed priming with different concentrations (25, 75, and 100 mg/L) of Brassinosteroid at different priming temperatures (5, 10, and 15 °C) and durations (1 and 2 days)



شکل ۷. مقایسه میانگین سرعت حوانه زنی بذر سیاه شور در تنش شوری (۱۶- بار)، تحت تاثیر پرایمینگ بذر با براسینواستروئید در غلظت‌ها (۲۵، ۷۵، و ۱۰۰ میلیگرم در لیتر)، دماها (۵، ۱۰ و ۱۵ درجه سلسیوس) و مدت‌های (۱ و ۲ روز) مختلف

Figure 7. Mean comparisons of germination rate of Forssk under salinity stress (-16 bar) as affected by seed priming with different concentrations (25, 75, and 100 mg/L) of Brassinosteroid at different priming temperatures (5, 10, and 15 °C) and durations (1 and 2 days)

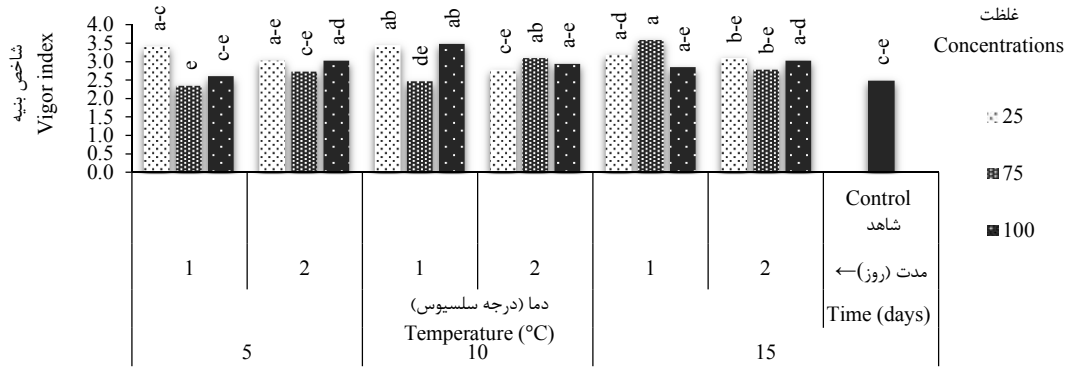


شکل ۸. مقایسه میانگین طول گیاهچه سیاه شور در تنش شوری (۱۶- بار)، تحت تاثیر پرایمینگ بذر با براسینواستروئید در غلظت‌ها (۲۵، ۷۵، و ۱۰۰ میلیگرم در لیتر)، دماها (۵، ۱۰ و ۱۵ درجه سلسیوس) و مدت‌های (۱ و ۲ روز) مختلف

Figure 8. Mean comparisons of seedling length of Forssk under salinity stress (-16 bar) as affected by seed priming with different concentrations (25, 75, and 100 mg/L) of Brassinosteroid at different priming temperatures (5, 10, and 15 °C) and durations (1 and 2 days)

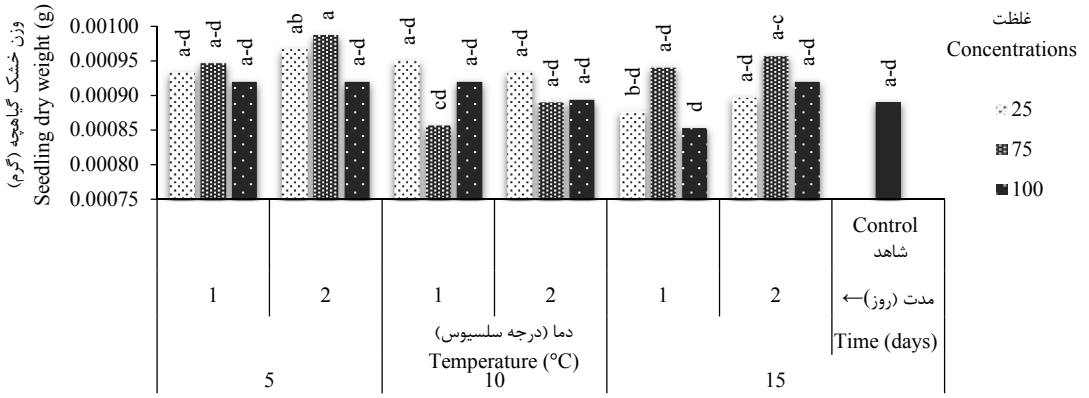
بلندترین مقدار بدست آمده طول گیاهچه (۴۵ میلی‌متر)، با تیمار با براسینواستروئید در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر بذرهای پرایم شده در دمای ۱۵ درجه سلسیوس و به مدت ۲ روز بود و کوتاه ترین میزان آن (۳۱ میلی‌متر)، در غلظت ۷۵ میلی‌گرم در لیتر دمای پرایم ۵ درجه سلسیوس به مدت ۱ روز رخ داد (شکل ۸).

در تیمار با براسینواستروئید در شاخص بنیه تفاوت معنی داری با شاهد مشاهده شد و بیش‌ترین میزان شاخص بنیه (۳/۵)، در غلظت ۷۵ میلی‌گرم در لیتر و دمای پرایم ۱۵ درجه سلسیوس به مدت ۱ بدست آمد. کمترین میزان آن (۲/۳)، در غلظت ۷۵ میلی‌گرم در لیتر و بذرهای پرایم شده در دمای ۵ درجه سلسیوس و مدت ۱ روز مشاهده شد (شکل ۹).



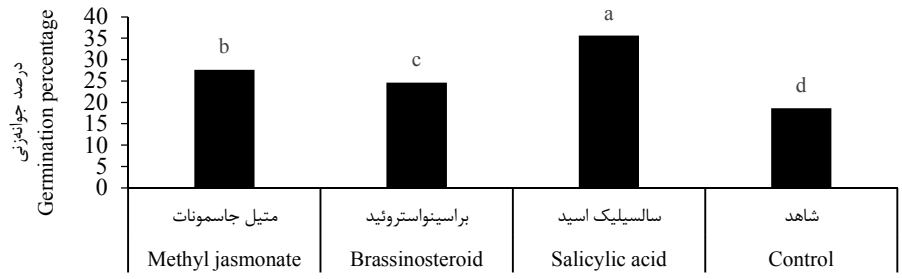
شکل ۹. مقایسه میانگین شاخص بنیه گیاهچه سیاه شور در تنش شوری (۱۶- بار)، تحت تاثیر پرایمینگ بذر با براسینواستروئید در غلظت‌ها (۲۵، ۷۵، و ۱۰۰ میلیگرم در لیتر)، دماها (۵، ۱۰ و ۱۵ درجه سلسیوس) و مدت‌های (۱ و ۲ روز) مختلف

Figure 9. Mean comparisons of vigor index of Forssk under salinity stress (-16 bar) as affected by seed priming with different concentrations (25, 75, and 100 mg/L) of Brassinosteroid at different priming temperatures (5, 10, and 15 °C) and durations (1 and 2 days)



شکل ۱۰. مقایسه میانگین وزن خشک گیاهچه سیاه شور در تنش شوری (۱۶- بار)، تحت تاثیر پرایمینگ بذر با براسینواستروئید در غلظت‌ها (۲۵، ۷۵، و ۱۰۰ میلیگرم در لیتر)، دماها (۵، ۱۰ و ۱۵ درجه سلسیوس) و مدت‌های (۱ و ۲ روز) مختلف

Figure 10. Mean comparisons of seedling dry weight of Forssk under salinity stress (-16 bar) as affected by seed priming with different concentrations (25, 75, and 100 mg/L) of Brassinosteroid at different priming temperatures (5, 10, and 15 °C) and durations (1 and 2 days)



شکل ۱۱. مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی بهترین بذرهای پرایم شده سیاه شور با متیل جاسمونات، براسینواستروئید و اسید سالیسیلیک تحت تنش شوری (۱۶- بار)، در دمای جوانه‌زنی ۲۰ درجه سلسیوس

Figure 11. Mean comparisons of seed germination percentage of the best primed seeds of Forssk with methyl jasmonate, salsilic acid and brassinosteroid under salinity stress (-16 bar) and germination temperature of 20 °C

در تیمار با براسینواستروئید بالاترین میزان وزن خشک گیاهچه (۰/۰۰۰۹۴ گرم)، در غلظت ۷۵ میلی گرم در لیتر، دمای پرایم ۵ درجه سلسیوس و به مدت ۲ روز بود و تفاوت معنی داری با بذرهای شاهد (پرایم نشده)، مشاهده نشد. کمترین میزان آن (۰/۰۰۰۸۵ گرم)، در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر برای بذرهای پرایم شده در دمای ۱۵ درجه سلسیوس به مدت ۱ روز بدست آمد که حتی از شاهد آزمایش وزن خشک گیاهچه کمتری داشت (شکل ۱۰).

در این تحقیق در تمامی موارد باستثنا وزن خشک گیاهچه، پرایمینگ بذر با براسینو استروئید تفاوت‌های معنی‌داری با شاهد (بدون پرایم) در شاخص‌های جوانه زنی ایجاد کرد.

سیتا رام راو[1] و همکاران، (۲۰۰۲) تاثیر براسینو استروئید را بر بهبود جوانه‌زنی برنج تحت تنش شوری را مورد مطالعه قرار داده و اثر مثبت این ماده در مقابله با شوری را به افزایش میزان اسیدهای نوکلئیک و پروتئین های محلول مرتبط دانستند.

سولیمان[2] و همکاران (۲۰۲۰)، در کاربرد براسینو استروئید به شکل پرایمینگ روی بذر سویا تحت تنش شوری مشاهده کردند که عملکرد کلی بذر افزایش پیدا می‌کند. پرایمینگ براسینواستروئید به همراه اضافه کردن نیتروژن، به تنهایی و در ترکیب، باعث تجمع اسمولیت‌ها از جمله پرولین، گلیسین بتائین و قندها می شوند که منجر به مقاومت بهتر از طریق حفظ محتوای آب بافت‌ها می‌شود. محققین مذکور همچنین مشاهده کردند فعالیت آنتی اکسیدانی و تجمع اسمولیت به دلیل تیمار ترکیبی پرایمینگ براسینواستروئید به همراه اضافه کردن نیتروژن در شرایط طبیعی و همچنین تنش شوری به طور قابل توجهی افزایش یافت.

انتخاب بهترین تیمار پرایمینگ

در این بخش بهترین ترکیب تیماری مواد هورمونی مورد مطالعه در این تحقیق جهت افزایش درصد جوانه‌زنی در مواجهه با تنش شوری شامل متیل جاسمونات (غلظت ۱۰۰ میکرومولار به مدت ۲ روز در دمای پرایمینگ ۱۰ درجه سلسیوس) و براسینواستروئید (غلظت ۷۵ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۱ روز در دمای پرایمینگ ۱۵ درجه سلسیوس) با بهترین نتیجه حاصل از مطالعه قبلی توسط نگارندگان در استفاده از اسید سالیسیلیک ۲۵ میلی‌گرم در لیتر (به عنوان محلول پرایمینگ) به مدت ۲ روز در دمای پرایمینگ ۱۰ درجه سلسیوس مورد مقایسه قرار گرفتند و نتیجه حاصل (شکل ۱۱) نشان داد که پرایمینگ بذر با اسید سالیسیلیک بطور معنی داری نسبت به دیگر مواد هورمونی مورد مطالعه از درصد جوانه‌زنی بیشتری (۳۶٪) برخوردار بود. لذا در قسمت بعدی این مطالعه در مورد افزایش طول عمر بذرهای پرایم شده از پرایمینگ بذر با اسید سالیسیلیک استفاده گردید. در تحقیق انجام شده توسط نستری نصرآبادی[3] و همکاران (۲۰۱۸) تیمار بذر با اسید سالیسیلیک باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی و بنیه بذر خربزه (*Cucumis melo*) تحت تنش شوری شد. همچنین در تحقیقات فرهادی[4] و همکاران (۲۰۱۶) پیش‌تیمار بذرهای گیاه داروئی مارتیغال (*Silybum marianum* cv. Budakalaszi) با غلظت ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک در سطوح بالای شوری (۶- و ۸- بار) درصد جوانه‌زنی را نسبت به شرایط تنش بدون پیش تیمار به‌طور معنی‌داری افزایش داد. محصلی و همکاران[5] (۲۰۲۳) در تحقیقات خود دریافتند که خیساندن بذر عدس الملک (*Securidaca Securigera*) درمحلول اسید سالیسیلیک قبل از کاشت سبب افزایش در جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر در شرایط تنش شوری می شود.

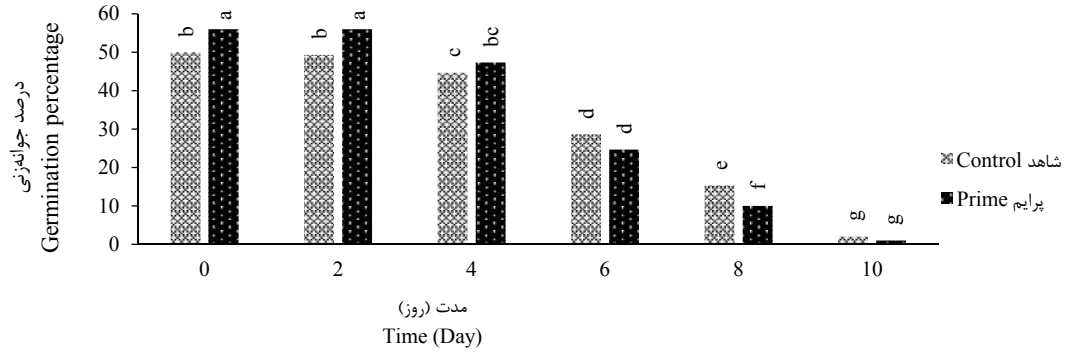
افزایش طول عمر بذرهای پرایم شده

در این قسمت ابتدا نتایج مربوط به وضعیت طول عمر بذرهای پرایم شده در مقایسه با شاهد (بذرهای پرایم نشده) از طریق نتایج آزمون پیری تسریع شده ارائه و سپس نتایج مرتبط با تاثیر تیمارهای شوک حرارتی بعد از پرایمینگ بذر بر طول عمر بذرهای پرایم شده گزارش خواهد شد.

[1] Seeta Ram Rao
[2] Soliman
[3] Nastari Nasrabadi
[4] Farhadi
[5] Mohasseli

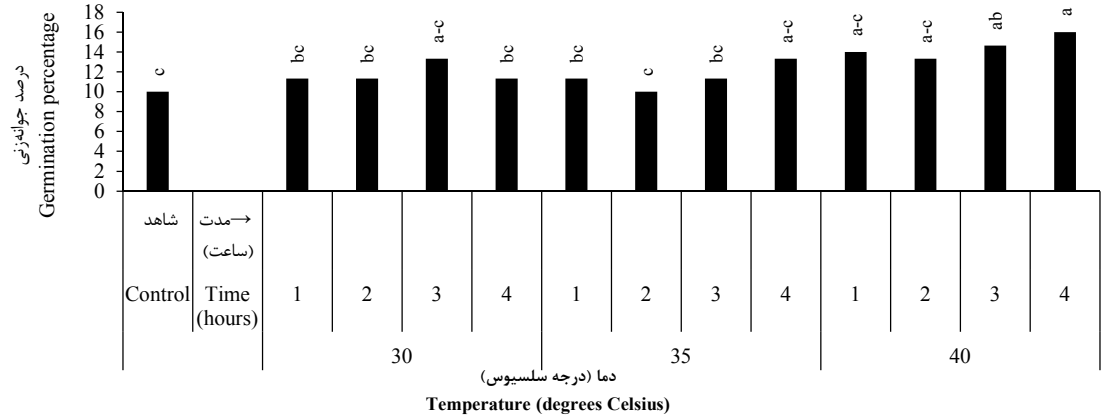
پیری تسریع شده

نتایج آزمون پیری تسریع شده نشان داد که در حالت عدم اعمال پیری (زمان صفر) همچنین ۲ روز پیری، بذرهای پرایم شده جوانه‌زنی بیشتری داشتند (شکل ۱۲). این اتفاق شاید بدلیل مدت کم پیری اعمال شده باشد. با توجه به تاثیر مثبتی که پرایمینگ بذر بر بازسازی اندام های سلولی دارد می‌تواند بنیه بذر را افزایش دهد. بدین دلیل در پیری کوتاه مدت ۲ روز بذرهای پرایم شده بدلیل بازسازی اندام‌های سلولی توانائی جوانه‌زنی بیشتری نسبت به شاهد داشتند (نظر نگارنده). با افزایش دوره پیری بیش از ۲ روز، در صد جوانه‌زنی هر دو توده بذری پرایم شده و شاهد بطور معنی داری کاهش یافت. بعد از ۴ و ۶ روز پیری تسریع شده تفاوت معنی داری بین درصد جوانه‌زنی بذرهای پرایم شده و شاهد (پرایم نشده) وجود نداشت ولی با اعمال ۸ روز پیری، افت جوانه‌زنی بذرهای پرایم شده بطور معنی داری بیشتر از بذرهای شاهد بود. لذا از پیری تسریع شده ۸ روز پیری برای ارزیابی بهتر تیمارهای شوک حرارتی بعد از پرایمینگ (به منظور بهبود طول عمر بذر) در آزمایش بعدی استفاده گردید.



شکل ۱۲. مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی بذر سیاه شور در مواجهه با سطوح مختلف تنش پیری (۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ روز) و شرایط بدون پیری (صفر روز) در بذر شاهد (بدون پرایم) و پرایم شده با تیمار اسید سالیسیلیک ۲۵ میلی‌گرم در لیتر در دمای ده درجه سلسیوس به مدت دو روز

Figure 12. Mean comparisons of seed germination percentage of Forssk under different level of accelerated ageing (2, 4, 6, 8 and 10 days) and non-ageing conditions (0 days) in Control (non-primed) and primed seeds (treated with salicylic acid 25 mg/l at 10° C for 2 days)



شکل ۱۳. مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی بذر سیاه شور در تیمار پس از پرایمینگ شوک حرارتی پیری تسریع شده ۸ روز و پرایم با سالسیسلیک اسید ۲۵ میلی‌گرم در لیتر در دماهای ۳۰،۳۵ و ۴۰ درجه سلسیوس و مدت های ۱،۲،۳ و ۴ ساعت

Figure 13. Mean comparisons of total seed germination percentage of Forssk under heat shock treatment after priming, accelerated aging test for 8 days and prime with salicylic acid 25 mg/l at 30, 35 and 40 degrees Celsius and for periods of 1, 2, 3 and 4 hours

بنسال[1]و همکاران (۲۰۱۹)، در آزمون پیری تسریع شده روی گیاه *Momordica charantia* L مشاهده کردند که افزایش مدت پیری باعث کاهش درصد جوانه‌زنی و شاخص بنیه گیاهچه می‌شود. آنان گزارش نمودند تمام تیمارهای پیری منجر به آسیب غشاء شدند، همانطور که با نشت املاح همراه بودند. علاوه بر تغییرات فیزیولوژیکی، تغییرات بیوشیمیایی ناشی از افزایش مدت پیری شامل کاهش محتوایی کل پروتئین های محلول بود در حالی که کل قندهای محلول و کل اسیدهای آمینه آزاد با تسریع پیری افزایش یافت. طی پیری کاهش در فعالیت آنزیم‌های مرتبط با آنتی اکسیدان، به عنوان مثال، کاتالاز و پراکسیداز وجود دارد. در مطالعه‌ای دیگر روی بذر سویا، پاتیل[2]و همکاران (۲۰۱۸)، مشاهده کردند که با افزایش متعاقب پیری تسریع شده از ۲۴ ساعت به بعد تا ۱۸۰ ساعت، فراسنجه‌های کیفی بذر یعنی درصد جوانه‌زنی بذر، میانگین زمان جوانه‌زنی، شاخص بنیه گیاهچه و فعالیت آنزیم دهیدروژناز به طور معنی داری کاهش یافت.

آزمایش شوک حرارتی

نتایج مرتبط با تاثیر شوک حرارتی بعد از پرایمینگ بر بهبود جوانه‌زنی در روبرو شدن به تنش پیری تسریع شده نشان داد که تنها شوک حرارتی با دمای ۴۰ درجه سلسیوس بعد از پرایمینگ به مدت ۳ یا ۴ ساعت توانست جوانه‌زنی بذر در مواجهه با پیری تسریع شده را به طور معنی داری نسبت به شاهد در این آزمایش (بذرهای پرایم شده بدون اعمال شوک حرارتی) افزایش دهد (شکل ۱۳). تفاوت سایر ترکیب‌های تیماری دما-مدت با شاهد این آزمایش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. نتاتج این آزمایش همچنین نشان داد که احتمال دارد مدت‌های شوک حرارتی طولانی‌تر در دمای ۴۰ درجه سلسیوس و یا دماهای گرمتر از ۴۰ درجه سلسیوس اثر های بهتری بر بهبود جوانه‌زنی بذر در مواجهه با تنش پیری تسریع شده داشته باشند.

نامداری و شریف زاده[3] (۲۰۱۸)، در گیاه ماشک مشاهده کردند اعمال شوک گرمایی در مقایسه با اعمال‌نشدن آن در هر یک از تیمارهای پرایمینگ، حفظ آثار مثبت پرایمینگ را در بهبود جوانه‌زنی در تنش خشکی در بذرهای پیرشده موجب شد. اثر شوک گرمایی در کاهش زوال بذرهای پرایم شده با کاهش پراکسیداسیون لیپیدها، حفظ یکپارچگی غشا و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز همراه بود.

نتیجه گیری

پرایمینگ بذرهای مورد مطالعه با براسینواستروئید و متیل جاسمونات اگرچه تأثیرات مثبت و معنی داری بر خصوصیات جوانه‌زنی داشتند ولی همچنان پرایمینگ با اسید سالیسیلیک ۲۵ میلی‌گرم در لیتر به مدت دو روز در دمای ۱۰ درجه سلسیوس بیشترین تاثیر را در افزایش درصد جوانه‌زنی بذر سیاه شور در مواجهه با تنش شوری ۱۶- بار داشت.

تاثیر پیری تسریع شده بر جوانه‌زنی بذر گیاه مورد مطالعه بستگی به طول دوره پیری داشت. در پیری کوتاه مدت (۲ روز پیری تسریع شده)، نه تنها بذرهای پرایم شده افت جوانه‌زنی نداشتند بلکه نسبت به تیمار شاهد (بدون پرایم) از جوانه‌زنی بیشتری برخوردار بودند. این امر نشان دهنده اثر مثبت پرایمینگ بذر بر تقویت بنیه بذر از طریق بازسازی اندام‌های سلولی موثر در چرخه سلولی و بدنبال آن بهبود جوانه‌زنی در شرایط مواجهه با تنش پیری کوتاه مدت بودند. در مدت پیری تسریع شده طولانی مدت (۸ روز پیری تسریع شده) کاهش معنی‌دار جوانه‌زنی در بذرهای پرایم شده و شاهد (بدون پرایم) را بدنبال داشت. استفاده از تیمار شوک حرارتی بلافاصله پس از پرایمینگ بذر و قبل از مواجهه شدن بذر با پیری تسریع شده باعث کاهش اثرهای تخریبی پیری و بهبود جوانه‌زنی بعد از پیری طولانی مدت شد. به نظر می‌رسد این تیمار شوک حرارتی سامانه آنتی اکسیدانی بذر را تقویت و باعث مقابله بهتر بذرهای پرایم شده و جلوگیری از خسارات ناشی از پیری گردید.

[1] Bansal
[2] Patil
[3] Namdari and Sharifzadeh

منابع

Ansari, O., and Sharif-Zadeh, F. 2012. Osmo and hydro priming improvement germination characteristics and enzyme activity of Mountain Rye (*Secale montanum*) seeds under drought stress. Journal of Stress, Physiology and Biochemistry, 8(4): 253-261.

Asadi, M. 2001. Iran Flora, No. 38. 1st Edition. Institute of researches of Forests and Pastures. Alavi publishing. [In Persian]

Balouchi, H., Soltani Khankahdani, V., Moradi, A., Gholamhoseini, M., Piri, R., Heydari, S. Z. and Dedicova, B. 2023. Seed fatty acid changes germination response to temperature and water potentials in six sesame (*Sesamum indicum* L.) cultivars: Estimating the cardinal temperatures. Agriculture, 13(10): 1-17. https://doi.org/10.3390/agriculture13101936

Bankaji, I., Caçador, I., and Sleimi, N. 2015. Physiological and biochemical responses of *Suaeda fruticosa* to cadmium and copper stresses: growth, nutrient uptake, antioxidant enzymes, phytochelatin, and glutathione levels. Environmental Science and Pollution Research, 22: 13058-13069. https://doi.org/10.1007/s11356-015-4414-x

Bansal, M., Bedi, S., and Kaushal, N. 2019. Physiological, biochemical and molecular changes in relation to different storage conditions and accelerated ageing in bitter gourd (*Momordica charantia* L.) cv. Punjab 14 Seeds. Indian Journal of Agricultural Biochemistry, 32(1): 101-105. https://doi.org/10.5958/0974-4479.2019.00013.3

Bareen, F., and Tahira, S.A. 2011. Metal accumulation potential of wild plants in tannery effluent contaminated soil of Kasur, Pakistan: field trials for toxic metal cleanup using *Suaeda fruticosa*. Journal of Hazardous Materials, 186(1): 443-450. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.11.022

Bennani-Kabchi, N., El Bouayadi, F., Kehel, L., Fdhil, H., and Marquie, G. 1998. Effect of *Suaeda fruticosa* aqueous extract in the hypercholesterolaemic and insulin-resistant sand rat. Therapie, 54(6): 725-730.

Bradford, C. Bearce., Kohl J.R., and Harry, C. 1970. Measuring osmotic pressure of sap within live cells by means of a visual melting point apparatus. Plant Physiology, 46(4): 515-519. https://doi.org/10.1104/pp.46.4.515

Butler, L., Hay, F., Ellis, R., Smith, R., and Murray, T. 2009. Priming and re-drying improve the survival of mature seeds of *Digitalis purpurea* during storage. Annals of Botany, 103(8): 1261-1270. https://doi.org/10.1093/aob/mcp059

Chiu, K., Chen, C., and Sung, J. 2002. Effect of priming temperature on storability of primed sh-2 sweet corn seed. Crop Science, 42: 1996-2003. https://doi.org/10.2135/cropsci2002.1996

Ellis, R.H. and Roberts, E.H. 1980. Improved equations for the prediction of seed longevity. Annals of Botany, 45(1): 13-30. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a085797

Eskandari, M., Saadati, S., Akhbarfar, G., and Ghobadi, C. 2019. Effect of methyl jasmonate on some biochemical and physiological parameters of *Coriandrum sativum* L. under salinity stress. Plant Process and Function, 8(30): 243-256. [In Persian]

Farhadi, N., Estaji, A. and Alizadeh-Salteh, S. 2016. The effect of pretreatment of salicylic acid on seed germination of milk thistle (*Silybum marianum* cv. Budakalaszi) under salinity and drought stress. Iranian Journal of Seed Research, 3(1): 75-84. [In Persian] http://dx.doi.org/10.29252/yujs.3.1.75

Fazeli-Nasab, B., Khajeh, H., Piri, R. and Moradian, Z. 2023. Effect of humic acid on germination characteristics of *Lallemantia royleana* and *Cyamopsis tetragonoloba* under salinity stress. Iranian Journal of Seed Research, 9(2): 51-62. [In Persian]. https://doi.org/10.61186/yujs.9.2.51

Ghanbari, M., Mokhtassi-Bidgoli, A., Mansoor Ghanaei-Pashaki, K. and Karamniya, S. 2020. Germination characteristics and enzyme activity of mung bean (*Vigna radiata*) in response to methyl jasmonate and salinity treatments. Iranian Journal of Seed Research, 7(1): 83-97. [In Persian] https://doi.org/10.29252/yujs.7.1.83

Gulzar, S., and Khan, M.A. 1998. Diurnal water relations of inland and coastal halophytic populations from Pakistan. Journal of Arid Environments, 40(3): 295-305. https://doi.org/10.1006/jare.1998.0447

Hacisalihoglu, G., Paine, D., Hilderbrand, M., Khan, A., and Taylor, A. 1999. Embryo elongation and germination rates as sensitive indicators of lettuce seed quality: Priming and aging studies. HortScience, 34(7): 1240-1243. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.34.7.1240

Hill, H., Cunningham, J.D., Bradford, K.J., and Taylor, A. 2007. Primed lettuce seeds exhibit increased sensitivity to moisture content during controlled deterioration. HortScience. 42(6): 1436-1439. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.42.6.1436

Hincha, D.K., Sieg, F., Bakaltcheva, I., Köth, H., and Schmitt, J.M. 1996. Freeze-thaw damage to thylakoid membranes: specific protection by sugars and proteins. In Advances in Low-Temperature Biology Volume 3. Edited by: Steponkus PL. London: JAI Press: 141-183. https://doi.org/10.1016/S1873-9792(96)80006-9

Hubbard, M., Germida, J., and Vujanovic, V. 2012. Fungal endophytes improve wheat seed germination under heat and drought stress. Botany, 90(2): 137-149. https://doi.org/10.1139/b11-091

Hussain, S., Zheng, M., Khan, F., Khaliq, A., Fahad, S., Peng, S., Huang, J., Cui, K., and Nie, L. 2015. Benefits of rice seed priming are offset permanently by prolonged storage and the storage conditions. Scientific Reports, 5: 8101. https://doi.org/10.1038/srep08101

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

Ikić, Ivica, Maričević, M., Tomasović, S. Gunjača, J. Šatović, Z. and Šarčević, H. 2012. The effect of germination temperature on seed dormancy in Croatian-grown winter wheats. Euphytica, 188: 25-34. https://doi.org/10.1007/s10681-012-0735-8

Johnson, R. and Puthur, J.T. 2021. Seed priming as a cost effective technique for developing plants with cross tolerance to salinity stress. Plant Physiology and Biochemistry, 162: 247-257. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.02.034

Kalsa, K.K. and Abebie, B. 2012. Influence of seed priming on seed germination and vigor traits of *Vicia villosa* ssp. dasycarpa (Ten.). African Journal of Agricultural Research, 7(21): 3202-3208. https://doi.org/10.5897/AJAR11.1489

Khan, M.A., Ungar, I.A., and Showalter, A.M. 2000. The effect of salinity on the growth, water status, and ion content of a leaf succulent perennial halophyte, *Suaeda fruticosa* (L.) Forssk. Journal of Arid Environments, 45(1): 73-84. https://doi.org/10.1006/jare.1999.0617

Kohler, J., Antonio Hernández, J., Caravaca, F., and Roldán. A. 2009. Induction of antioxidant enzymes is involved in the greater effectiveness of a PGPR versus AM fungi with respect to increasing the tolerance of lettuce to severe salt stress. Environmental and Experimental Botany, 65(2-3): 245-252. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2008.09.008

Moameni, A. 2011. Geographical distribution and salinity levels of soil resources of Iran. Iranian Journal of Soil Research, 24(3): 203-215. [In Persian]

Mohamadian, E., KianMehr, H., Ataei Somagh, H., Azadnafas Mahjor, N., Safari, F. and Safarzadeh, A. 2018. Effect of methyl jasmonate pre-treatment on germination indices and biochemical traits of stevia seedlings (*Stevia rebuadiana*) under salt stress. Iranian Journal of Seed Research, 5(1): 101-117. [In Persian]. https://doi.org/10.29252/yujs.5.1.101

Mohasseli, V., Izadi, M. and Hadi Roohian M. 2023. Effect of salicylic acid on germination and early growth of *Securigera securidaca* seedling under salinity stress. Iranian Journal of Seed Research, 9(2): 163-175. [In Persian] https://doi.org/10.61186/yujs.9.2.163

Moradi, A., Hoseini-moghadam, M. and Piri, R. 2018. Effect of seed inoculation with plant growth promoting rhizobactria (PGPR) on some germination, biochemical indices and element contents of fennel (*Foeniculum vulgare* L.) under salinity stress. Iranian Journal of Field Crop Science, 49(3): 151-165. [In Persian]. https://doi.org/10.22059/ijfcs.2018.247787.654420

Namdari, A., and Sharifzade, F. 2018. The restoring influence of priming treatments on germination of Smooth vetch (*Vicia dasycarpa*) under drought stress and maintaining this

advantage following aging by using post priming heat shock treatment. Journal of Plant Biological Sciences, 10(3): 41-54. [In Persian]

Nastari Nasrabadi, H., Moradi M. and Modoodi, M.N. 2018. Effect of growth promoting bacteria and salicylic acid on melon (*Cucumis melo*) seed germination and seedling growth under salt stress. Iranian Journal of Seed Research, 5(2):139-149. [In Persian]. https://doi.org/10.29252/yujs.5.2.139

Oueslati, S., Ksouri, R., Falleh, H., Pichette, A., Abdelly, C., and Legault, J. 2012. Phenolic content, antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of the edible halophyte *Suaeda fruticosa* Forssk. Food Chemistry, 132(2): 943-947. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.072

Patil, S., Doddagoudar, S.R., Kurnalliker, V.K., Mathad, C., and Patil, R.P. 2018. Prediction of storability in soybean seeds through accelerated ageing technique [*Glycine max* (L.) Merill]. Legume Research, 41(4): 572-577.

Paul, D. 2013. Osmotic stress adaptations in rhizobacteria. Journal of Basic Microbiology, 53(2): 101-110. https://doi.org/10.1002/jobm.201100288

Porcel, R., Aroca, R., and Ruiz-Lozano, J.M. 2012. Salinity stress alleviation using arbuscular mycorrhizal fungi. A review. Agronomy for Sustainable Development, 32: 181-200. https://doi.org/10.1007/s13593-011-0029-x

Qadir, M., Steffens, D., Yan, F., and Schubert, S. 2003. Sodium removal from a calcareous saline-sodic soil through leaching and plant uptake during phytoremediation. Land Degradation and Development, 14(3): 301-307. https://doi.org/10.1002/ldr.558

Rouhi, H.R., Aboutalebian, M.A., and Sharif-Zadeh, F. 2011. Effects of hydro and osmopriming on drought stress tolerance during germination in four grass species. International Journal of AgriScience, 1(2): 107-114.

Schwember, A.R., and Bradford, K.J. 2010. Quantitative trait loci associated with longevity of lettuce seeds under conventional and controlled deterioration storage conditions. Journal of Experimental Botany, 61: 4423-4436. https://doi.org/10.1093/jxb/erq248

Seeta Ram Rao, S., Vidya Vardhini, B., Sujatha, E. and Anuradha, S. 2002. Brassinosteroids - a new class of phytohormones. Current Science, 82(10): 1239-1245.

Shanker, A.K. and Venkateswarlu, B. 2011. Abiotic Stress in Plants- Mechanisms & Adaptations. In Tech Croatia .428 p. https://doi.org/10.5772/895

Shiati, K. 1998. Brackish water as a source of irrigation: behaviour and management of salt affected reservoirs (Iran). In Proceedings of the International Workshop at the 10th ICID Afro-Asian Regional Conference on Irrigation and Drainage. 19-26 July 1998. eds. Ragab, R.; Pearce, G. Bali, Indonesia, pp. 72-82.

Shrivastava, P., and Kumar, R. 2015. Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. Saudi Journal of Biological Sciences, 22(2): 123-131. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.12.001

Soliman, M., Elkelish, A., Souad, T., Alhaithloul, H., and Farooq, M. 2020. Brassinosteroid seed priming with nitrogen supplementation improves salt tolerance in soybean. Physiology and Molecular Biology of Plants, 26(3): 501-511. https://doi.org/10.1007/s12298-020-00765-7

Towhidi, A., Saberifar, T., and Dirandeh, E. 2011. Nutritive value of some herbage for dromedary camels in the central arid zone of Iran. Tropical Animal Health and Production, 43(3): 617-622. https://doi.org/10.1007/s11250-010-9741-9

Weber, D.J., Ansari, R., Gul, B., and Ajmal Khan, M. 2007. Potential of halophytes as source of edible oil. Journal of Arid Environments, 68(2): 315-321. https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2006.05.010

Yadav, P.V., Kumari, M. and Ahmed, Z. 2011. Seed priming mediated germination improvement and tolerance to subsequent exposure to cold and salt stress in capsicum. Research Journal of Seed Science, 4: 125-136. https://doi.org/10.3923/rjss.2011.125.136