

Pre-treatment with Growth Stimulants: A Strategy for Mitigating the Deleterious Effects of Salinity Stress in Rapeseed (*Brassica napus*)

Mohammad Ahmadi¹✉, Tohid Ali-abbasi², and Salim Farzaneh²

1. Corresponding author, Department of Plant Production and Genetics, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. Email: ahmadi.agro@uma.ac.ir
2. Department of Plant Production and Genetics, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. Email: tohidaliabbasi@uma.ac.ir; s.farzaneh@uma.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:

Received 31 July 2025
Received in revised form 7 September 2025
Accepted 8 September 2025
Available online 22 September 2025

Keywords:

Amino Acid
Antioxidant System
Humic Acid
Hydropriming
Salinity stress
Seaweed extract

ABSTRACT

Objective: The particular susceptibility of rapeseed during the sensitive stages of germination and seedling establishment doubly underscores the urgent need to develop efficient and cost-effective management strategies to counteract salinity stress. In this regard, seed pre-treatment technology has gained attention as a promising and novel strategy to enhance plant resilience against environmental stresses from the very first stages of growth.

Method: This research was designed and conducted to comprehensively evaluate and compare the effects of applying various natural growth stimulants—including amino acids (at three concentrations: 2, 4, and 6 g kg⁻¹ of seed), humic acid (at three concentrations: 3, 6, and 9 g kg⁻¹ of seed), and seaweed extract (at three concentrations: 3, 6, and 9 g kg⁻¹ of seed) both individually and in combination with the hydropriming method on the improvement of germination indices, growth, and biochemical responses of rapeseed (cv. Hyola 50) under different levels of salinity stress (0, -2, -4, -6, and -8 bar).

Results: Salinity stress had a significant inhibitory effect ($p < 0.01$) on most measured traits. With increasing stress levels up to -8 bar, root dry weight decreased by 65.3%, emergence percentage decreased by 32%, and germination rate decreased by 63.3% compared to the control treatment (no stress). In contrast, the activity of catalase enzyme, an indicator of oxidative stress, increased by 114%, demonstrating the plant's defensive response to unfavorable conditions. In this study, the combined treatment of hydropriming with humic acid (6 g kg⁻¹ of seed) was identified as the most effective method, with a 153% difference in leaf dry weight compared to the worst treatment. This treatment comprehensively demonstrated a protective role against salinity stress by increasing root dry weight by 13.8%, catalase enzyme activity by 10.5%, and germination rate by 14%, while maintaining the chlorophyll index.

Conclusions: It can be concluded that pre-treating rapeseed seeds with natural growth stimulants, particularly as combined hydropriming treatments with amino acids (4 g kg⁻¹ seed) and humic acid (6 g kg⁻¹ seed), is a low-cost, user-friendly breeding strategy and represents a practical and implementable approach for farmers.

Cite this article: Ahmadi, M., Ali-abbasi, T., & Farzaneh, S. (2025). Pre-treatment with growth stimulants: a strategy for mitigating the deleterious effects of salinity stress in rapeseed (*Brassica napus*). *Iranian Journal of Seed Research*, 12(1), 187-205. <http://doi.org/10.61882/yujs.12.1.187>



© The Author(s).

DOI: <http://doi.org/10.61882/yujs.12.1.187>

Publisher: Yasouj University.

Highlights

- A comprehensive investigation of the effects of three types of natural growth stimulants (amino acid, humic acid, and seaweed extract) individually and combined with hydropriming to achieve a synergistic effect.
- Providing strong quantitative evidence of the mechanism of action through simultaneous measurement of growth and biochemical indices and demonstrating the critical principle of dose-response.
- Emphasizing the practical and cost-effective nature of the method for farmers, aiming to convert saline lands into productive areas as a sustainable solution.

Introduction

Salinity stress, as one of the most lethal and widespread abiotic stresses, is a major obstacle to the sustainable production of agricultural crops worldwide, including rapeseed (*Brassica napus* L.), a crucial source of vegetable oil. This phenomenon disrupts a wide range of physiological, biochemical, and morphological processes in plants by inducing osmotic stress, ionic toxicity, and impaired nutrient uptake, ultimately leading to a severe reduction in both yield quantity and quality (Ashraf and McNeilly, 2004). The particular susceptibility of rapeseed during the critical stages of germination and seedling establishment underscores the urgent need to develop efficient and cost-effective management strategies to counter salinity stress. In this context, seed pre-treatment technology has emerged as a promising and novel strategy to enhance plant resilience against environmental stresses from the very earliest stages of growth (Paparella et al., 2015).

Method

This research was designed and conducted to comprehensively evaluate and compare the effects of applying various natural growth stimulants-including amino acids (at three concentrations: 2, 4, and 6 g kg⁻¹ seed), humic acid (at three concentrations: 3, 6, and 9 g kg⁻¹ seed), and seaweed extract (at three concentrations: 3, 6, and 9 g kg⁻¹ seed)-both individually and in combination with the hydropriming method. These treatments were assessed for their ability to improve germination indices, growth, and biochemical responses of the Hyola cultivar rapeseed seeds under different levels of salinity stress (0, -2, -4, -6, and -8 bar). The study was conducted as a factorial experiment using a completely randomized design (CRD) with three replications. It was carried out in both controlled laboratory and greenhouse environments at the Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, in 2020. Certified seeds were subjected to various coating treatments after sterilization.

Results

Salinity stress had a highly significant inhibitory effect (at the 1% probability level) on all measured traits. Increasing the salinity level to -8 bar resulted in a 65.3% decrease in root dry

weight, a 32% decrease in emergence percentage, and a 63.3% decrease in germination rate compared to the control treatment (no stress). In contrast, the activity of the catalase enzyme, an indicator of oxidative stress, increased by 114%, signifying the plant's defensive response to unfavorable conditions. The application of seed pre-treatments, particularly combined treatments, markedly counteracted the deleterious effects of salinity. The combined treatment of hydropriming + humic acid (6 g kg^{-1}) was identified as the most effective, showing a 153% increase in leaf dry weight compared to the worst treatment (low-concentration seaweed extract under severe stress). This treatment also led to improved germination rate, increased root dry weight (up to 15.4% compared to the control), and preserved chlorophyll content. Humic acid (3 g kg^{-1}) and seaweed extract (9 g kg^{-1}) treatments applied alone also showed significant positive effects. The mechanism behind this improvement can be attributed to the multifaceted roles of these stimulants. Amino acids act as precursors for the synthesis of heat shock proteins and compatible osmolytes (such as proline), maintaining osmotic balance. Humic acid enhances soil structure, increases membrane permeability, and facilitates nutrient uptake, particularly phosphorus and micronutrients, thereby promoting plant growth. Seaweed extract, containing a wide range of natural growth regulators (e.g., cytokinins, auxins, betaines), vitamins, and oligosaccharides, induces the expression of stress tolerance-related genes and boosts antioxidant system activity. A key and significant finding of this research was the emphasis on the principle of dose-response. Some treatments at low concentrations (e.g., Seaweed 3 g kg^{-1}) not only lacked a positive effect but actually reduced plant performance compared to the control. This reveals the necessity for precisely determining the optimal concentration for each stimulant and specific genotype. Furthermore, the results indicated that the effectiveness of this method decreases with increasing stress intensity, which aligns with the "threshold tolerance" theory. This shows that seed pre-treatment is not a panacea for severe and intolerable conditions but rather can significantly widen the plant's window of tolerance.

Conclusions

Pre-treatment of rapeseed with natural growth stimulants, especially in combined hydropriming treatments with amino acids (4 g kg^{-1} seed) and humic acids (6 g kg^{-1} seed), is a low-cost and user-friendly breeding strategy that represents a practical and applicable approach for farmers. This technology, by systematically preparing the plant and activating its defense mechanisms before stress exposure, significantly increases its resilience and enables the use of saline and marginal lands to produce valuable crops, such as rapeseed. This research confirms the high potential of this method as part of sustainable agriculture solutions in the face of climate change and increasing environmental stresses.

Author Contributions

Methodology, T.A.; software, S.F.; validation, M.A., T.A. and S.F.; formal analysis, M.A.; investigation, T.A.; resources, M.A.; data curation, T.A.; visualization, M.A.; supervision, S.F.; project administration, M.A.; funding acquisition, T.A.; All authors contributed

equally to the conceptualization of the article and writing of the original and subsequent drafts.

Data Availability Statement

Data available on request from the authors.

Acknowledgements

We would like to express our gratitude to all those who have helped us throughout this project, especially our esteemed colleagues at the Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili. We would also like to thank Ms. Zeynab Kamrani for her hard work in writing this article.

Ethical Considerations

The authors avoided data fabrication, falsification, and plagiarism, and any form of misconduct.

Funding

Financial support for this research was provided by the University of Mohaghegh Ardabili, Faculty of Agriculture and Natural Resources, in the form of student thesis researchers.

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

پیش‌تیمار با محرک‌های رشدی: راهبردی برای کاهش پیامدهای مخرب تنش شوری در کلزا (*Brassica napus*)

محمد احمدی^۱✉، توحید علی عباسی^۲، و سلیم فرزانه^۲

۱. نویسنده مسئول، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. رایانامه: ahmadi.agro@uma.ac.ir

۲. گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. رایانامه: tohidaliabbasi@uma.ac.ir; s.farzaneh@uma.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
<p>نوع مقاله: مقاله پژوهشی</p> <p>تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۰۹</p> <p>تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۶/۱۶</p> <p>تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۱۷</p> <p>تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۶/۲۹</p>	<p>هدف: حساسیت ویژه کلزا در مراحل حساس جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه، لزوم توسعه راهکارهای مدیریتی کارآمد و مقرون‌به‌صرفه را برای مقابله با تنش شوری دوچندان می‌کند. در این راستا، فناوری پیش‌تیمار بذر به عنوان یک راهبرد امیدبخش و نوین برای افزایش تاب‌آوری گیاه در برابر تنش‌های محیطی از همان اولین مراحل رشد، مورد توجه قرار گرفته است.</p> <p>روش پژوهش: این پژوهش با هدف ارزیابی جامع و مقایسه‌ای اثرات کاربرد انواع محرک‌های رشد طبیعی، شامل اسیدهای آمینه (در سه غلظت ۲، ۴ و ۶ گرم بر کیلوگرم بذر)، اسید هیومیک (در سه غلظت ۳، ۶ و ۹ گرم بر کیلوگرم بذر) و عصاره جلبک دریایی (در سه غلظت ۳، ۶ و ۹ گرم بر کیلوگرم بذر)، هم به صورت مجزا و هم در ترکیب با روش هیدروپرایمینگ، بر بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی، رشد و پاسخ‌های بیوشیمیایی بذر کلزا رقم هایولا ۵۰ تحت سطوح مختلف تنش شوری (۰، ۲، ۴، ۶، ۸- بار) طراحی و اجرا شد.</p> <p>یافته‌ها: تنش شوری اثر بازدارنده معنی‌داری (در سطح احتمال ۱ درصد) روی اکثر صفات اندازه‌گیری شده داشت. به طوری که با افزایش سطح شوری تا ۸- بار، وزن خشک ریشه به میزان ۶۵/۳ درصد، درصد سبز شدن تا ۳۲ درصد و سرعت جوانه‌زنی تا ۶۳/۳ درصد در مقایسه با تیمار شاهد (بدون تنش) کاهش یافت. در مقابل، فعالیت آنزیم کاتالاز به عنوان شاخصی از تنش اکسیداتیو، افزایش ۱۱۴ درصدی را نشان داد که بیانگر واکنش دفاعی گیاه در برابر شرایط نامساعد بود. در این پژوهش، تیمار ترکیبی هیدروپرایمینگ همراه با اسید هیومیک (۶ گرم بر کیلوگرم بذر) به عنوان مؤثرترین روش شناخته شد که در آن اختلاف ۱۵۳ درصدی در وزن خشک برگ با بدترین تیمار مشاهده شد. این تیمار با افزایش ۱۳/۸ درصدی وزن خشک ریشه، ۱۰/۵ درصدی فعالیت آنزیم کاتالاز و ۱۴ درصدی سرعت جوانه‌زنی، ضمن حفظ شاخص کلروفیل، به طور جامعی نقش محافظتی را در برابر تنش شوری از خود نشان داد.</p> <p>نتیجه‌گیری: می‌توان اذعان داشت که پیش‌تیمار بذر کلزا با محرک‌های رشد طبیعی، به ویژه در قالب تیمارهای ترکیبی هیدروپرایمینگ همراه با اسید آمینه (۴ گرم بر کیلوگرم بذر) و اسید هیومیک (۶ گرم بر کیلوگرم بذر)، یک راهبرد اصلاحی کم‌هزینه و کاربرپسند محسوب می‌شود و یک راهبرد عملی و قابل اجرا برای کشاورزان است.</p> <p>جنبه‌های نوآوری:</p> <ul style="list-style-type: none"> • اثرات سه نوع محرک رشد طبیعی (اسید آمینه، اسید هیومیک و عصاره جلبک دریایی) به صورت جداگانه و ترکیبی با هیدروپرایمینگ به منظور ایجاد اثرات هم‌افزایی انجام شد. • ارائه شواهد کمی قوی درباره سازوکار عمل از طریق اندازه‌گیری همزمان شاخص‌های رشدی و نشان دادن اصل اساسی اثرات میزان-پاسخ. • تأکید بر عملی و اقتصادی بودن این روش برای کشاورزان، به منظور تبدیل زمین‌های شور به مناطق تولیدی به عنوان یک راه حل پایدار.

استناد: احمدی، محمد؛ علی‌عباسی، توحید و فرزانه، سلیم (۱۴۰۴). پیش‌تیمار با محرک‌های رشدی: راهبردی برای کاهش پیامدهای مخرب تنش شوری در کلزا

(*Brassica napus*). پژوهش‌های بذر ایران، ۱۲(۱)، ۱۸۷-۲۰۵. <http://doi.org/10.61882/yujs.12.1.187>



مقدمه

به تنش و تقویت سامانه پاداکساینده، گیاهچه‌ها را در برابر پیامدهای مخرب شوری واکسینه می‌کند (شوکل^۵ و همکاران، ۲۰۱۹). بنابراین، پژوهش حاضر به بررسی اثرات هم‌افزایی یا انفرادی این تیمارها بر شاخص‌های جوانه‌زنی، رشد گیاهچه و پاسخ‌های بیوشیمیایی بذر کلزا تحت شرایط تنش شوری می‌پردازد، با توجه به افزایش روزافزون شوری خاک‌های زراعی در اثر آبیاری با آب‌های نامتعارف، خشکسالی و مدیریت نادرست کشاورزی، یافتن راهکارهای عملی و مقرون‌به‌صرفه برای کشت موفق در این اراضی یک ضرورت انکارناپذیر است. استفاده از ارقام متحمل گران قیمت و یا شیرین‌سازی خاک اغلب برای بسیاری از کشاورزان اقتصادی نیست. از این‌رو، به‌کارگیری روش ساده پیش‌تیمار بذر با محرک‌های طبیعی و ارزان، می‌تواند گامی بزرگ برای دستیابی به کشاورزی پایدار و افزایش امنیت غذایی باشد. پیش‌تیمار بذر نیاز به مصرف مقادیر زیاد کود و آب را در مراحل حساس رشد کاهش می‌دهد، چرا که گیاهان تیمار شده با کارایی بالاتری از منابع استفاده می‌کنند. با استفاده از این روش، می‌توان اراضی شور را که پیش از این غیرقابل کشت یا با بازده بسیار پایین بودند، با صرف هزینه کم به زیر کشت محصولی با ارزش مانند کلزا برد و درآمدزایی کرد. اسید هیومیک (فرآورده جانبی زغال‌سنگ) و عصاره جلبک دریایی از منابع طبیعی و تجدیدپذیر به دست می‌آیند و اسیدآمینه پرولین نیز به صورت صنعتی تولید می‌شود. هزینه این تیمارها در مقایسه با خرید بذر تراریخته یا اجرای پروژه‌های سنگین اصلاح خاک ناچیز است. همچنین فناوری پیش‌تیمار بذر بسیار ساده است و می‌توان آن را حتی در سطح مزرعه و با کمترین امکانات انجام داد. این موضوعات پذیرش آن توسط کشاورزان خرده‌پا را بسیار افزایش می‌دهد. هدف اصلی این پژوهش، ارزیابی مقایسه‌ای اثر پیش‌تیمار بذرهای کلزا با اسیدآمینه، اسید هیومیک و عصاره جلبک دریایی و همچنین روش هیدروپرایمینگ روی بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی، سبز شدن، ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک، تغییرات فعالیت آنزیم پاداکساینده (کاتالاز) و محتوی کلروفیل گیاه کلزا تحت سطوح مختلف تنش شوری است.

تنش شوری به عنوان یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی، طیف وسیعی از فرآیندهای فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و مورفولوژیک گیاهان را مختل می‌کند و خسارات قابل توجهی به عملکرد و کیفیت محصولات زراعی از جمله کلزا (*Brassica napus* L.) وارد می‌کند. کلزا که به دلیل دارا بودن بیش از ۴۰ درصد روغن در دانه، یکی از مهم‌ترین گیاهان روغنی جهان محسوب می‌شود، در مراحل جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه که حساس‌ترین دوره زندگی گیاه است، به شدت تحت تأثیر غلظت‌های بالای نمک قرار می‌گیرد. شوری از طریق ایجاد تنش اسمزی، سمیت یونی (بطور عمده یون‌های سدیم و کلر) و اختلال در جذب عناصر غذایی، سبب کاهش درصد سرعت جوانه‌زنی، توقف رشد، و کاهش نهایی عملکرد می‌شود (اشرف و مک‌نیللی^۱، ۲۰۰۴). در مواجهه با این چالش، فناوری پیش‌تیمار بذر به عنوان یک راهبرد امیدبخش و کم‌هزینه برای افزایش تحمل به تنش در مراحل اولیه رشد شناخته شده است. در این میان، هیدروپرایمینگ یا خیساندن بذر در آب به عنوان یک روش ساده فیزیکی، با فعال‌سازی اولیه فرآیندهای متابولیک پیش از جوانه‌زنی، بذر را برای رویارویی با تنش آماده می‌کند (پاپارالا^۲ و همکاران، ۲۰۱۵). اما نسخه تکامل‌یافته و بسیار کارآمدتر این روش، استفاده از محلول‌های حاوی مواد زیست فعال است. پیش‌تیمار بذر با اسیدهای آمینه (مانند پرولین) می‌تواند به عنوان پیش‌ساز سنتز پروتئین‌های شوک حرارتی، تنظیم‌کننده اسمزی قوی و نابودگر رادیکال‌های آزاد عمل کند (حیات^۳ و همکاران، ۲۰۱۲). اسید هیومیک نیز با بهبود نفوذپذیری غشا، افزایش جذب عناصر غذایی (به ویژه نیتروژن، فسفر و پتاسیم)، و تحریک فعالیت آنزیم‌های پاداکساینده، مقاومت سیستمی گیاه را ارتقا می‌بخشد (کانلاس و اولیوراس^۴، ۲۰۱۴). همچنین، جلبک دریایی که سرشار از سایتوکینین‌ها، اکسین‌ها، بتائین‌ها، مانیتول و الیگوساکاریدهاست، با القای بیان ژن‌های مرتبط با تحمل

¹ Ashraf and McNeilly² Paparella³ Hayat⁴ Canellas and Olivares⁵ Shukla

مواد و روش‌ها

این آزمایش برای بررسی اثر آماده سازی و هیدروپرایمینگ بذر روی صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاه کلزا در شرایط تنش شوری در دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۹ اجرا شد. بذره‌های گواهی شده کلزا رقم هایولا ۵۰ که برداشت سال ۱۳۹۸ بود از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی مغان تهیه شد.

طرح آزمایشی

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل شوری در ۵ سطح (۰، ۲، ۴، ۶، ۸- بار) و آماده سازی بذر (پوشش دهی و پرایمینگ) در ۱۴ سطح (اسیدآمینه (سه غلظت)، جلبک دریایی (سه غلظت)، اسید هیومیک (سه غلظت)، اسیدآمینه (سطح دوم) + هیدروپرایمینگ، جلبک دریایی (سطح دوم) + هیدروپرایمینگ، اسید هیومیک (سطح دوم) + هیدروپرایمینگ، هیدروپرایمینگ و شاهد (بدون پوشش و پرایمینگ)) بود. پژوهش حاضر در ۲ شرایط آزمایشگاه (۳ تکرار ۲۵ بذری در پتری به قطر ۱۵ سانتی‌متر) و گلخانه (۵ تکرار ۶ بذری در گلدان بزرگ با حجم ۱۵ لیتر) به صورت مجزا انجام گردید.

آماده‌سازی بذر

قبل از انجام پرایمینگ بذر کلزا بذره‌های سالم و یکنواخت انتخاب شده و با اتانول ۷۰٪ به مدت ۱-۲ دقیقه و سپس هیپوکلریت سدیم ۱-۲٪ به مدت ۳-۵ دقیقه ضدعفونی شدند. پس از شستشوی کامل با آب مقطر سترون، بذرها روی کاغذ صافی سترون در دمای محیط (۲۵°C) خشک گردید. همچنین رطوبت اولیه بذرها با استفاده از رطوبت سنج تعیین شد تا پارامترهای پرایمینگ (مانند غلظت مواد) به درستی تنظیم شوند.

پرایمینگ بذر و هیدروپرایمینگ

کود اسیدآمینه (دارای فرمولاسیون متعادلی از اسیدهای آمینه ضروری)، جلبک دریایی و اسید هیومیک از موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال کرج تهیه

شد. برای تیمار پوشش‌دار کردن بذر، از ماده کربوکسی‌متیل سلولز (۳ درصد) استفاده گردید (هالمر^۱، ۲۰۰۵). پوشش بذر با استفاده از یک دستگاه دست‌ساز انجام گرفت که برای ایجاد یک لایه نازک پوشش مناسب بود. در این دستگاه پوشش مناسب بذر با حرکات دورانی دستگاه انجام گرفت. با پوشش بذر تغییر محسوسی در شکل بذر ایجاد نشده بود ولی وزن بذر کمتر از ۱۰ درصد افزایش یافت. برای تیمار هیدروپرایمینگ، بذرها به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر خیس شده و سپس کشت شدند (بولی^۲ و همکاران، ۲۰۱۹). در جدول ۱ مشخصات پیش‌تیمارها آمده است.

بررسی آزمایشگاهی تیمارها

بذرها روی کاغذ صافی سترون به ضخامت ۰/۵ میلی‌متر کشت گردید. تیمارهای اعمال شده شامل سطوح مختلف شوری بودند که به دقت کنترل شدند. در این آزمایش، برای تهیه محلول‌های شوری، ابتدا محلول‌هایی با غلظت‌های مشخص (۰، ۲، ۴، ۶، ۸- بار) با حل کردن نمک NaCl در آب مقطر تهیه شد. پتانسیل اسمزی (بار) با استفاده از دستگاه اسمومتر محاسبه و تنظیم گردید. نمونه‌ها در ژرمیناتور با دمای ثابت 25 ± 1 درجه سلسیوس قرار داده شدند تا شرایط محیطی یکسانی برای تمام تیمارها فراهم شود. فرآیند جوانه‌زنی با دقت بالایی مورد پایش قرار گرفت. شمارش بذره‌های جوانه‌زده سه بار در روز انجام شد و بذرهایی که ریشه‌چه آن‌ها به طول ۲ میلی‌متر یا بیشتر رسیده بود، به‌عنوان جوانه‌زده در نظر گرفته شدند. شمارش تا زمانی ادامه یافت که برای سه روز متوالی هیچ افزایشی در تعداد بذره‌های جوانه‌زده مشاهده نشود. برای تحلیل دقیق داده‌ها از نرم‌افزار تخصصی Germin استفاده شد (سلطانی و مداح^۳، ۲۰۲۴). این نرم‌افزار پارامترهای مهم جوانه‌زنی شامل زمان D10 (مدت زمان لازم برای رسیدن به ۱۰٪ جوانه‌زنی) و D50 را از طریق درون‌یابی منحنی تجمعی جوانه‌زنی محاسبه کرد.

¹ Halmer

² Bewley

³ Soltani and Maddah

جدول ۱- فهرست تیمارهای آماده سازی (پوشش‌دار کردن و پرایمینگ) بذر با محرک‌های مختلف رشد.

Table 1- List of pre-treatment (seed coating and priming) with various biostimulants.

ردیف Row	تیمارها Treatments	توضیح Explanation
1	اسیدآمیننه (۱) Amino acid (1)	۲ گرم اسیدآمیننه در هر کیلوگرم بذر ذرت 2 g of amino acid per kg of corn seeds
2	اسیدآمیننه (۲) Amino acid (2)	۴ گرم اسیدآمیننه در هر کیلوگرم بذر ذرت 4 g of amino acid per kg of corn seeds
3	اسیدآمیننه (۳) Amino acid (3)	۶ گرم اسیدآمیننه در هر کیلوگرم بذر ذرت 6 g of amino acid per kg of corn seeds
4	عصاره جلبک دریایی (۱) Seaweed extract (1)	۳ گرم عصاره جلبک دریایی در هر کیلوگرم بذر ذرت 3 g of seaweed extract per kg of corn seeds
5	عصاره جلبک دریایی (۲) Seaweed extract (3)	۶ گرم عصاره جلبک دریایی در هر کیلوگرم بذر ذرت 6 g of seaweed extract per kg of corn seeds
6	عصاره جلبک دریایی (۳) Seaweed extract (3)	۹ گرم عصاره جلبک دریایی در هر کیلوگرم بذر ذرت 6 g of seaweed extract per kg of corn seeds
7	اسیدهیومیک (۱) Humic acid (1)	۳ گرم اسیدهیومیک در هر کیلوگرم بذر ذرت 3 g of humic acid per kg of corn seeds
8	اسیدهیومیک (۲) Humic acid (2)	۶ گرم اسیدهیومیک در هر کیلوگرم بذر ذرت 6 g of humic acid per kg of corn seed
9	اسیدهیومیک (۳) (3) Humic acid	۹ گرم اسیدهیومیک در هر کیلوگرم بذر ذرت 9 g of humic acid per kg of corn seeds
10	هیدروپرایم + اسیدهیومیک (۲) Hydroprime + Humic acid (2)	هیدروپرایم + ۶ گرم اسیدهیومیک در هر کیلوگرم بذر Hydroprime + 6 g of humic acid per kg of seed
11	هیدروپرایم + عصاره جلبک دریایی (۲) Hydroprime + seaweed extract (2)	هیدروپرایم + ۶ گرم عصاره جلبک دریایی در هر کیلوگرم بذر Hydroprime + 6 g of seaweed extract per kg of seed
12	هیدروپرایم + اسیدآمیننه (۲) Hydroprime + Amino acid (2)	هیدروپرایم + ۶ گرم اسیدآمیننه در هر کیلوگرم بذر Hydroprime + 6 g of amino acid per kg of seed
13	هیدروپرایم Hydroprime	هیدروپرایمینگ Hydropriming
14	شاهد Control	بذر بدون مصرف چسب و محرک‌های مختلف رشد Seeds without the use of glue and various growth stimulants

جدول ۲- ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی منتخب خاک مورد استفاده در آزمایش گلخانه‌ای.

Table 2- Selected physico-chemical properties of the soil used in the greenhouse experiment.

بافت خاک Soil texture	درصد شن Sand%	درصد سیلت Silt%	درصد رس Clay%	درصد کربنات کلسیم Calcium carbonate%	ماده آلی (درصد) Organic matter%	درصد نیتروژن Nitrogen%	فسفر Phosphorus (ppm)	پتاسیم Potassium (ppm)
شنی رسی لومی Sandy clay loam	24.5	45	30.5	9.75	0.95	0.12	23.6	400

بررسی گلخانه‌ای تیمارها

این بخش از پژوهش به منظور بررسی تأثیر پوشش بذر روی سبزشدن و رشد گیاهچه در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. این پژوهش در شرایط کنترل‌شده گلخانه با دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 70 ± 5 درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام شد. بذرها در گلدان‌های پلاستیکی حاوی بستر کاشتی متشکل از مخلوط خاک لومی، ماسه شسته‌شده و کود دامی پوسیده با نسبت حجمی ۲:۱:۱ کشت گردیدند. ویژگی‌های خاک مورد استفاده در جدول ۲ آمده است. نمونه‌برداری در زمان ۲۸ و ۶۰ روز پس از کاشت انجام شد. همچنین مقدار ۰/۵ گرم از بافت برگ تازه برای هر تکرار مورد استفاده قرار گرفت. در این آزمایش، صفاتی مانند درصد استقرار بوته، وزن خشک ریشه، وزن خشک برگ، محتوی کلروفیل و آنزیم کاتالاز برگ در بازه‌های زمانی ۲۸ و ۶۰ روز پس از کاشت اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها به صورت تصادفی برداشت شده و در گلدان‌هایی با حجم ۱۰ لیتر و وزن ۱۲ کیلوگرم کاشته شدند. ابتدا، گلدان‌ها کاملاً آبیاری شد تا آب از زهکش کف خارج و به ظرفیت مزرعه (حداکثر رطوبت پس از زهکش) برسد. این وزن، معادل ظرفیت مزرعه یا ۱۰۰٪ رطوبت است. برای اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌های آزمایش اول پس از جداسازی اجزای گیاه، به مدت ۴۸ ساعت در آون قرار داده شدند. برای ایجاد تنش شوری، آبیاری گیاهان با محلول‌های حاوی غلظت‌های دقیق نمک NaCl انجام شد تا پاسخ گیاه به شوری ارزیابی شود (ماکادو و سراله‌یرو^۲، ۲۰۱۷). در طول آزمایش با تهیه عصاره اشباع از خاک گلدان‌ها و با استفاده از EC متر میزان شوری کنترل شد. گلدان‌ها به طور مرتب وزن شده و آب مورد نیاز بر اساس اختلاف وزن افزوده می‌شد و سهم آبشویی نیز در نظر گرفته شد. پس از سبز شدن بذرها، گیاهچه‌ها تنک شده و ۳ بوته سالم در هر گلدان نگهداری شد.

سنجش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش اسپکتروفتومتری بر پایه تجزیه H_2O_2 در طول موج ۲۴۰

همچنین سرعت جوانه‌زنی نیز بر اساس معادلات استاندارد تعیین گردید. این روش‌های تحلیلی امکان مقایسه دقیق اثر تیمارهای مختلف بر شاخص‌های جوانه‌زنی را فراهم آورد. سرعت جوانه‌زنی از رابطه ۱ و درصد جوانه‌زنی از رابطه ۲ بدست آمد (کوتار^۱، ۲۰۲۳).

$$R50 = 1/D50 \quad \text{رابطه ۱}$$

$$GP = 100 \times n/N \quad \text{رابطه ۲}$$

در رابطه ۱، R50 سرعت ۵۰ درصد جوانه‌زنی و D50 مدت زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی است. در رابطه ۲، N کل بذرکشت شده، n تعداد بذور جوانه زده و GP درصد جوانه‌زنی است.

در این پژوهش، رشد گیاهچه‌های کلزا با استفاده از روش کشت در لابه‌لای کاغذ کشت لوله شده مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور، ابتدا بذرهای روی کاغذ جوانه‌زنی به ابعاد 15×5 سانتی‌متر کشت شدند. در هر تکرار آزمایشی، ۲۵ بذر از هر تیمار با فاصله ۲ سانتی‌متر از لبه کاغذ قرار داده شد و با قرار دادن لایه دوم کاغذ صافی و افزودن ۱۰ میلی‌لیتر آب سترون، شرایط مناسب برای جوانه‌زنی فراهم گردید. سپس کاغذهای حاوی بذر به شکل استوانه‌ای لوله شده و درون لوله‌های کشت قرار گرفتند. این لوله‌ها در ظروف استوانه‌ای حاوی آب به ارتفاع ۳ سانتی‌متر گذاشته شده و به منظور جلوگیری از تبخیر رطوبت، کاملاً مسدود شدند. ظروف کشت به ژرمیناتور تاریخ با دمای ثابت 25 ± 1 درجه سلسیوس منتقل شده و به مدت ۱۰ روز در این شرایط نگهداری شدند. پس از پایان دوره انکوباسیون، پارامترهای رشدی شامل تعداد بذرهای سبز شده، طول ریشه‌چه و هیپوکوتیل (با دقت ۱ میلی‌متر)، درصد گیاهچه‌های عادی و غیرعادی، و همچنین وزن خشک ریشه‌چه، هیپوکوتیل و کل گیاهچه (پس از خشک کردن در آون ۷۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت و با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم) اندازه‌گیری و ثبت شدند (بولی و همکاران، ۲۰۱۹). تمام مراحل آزمایش در شرایط کنترل شده و سترون انجام پذیرفت تا از صحت و دقت نتایج اطمینان حاصل شود.

² Machado and Serralheiro

¹ Kotar

به تحمل تنش را پیش از مواجهه با شوری فعال می‌سازند و در نتیجه گیاه را برای مقابله کارآمدتر با شرایط نامساعد آماده می‌کنند. برخی تیمارها حتی نسبت به شوری صفر و بذر بدون پوشش نیز عملکرد پایین‌تری داشتند. رافائل و کولا^۳ (۲۰۲۰) در پژوهشی نشان دادند که کاربرد اسیدهای هیومیک موجب بهبود نفوذپذیری غشاهای سلولی، افزایش جذب عناصر غذایی کلیدی مانند فسفر و ریزغذاهای، و تحریک تولید هورمون‌های رشد نظیر اکسین می‌شود که همگی به توسعه سامانه ریشه‌ای کمک شایانی می‌کنند.

محتوی کلروفیل

تیمار هیدروپرایم در شوری ۸- بار دارای محتوی کلروفیل ۰/۴۸ گرم بر میلی‌گرم برگ بود که حتی نسبت به شاهد (بدون پوشش) در همین میزان شوری نیز میزان کلروفیل کم‌تری داشت (شکل ۲). بالاترین محتوی کلروفیل در تیمار اسید هیومیک (۱) و شوری ۸- بار مشاهده شد. با توجه به نتایج می‌توان گفت که مقادیر پایین اسید هیومیک حتی در شرایط شوری بالا می‌تواند در حفظ محتوای کلروفیل موثر باشد. پیش‌تیمار بذر با القای آنزیم‌های پاداکساینده (مانند سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز)، تجمع متابولیت‌های محافظ (مانند پرولین) و حفظ یکپارچگی غشاهای کلروپلاستی، از تجزیه کلروفیل تحت تنش جلوگیری کرده و محتوی کلروفیل را در مقایسه با گیاهان شاهد به‌طور معناداری افزایش می‌دهند. به‌طور خاص، مطالعه‌ای روی کلزا (*Brassica napus*) تأیید کرده که پیش‌تیمار بذر با نانوذرات سلنیوم و اسید سالیسیلیک نه تنها محتوای نسبی کلروفیل را حفظ می‌کند، بلکه از طریق بهبود نرخ تبادل گازی و فعالیت فتوشیمیایی، کارایی مصرف آب را نیز در شرایط کم‌آبی و شوری افزایش می‌دهد (حسن^۴ و همکاران، ۲۰۲۳).

نانومتر استفاده شد. در این روش، کاهش جذب ناشی از مصرف H_2O_2 توسط آنزیم در بافر Tris-HC (pH=7) طی ۳۰-۶۰ ثانیه اندازه‌گیری می‌گردد (گوس و راس^۱، ۲۰۰۴).

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌ها با نرم‌افزار SAS ver 9.1 تجزیه واریانس و سپس مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح ۵ درصد مقایسه شدند و رسم اشکال توسط نرم‌افزار Excel انجام گرفت.

نتایج و بحث

اثر اصلی شوری و پیش‌تیمار بذر روی صفات وزن خشک ریشه، تغییرات آنزیم کاتالاز، سرعت جوانه‌زنی و زمان تا ۱۰ درصد جوانه‌زنی در سطح احتمال ۱ درصد آماری معنی‌دار بود. برهمکنش تنش شوری و پیش‌تیمار بذر برای صفات وزن خشک برگ و محتوی کلروفیل در سطح احتمال ۱ درصد و روی درصد سبز شدن در سطح احتمال ۵ درصد آماری معنی‌دار بود (جدول ۳).

وزن خشک برگ

طبق نتایج شکل ۱، بالاترین وزن خشک برگ در شوری صفر (شاهد) و پیش‌تیمار با هیدروپرایم + اسید هیومیک (۲) با ۴/۲۵ گرم در گیاهچه مشاهده شد و کم‌ترین آن در تیمار جلبک دریایی (۱) و شوری ۸- بار با ۰/۴۷ گرم در بوته بود. نتایج بیانگر اثرات بالای دز-پاسخ محرک‌های رشد تحت تنش شوری روی بذر کلزا است و لزوم توجه به مقدار بهینه این عناصر را در پوشش‌دهی برجسته می‌کند. اختلاف ۱۵۳ درصدی بین بهترین و بدترین تیمار نشان‌دهنده اثرگذاری بالای تیمارهای آزمایش است. این تضاد شدید (۱۵۳ درصد اختلاف) به وضوح اصل اثر دز-پاسخ را تأیید می‌کند که بر اساس آن، یک ترکیب در غلظت بهینه می‌تواند محرک رشد باشد، اما در غلظت نامناسب به یک بازدارنده تبدیل می‌شود (جیشا^۲ و همکاران، ۲۰۱۳). این پیش‌تیمارها با آماده‌سازی بذر، سازوکارهای دفاعی و مسیرهای سیگنالینگ مربوط

³ Roupheal and Colla

⁴ Hassan

¹ Goth and Rass

² Jisha

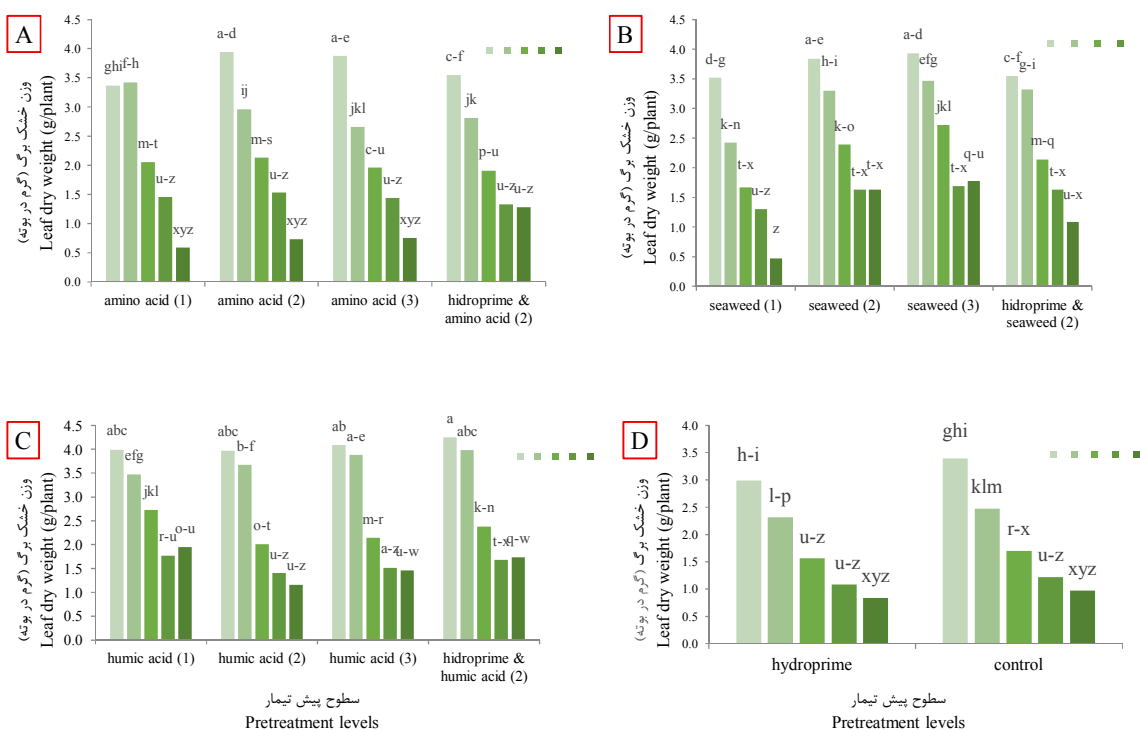
جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تنش شوری و پیش تیمار بذر روی صفات مورد بررسی در گیاه کلزا

Table 3- Analysis of variance (mean squares) for the effects of salinity stress and seed pretreatment on the studied traits in rapeseed

S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات (Mean squares)						
			وزن خشک ریشه	وزن خشک برگ	درصد سبز شدن	محتوی کلروفیل	آنزیم کاتالاز	سرعت جوانه زنی	زمان ۱۰ درصد جوانه زنی
			DF	Root dry weight	Leaf dry weight	Emergence percentage	Chlorophyll content	Catalase enzyme	Germination rate
Salinity stress	(A) تنش شوری	4	17.34**	50.29**	17893.19**	209.11**	0.0006**	0.11**	512.8**
Seed pretreatment	(B) پیش تیمار بذر	13	0.57**	1.77**	770.78**	29.91**	0.335**	0.001**	12.72**
B×A	برهمکنش	52	0.04 ^{ns}	0.17**	144.30*	11.63**	0.00004 ^{ns}	0.0002 ^{ns}	2.25 ^{ns}
Error	خطا	140	0.03	0.07	85.47	5.26	0.00010	0.0002	1.99
CV (%)	ضریب تغییرات (%)	-	12.06	12.00	13.40	7.37	5.18	14.31	15.79

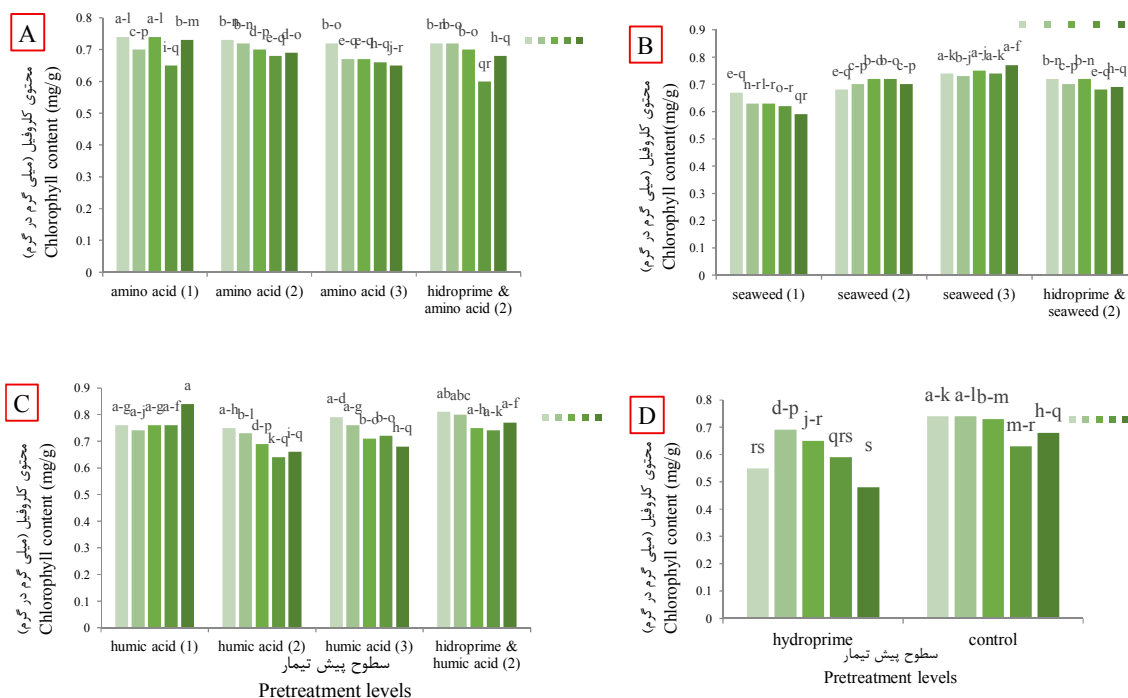
*, **, و ns به ترتیب معنی داری در سطح ۵ درصد، ۱ درصد و غیرمعنی دار

*, **, and ns are significant at the 5%, 1% and non-significant levels, respectively



شکل ۱- برهمکنش تنش شوری و پیش تیمار بذر با اسید آمینه (A)، جلبک دریایی (B)، اسید هیومیک (C) و هیدروپرایم و شاهد (D) روی وزن خشک برگ گیاهچه کلزا. حداقل یک حرف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار بر اساس آزمون LSD است.

Figure 1- Interaction of salinity stress and seed pretreatment with amino acid (A), seaweed (B), humic acid (C), and hydropriming, and control (D) on the leaf dry weight of rapeseed seedlings. At least one similar letter indicates no significant difference based on the LSD test.



شکل ۲- برهمکنش تنش شوری و پیش تیمار بذر با اسید آمینه (A)، جلبک دریایی (B)، اسید هیومیک (C) و هیدروپرایم و شاهد (D) روی محتوی کلروفیل بذر کلزا. حداقل یک حرف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار بر اساس آزمون LSD است.

Figure 2- Interaction of salinity stress and seed pretreatment with amino acid (A), seaweed (B), humic acid (C), and hydropriming, and control (D) on the chlorophyll content of rapeseed. At least one similar letter indicates no significant difference based on the LSD test.

گیاهچه اثر مثبتی داشت (شکل ۳). به عنوان مثال، پژوهش‌ها نشان می‌دهند که اسیدهای آمینه نه تنها به عنوان واحدهای سازنده پروتئین‌ها عمل می‌کنند، بلکه می‌توانند به عنوان پیش‌ساز مولکول‌های سیگنال‌دهنده (مانند پلی‌آمین‌ها) یا تقویت‌کننده‌های متابولیک، پاسخ به تنش را القا کرده و از بروز آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از شوری جلوگیری کنند (اشرف و فولاد^۱، ۲۰۰۷).

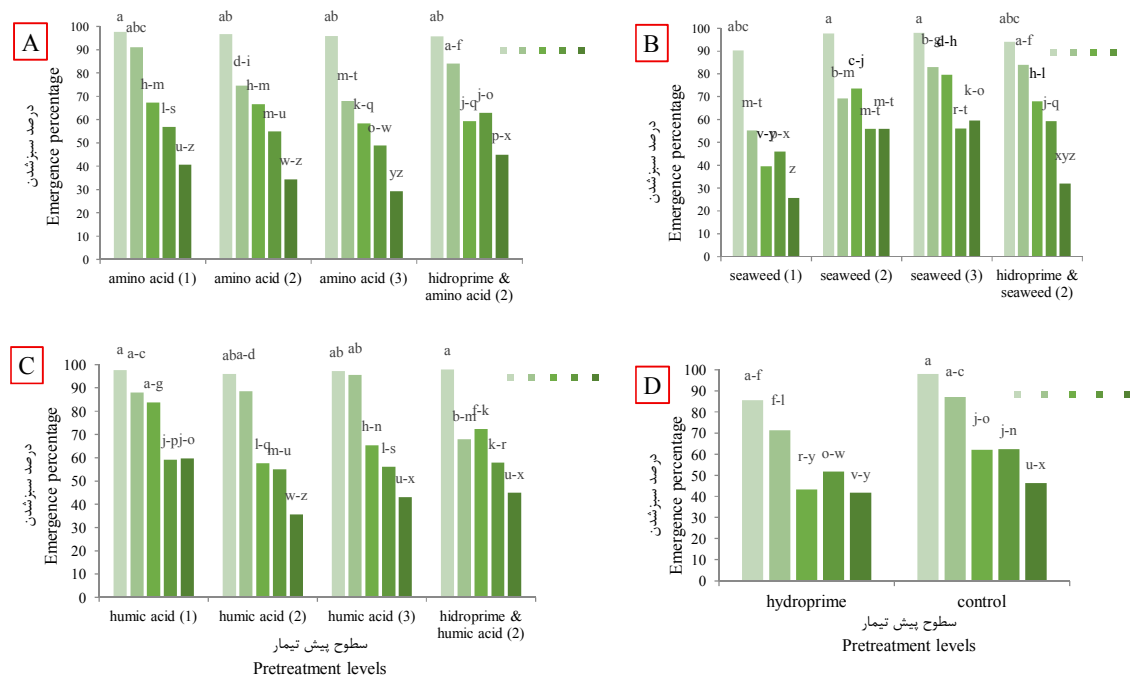
به طور مشابه، عصاره جلبک دریایی منبع غنی از سایتوکینین، اکسین و بتائین است که این ترکیبات با تنظیم اسمزی و حفظ وضعیت آب درون سلولی، تحمل به شوری را افزایش می‌دهند (خان^۲ و همکاران، ۲۰۰۹). نتایج این مطالعه که نشان‌دهنده کاهش تدریجی مزایای پیش تیمار در سطوح بسیار بالای شوری (۸- بار) است، این فرضیه را تقویت می‌کند که سازوکارهای محافظتی

درصد سبزشدن

بیشترین گیاهچه‌های سبز شده در شوری صفر و پیش تیمار با اسید آمینه (۱)، جلبک دریایی (۲)، جلبک دریایی (۳) و هیدروپرایم + اسید هیومیک (۲) مشاهده شد. طبق نتایج در شوری صفر اختلاف بین تیمارهای پوشش‌دار کردن محسوس نبود اما با افزایش میزان شوری به ۴- و ۶- بار اثرات پیش تیمار بذر آشکار شد (شکل ۳). این نتایج لزوم کاربرد محرک‌های رشدی را برای پوشش‌دهی بذر کلزا در مناطق شور برجسته می‌کند. در شوری ۸- بار سبز شدن گیاهچه ۳۲ درصد و در شوری صفر و اسید آمینه (۱) به میزان ۹۷/۶ درصد بود که به ترتیب ضعیف‌ترین و برترین تیمار بودند؛ وجود اختلاف ۱۰۵ درصدی بین این تیمارها نشان‌دهنده اثرگذاری بالا روی درصد سبز شدن گیاهچه کلزا است. نتایج بیانگر تعدیل اثرات شوری توسط برخی پوشش‌دهی‌ها بود اما این اثرات بیشتر تا شوری ۶- بار روی درصد سبز شدن

¹ Ashraf and Foolad

² Khan



شکل ۳- برهمکنش تنش شوری و پیش‌تیمار بذر با اسید آمینه (A)، جلبک دریایی (B)، اسید هیومیک (C) و هیدروپرایم و شاهد (D) روی درصد سبز شدن بذر کلزا. حداقل یک حرف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار بر اساس آزمون LSD است.

Figure 3- Interaction of salinity stress and seed pretreatment with amino acid (A), seaweed (B), humic acid (C), and hydropriming, and control (D) on the emergence percentage of rapeseed. At least one similar letter indicates no significant difference based on the LSD test.

با ۱/۸۸، ۱/۸۱ و ۱/۸ گرم در بوته داشتند که نسبت به هم اختلاف معنی‌داری نداشتند. همچنین جلبک دریایی (۱) با ۱/۲ گرم در بوته کم‌ترین وزن خشک ریشه را داشت که حتی نسبت به شاهد کم‌تر بود (جدول ۴). این نتایج اثرات دز- پاسخ بالای جلبک دریایی را تایید می‌کند و لزوم توجه به دوز مصرفی در پیش‌تیمار بذر را برجسته می‌کند. همچنین نتایج بیانگر افزایش ۱۵/۴ درصدی وزن خشک ریشه در برترین تیمار نسبت به شاهد بود. نتایج این پژوهش که کاهش شدید وزن خشک ریشه تحت تنش شوری ۸- بار را نشان می‌دهد، به‌طور کامل با سازوکارهای شناخته‌شده تخریب شوری مطابقت دارد. علاوه بر این، ورود یون‌های سمی نظیر سدیم (Na^+) و کلر (Cl^-) به داخل بافت‌های گیاه، باعث اختلال در عملکرد آنزیم‌ها، تخریب غشاهای سلولی و ایجاد تنش اکسیداتیو شدید می‌گردد که همگی منابع انرژی گیاه را که صرف رشد ریشه شود، به سمت سم‌زدایی و حفظ بقا منحرف می‌کنند. در نتیجه، تشکیل یک سامانه ریشه‌ای

القا شده توسط این محرک‌ها دارای محدودیت فیزیولوژیک هستند و زمانی که شدت تنش از آستانه تحمل گیاه فراتر رود، قادر به خنثی‌سازی کامل اثرات مخرب نیستند. این الگو به خوبی با نظریه آستانه تحمل در فیزیولوژی تنش گیاهی مطابقت دارد که طبق آن، کارایی هر روش تعدیل‌کننده در سطوح بهینه تا متوسط تنش به حداکثر می‌رسد (مونس و تستر^۱، ۲۰۰۸).

وزن خشک ریشه

در بین سطوح شوری، شاهد با ۲/۳۱ گرم در بوته بالاترین و شوری ۸- بار با ۰/۸ گرم در بوته پایین وزن خشک ریشه را نشان دادند (جدول ۴)؛ نتایج بیانگر کاهش ۶۵/۳ درصدی وزن خشک ریشه نسبت به شاهد است که لزوم توجه به آن را برجسته می‌کند. در بین سطوح پیش تیمار بذر اسید هیومیک (۱)، هیدروپرایم + اسید آمینه (۲) و جلبک دریایی (۳) سنگین‌ترین ریشه‌ها را به ترتیب

¹ Munns and Tester

دفاعی گیاه عمل کرده و با تجزیه پراکسید هیدروژن، از آسیب‌های اکسیداتیو به سلول‌ها جلوگیری می‌کنند. افزایش فعالیت کاتالاز در تیمارهای تحت تنش و همچنین در تیمارهای پیش‌تیمار بذر، نشان‌دهنده ظرفیت بالاتر این گیاهان در پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن و حفظ هموستازی اکسیداتیو است (میتلر^۳، ۲۰۱۷). این پاسخ همسو با مطالعاتی است که به نقش محوری کاتالاز در تحمل به تنش‌های محیطی تاکید دارند.

سرعت جوانه‌زنی

در شرایط شوری ۸- بار (۰/۵۹ عدد در روز) سرعت جوانه‌زنی در بذر کلزا نسبت به شاهد (۰/۱۷۵ عدد در روز) به میزان ۶۳/۳ درصد کاهش داشت. پیش‌تیمار با جلبک دریایی (۳) و اسید هیومیک (۱) برترین تیمارها با ۰/۱۲ جوانه در روز بودند که نسبت به شاهد (بدون پوشش) ۲۰ درصد سرعت جوانه‌زنی را افزایش دادند (جدول ۴). همچنین نتایج لزوم توجه به اثرات دز-پاسخ محرک‌های رشدی را برجسته می‌کند. می‌توان این یافته‌ها را در چارچوب سازوکارهای تحمل به شوری و نقش محرک‌های زیستی تفسیر کرد. همانطور که مطالعه‌ای نشان داد، شوری با ایجاد تنش اسمزی و سمیت یونی، جذب آب توسط بذر را مختل کرده و فعالیت آنزیم‌های کلیدی جوانه‌زنی را مهار می‌کند که منجر به کاهش سرعت و درصد جوانه‌زنی می‌شود (ابراهیم^۴، ۲۰۱۶). از سوی دیگر، بهبود مشاهده شده در تیمارهای جلبک دریایی و اسید هیومیک را میتوان با سازوکارهای گزارش شده توجیه کرد که نشان می‌دهند این محرک‌های زیستی حاوی ترکیبات فعال زیستی مانند سیتوکینین‌ها، بتائین‌ها و اسیدهای فولویک هستند که با تنظیم اسمزی، افزایش نفوذپذیری غشا و تحریک تولید آنزیم‌های پاداکساینده، تنش شوری را کاهش داده و جوانه‌زنی را تسهیل می‌کنند (الانساری و همکاران، ۲۰۱۷).

کم‌جان و ضعیف، توانایی گیاه برای جذب آب و مواد مغذی را حتی در صورت وجود منابع، به شدت محدود کرده و بقای آن را در شرایط تنش به خطر می‌اندازد (ون‌زلم^۱ و همکاران، ۲۰۲۰). از سوی دیگر، یافته‌های مثبت این تحقیق مبنی بر افزایش وزن خشک ریشه در پیش‌تیمار بذر با اسید هیومیک و جلبک دریایی، نشان‌دهنده یک راهکار مدیریتی امیدوارکننده است که توسط مطالعات جهانی نیز تأیید شده است. به عنوان مثال، در پژوهشی نشان دادند که کاربرد اسیدهای هیومیک موجب بهبود نفوذپذیری غشاهای سلولی، افزایش جذب عناصر غذایی کلیدی مانند فسفر و ریزغذاهای و تحریک تولید هورمون‌های رشد نظیر اکسین می‌شود که همگی به توسعه سیستم ریشه‌ای کمک شایانی می‌کنند (رافائل و کولا، ۲۰۲۰). به طور مشابه، گزارش کردند که عصاره جلبک‌های دریایی حاوی سیتوکینین، بتائین و مانیتول هستند که این ترکیبات به عنوان محافظ‌های اسمزی عمل کرده و با افزایش فعالیت پاداکساینده‌ی درون‌ساخت گیاهی مانند کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز، اثرات مخرب تنش اکسیداتیو ناشی از شوری را خنثی می‌کنند (الانساری^۲ و همکاران، ۲۰۱۷).

آنزیم کاتالاز

بالاترین میزان آنزیم کاتالاز (۰/۳ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) در شوری ۸- بار و پایین‌ترین میزان آن (۰/۱۴ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) در شرایط بدون تنش شوری مشاهده شد. نتایج بیانگر افزایش ۱۱۴ درصدی این آنزیم در شوری ۸- بار نسبت به شرایط بدون تنش بود. در بین سطوح پیش‌تیمار بذر نیز هیدروپرایم + اسید هیومیک (۲) و اسید آمینه (۱ و ۲) با ۰/۱۸ واحد بر میلی‌گرم پروتئین حتی از شاهد با ۰/۱۹ واحد بر میلی‌گرم پروتئین پایین‌تر بود. همچنین اسید هیومیک (۱) و هیدروپرایم + اسید آمینه (۲) با ۰/۲۱ واحد بر میلی‌گرم پروتئین بالاترین میزان آنزیم کاتالاز را داشتند (جدول ۴). تنش‌های محیطی مانند شوری منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن و بروز تنش اکسیداتیو می‌شوند. در این شرایط، آنزیم‌های پاداکساینده نظیر کاتالاز به عنوان خط اول

³ Mittler

⁴ Ibrahim

¹ Van Zelm

² Elansary

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر تنش شوری و پیش‌تیمار بذر برای صفات مورد بررسی گیاه کلزا.

Table 4- Mean comparison of salinity stress and seed pretreatment effects on the studied traits of rapeseed

Salinity stress levels	سطوح تنش شوری	وزن خشک	آنزیم کاتالاز	سرعت	زمان ۱۰ درصد
		ریشه (گرم در بوته)	(واحد بر میلی‌گرم پروتئین)	جوانه‌زنی (بذر در روز)	جوانه‌زنی (ساعت)
		Root dry weight (g No ⁻¹)	Catalase enzyme (U/mg protein)	Germinatio n rate (seed d ⁻¹)	D10 (h)
Zero bar (control)	صفر بار (شاهد)	2.31 ^a	0.14 ^b	0.175 ^a	5.44 ^d
-2 bar	۲- بار	2.12 ^b	-	0.152 ^b	6.04 ^d
-4 bar	۴- بار	1.52 ^c	0.14 ^b	0.085 ^c	8.08 ^d
-6 bar	۶- بار	1.11 ^d	-	0.063 ^d	11.68 ^b
-8 bar	۸- بار	0.80 ^e	0.3 ^a	0.059 ^d	13.41 ^a
Seed pretreatment levels	سطوح پیش‌تیمار بذر				
Amino acid (1)	اسیدآمینو (۱)	1.43 ^{gh}	0.18 ^e	0.11 ^{b-e}	7.80 ^{fg}
Amino acid (2)	اسیدآمینو (۲)	1.45 ^{gh}	0.18 ^e	0.10 ^{c-f}	9.65 ^{a-d}
Amino acid (3)	اسیدآمینو (۳)	1.38 ^h	0.19 ^{bcd}	0.091 ^{def}	10.20 ^a
Seaweed (1)	جلبک دریایی (۱)	1.20 ⁱ	0.19 ^{bcd}	0.09 ^{ef}	9.90 ^{ab}
Seaweed (2)	جلبک دریایی (۲)	1.67 ^{cde}	0.191 ^{de}	0.113 ^{abc}	8.94 ^{b-e}
Seaweed (3)	جلبک دریایی (۳)	1.80 ^{abc}	0.20 ^{abc}	0.12 ^a	7.95 ^g
humic acid (1)	اسیدهیومیک (۱)	1.88 ^a	0.21 ^a	0.12 ^a	7.60 ^g
humic acid (2)	اسیدهیومیک (۲)	1.58 ^{def}	0.19 ^{cde}	0.114 ^{abc}	8.47 ^{efg}
humic acid (3)	اسیدهیومیک (۳)	1.71 ^{bcd}	0.19 ^{cde}	0.11 ^{ab}	8.60 ^{efg}
Hydroprime + amino acid (2)	هیدروپرایم + اسیدآمینو (۲)	1.81 ^{ab}	0.21 ^a	0.114 ^{abc}	9.81 ^{abc}
Hydroprime + seaweed (2)	هیدروپرایم + جلبک دریایی (۲)	1.58 ^{def}	0.20 ^{ab}	0.10 ^{c-f}	8.52 ^{efg}
Hydroprime + humic acid (2)	هیدروپرایم + اسیدهیومیک (۲)	1.56 ^{efg}	0.18 ^e	0.10 ^{c-f}	8.75 ^{def}
Hydroprime	هیدروپرایم	1.36 ^h	0.191 ^{de}	0.09 ^f	10.29 ^a
Control	شاهد	1.59 ^{def}	0.19 ^{cde}	0.1 ^{bcd}	8.87 ^{cde}

میانگین‌های داری حروف مشترک در هر ستون اختلاف معنی‌داری باهم در سطح ۵ درصد با آزمون LSD ندارند

Means followed by the same letter within each column are not significantly different at the 5% level according to the LSD test.

اسیدآمینو (۱) در کم‌ترین زمان به این درصد از جوانه‌زنی رسیدند که نسبت به شاهد سبب تسریع شدند (جدول ۴). هیدروپرایم با ۱۰/۲۹ ساعت و اسیدآمینو (۳) با ۱۰/۲۰ ساعت کندترین تیمارها بودند که نسبت به شاهد به ترتیب ۱۶ و ۱۵ درصد جوانه‌زنی را به تاخیر انداختند (جدول ۴). می‌توان به وضوح تأثیر مخرب شوری بر تأخیر در شروع فرآیند جوانه‌زنی را مشاهده کرد. این نتایج با یافته‌هایی همسو است که نشان دادند شوری با ایجاد تنش اسمزی، فعالسازی آنزیم‌های دخیل در تجزیه ذخایر اندوسپرم و اختلال در سنتز هورمون‌های محرک جوانه‌زنی مانند جیبرلین را به تأخیر می‌اندازد (زنگ^۱ و همکاران، ۲۰۲۲).

همچنین نتیجه متناقض هیدروپرایم که بهبودی ایجاد نکرده، با مطالعه‌ای همخوانی دارد که بر اهمیت دوز، زمانبندی و سازگاری روش پیش‌تیمار با نوع گیاه و تنش تأکید می‌کند (پاپارلا و همکاران، ۲۰۱۵). این یافته‌ها به‌طور جمعی بر پتانسیل محرک‌های زیستی به عنوان یک راهکار عملی برای بهبود استقرار گیاه در شرایط شوری تأکید دارند.

زمان تا ۱۰ درصد جوانه‌زنی (D10)

افزایش ۱۴۶ درصدی زمان رسیدن به ۱۰ درصد جوانه‌زنی در بذرهای کلزا در اثر شوری ۸- بار نسبت به شوری صفر نشانگر تاثیر بالای شوری روی جوانه‌زنی است (جدول ۴). اسیدهیومیک (۱)، جلبک‌دریایی (۳) و

¹ Zhang

بهبود مشاهده شده در تیمارهای اسیدهیومیک، جلبک دریایی و اسیدآمیننه با دوز مناسب را می‌توان با سازوکارهای گزارش شده‌ای توجیه کرد که نشان می‌دهند این محرک‌های زیستی با افزایش نفوذپذیری غشای سلولی، تأمین پیش‌سازهای هورمونی و تحریک تولید آنزیم‌های کاهنده تنش اکسیداتیو، تنش اسمزی را جبران کرده و زمان شروع جوانه‌زنی را تسریع می‌کنند (ارتانی^۱ و همکاران، ۲۰۱۸). در مقابل، تأخیر ایجاد شده توسط هیدروپرایم و دوز بالای اسیدآمیننه (۳) نیز با مطالعه‌ای همخوانی دارد که گزارش کردند استفاده نادرست از محرک‌ها می‌تواند با ایجاد عدم تعادل متابولیک یا سمیت، اثرات منفی بر فرآیندهای فیزیولوژیکی اولیه داشته باشد (لوتس^۲ و همکاران، ۲۰۱۶).

نتیجه‌گیری

این پژوهش نشان داد که تنش شوری با ایجاد اختلال در فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، جوانه‌زنی، رشد و توسعه گیاهچه‌های کلزا را به شدت مهار می‌کند. فناوری پیش‌تیمار بذر کلزا با محرک‌های رشد طبیعی، به‌ویژه در قالب تیمارهای ترکیبی مانند هیدروپرایمینگ همراه با اسیدآمیننه (۴ گرم بر کیلوگرم بذر) و اسید هیومیک (۶ گرم بر کیلوگرم بذر)، یک راهبرد اصلاحی کم‌هزینه و کاربرپسند محسوب می‌شود. این روش با فعال‌سازی زود هنگام و هماهنگ سازوکارهای پیچیده دفاعی گیاه در سطح فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی، از تجمع گونه‌های فعال اکسیژن جلوگیری کرده، تعادل اسمزی سلول را حفظ نموده و با تقویت چشم‌گیر سامانه ریشه‌ای و سطح برگ، کارایی استفاده از منابع محدود آب و مواد غذایی را در شرایط شوری به حداکثر می‌رساند. یافته‌های این مطالعات نویدبخش توسعه راهکارهای عملی و مقرون‌به‌صرفه برای کشاورزان در مناطق شور است. با این حال، به نظر می‌رسد موفقیت این روش‌ها به شدت به تعیین دقیق غلظت و زمان بهینه پیش‌تیمار برای هر ژنوتیپ و شرایط محیطی خاص بستگی دارد.

¹ Ertani

² Lutts

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

نویسندگان اصول اخلاقی را در انجام و انتشار این پژوهش علمی رعایت نموده‌اند و این موضوع مورد تأیید همه آن‌هاست.

مشارکت نویسندگان

روش‌شناسی، توحید علی‌عباسی؛ نرم‌افزار، سلیم فرزانه؛ اعتبارسنجی، محمد احمدی، توحید علی‌عباسی و سلیم فرزانه؛ تحلیل محمد احمدی؛ تحقیق، توحید علی‌عباسی؛ منابع، محمد احمدی؛ گردآوری داده‌ها، توحید علی‌عباسی؛ مصورسازی، محمد احمدی؛ نظارت، سلیم فرزانه؛ مدیریت پروژه، محمد احمدی؛ تأمین بودجه، توحید علی‌عباسی. همه نویسندگان به طور مساوی در مفهوم‌سازی مقاله و نگارش پیش‌نویس‌های اصلی و بعدی مشارکت داشته‌اند. همه نویسندگان نسخه منتشر شده مقاله را خوانده و با آن موافقت کرده‌اند.

تعارض منافع

بنا بر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

حامی مالی

حمایت مالی از این پژوهش از طرف دانشگاه محقق اردبیلی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی در قالب پژوهانه پایان‌نامه دانشجویی انجام شده است.

سپاسگزاری

از تمامی کسانی که در طول این پروژه ما را یاری کرده‌اند، به‌ویژه همکاران محترم دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی، کمال تشکر و قدردانی را داریم. همچنین از خانم زینب کامرانی به خاطر زحماتشان در نگارش این مقاله سپاسگزاریم.

References

منابع

- Ashraf, M., & Foolad, M. R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59(2), 206-216.
- Ashraf, M., & McNeilly, T. (2004). Salinity tolerance in Brassica oilseeds. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 23(2), 157-174.
- Bewley, J. D., Bradford, K. J., Hilhorst, H. W. M., & Nonogaki, H. (2019). Seed priming: A comprehensive review. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(3), 705. <https://doi.org/10.3390/ijms20030705>
- Canellas, L. P., & Olivares, F. L. (2014). Physiological responses to humic substances as plant growth promoter. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 1(1), 1-11.
- Elansary, H. O., Skalicka-Woźniak, K., & King, I. W. (2017). Enhancing stress growth traits as well as phytochemical and antioxidant contents of Spiraea and Pittosporum under seaweed extract treatments. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39(1), 13. <https://doi.org/10.1007/s11738-016-2310-8>
- Ertani, A., Francisco, O., Tinti, A., Schiavon, M., Pizzeghello, D., & Nardi, S. (2018). Evaluation of seaweed extracts from *Laminaria* and *Ascophyllum nodosum* spp. as biostimulants in *Zea mays* L.

- using a combination of chemical, biochemical and morphological approaches. *Frontiers in Plant Science*, 9, 428. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00428>
- Goth, L., & Rass, P. (2004). A new method for determination of catalase activity. *Analytical Biochemistry*, 332(1), 157-163. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2004.05.003>
- Halmer, P. (2005). Ornamental bedding plant industry and plug production, p. 27–38. In: McDonald, M. B. and F. Y. Kwong (eds), 3, 231-242 <https://doi.org/10.1079/9780851999069.0027>
- Hassan, M. U., Chattha, M. U., Barbanti, L., Mahmood, A., Afzal, I., Rasheed, A., & Nawaz, M. (2023). Seed priming with selenium and salicylic acid enhances growth, physiological, and biochemical traits in oilseed rape (*Brassica napus* L.) under drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 201, 107850. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.107850>
- Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M. N., Wani, A. S., Pichtel, J., & Ahmad, A. (2012). Role of proline under changing environments: a review. *Plant Signaling and Behavior*, 7(11), 1456-1466.
- 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>
- Jisha, K. C., Vijayakumari, K., & Puthur, J. T. (2013). Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(5), 1381-1396.
- Khan, W., Rayirath, U. P., Subramanian, S., Jithesh, M. N., Rayorath, P., Hodges, D. M., Critchley, A. T., Craigie, J. S., Norrie, J. & Prithviraj, B. (2009). Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *Journal of Plant Growth Regulation*, 28, 386-399. <https://doi.org/10.1007/s00344-009-9103-x>
- Kotar, M. (2023). *Advanced Methods in Seed Germination Analysis*. *Journal of Seed Science*, 15(2), 45-60.
- Lutts, S., Benincasa, P., Wojtyla, L., Kubala, S., Pace, R., Lechowska, K., Quinet, M., & Garnczarska, M. (2016). Seed priming: New comprehensive approaches for an old empirical technique. In S. Araujo & A. Balestrazzi (Eds.), *New challenges in seed biology-Basic and translational research driving seed technology*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/64420>
- Machado, R. M. A., & Serralheiro, R. P. (2017). Soil salinity: Effect on vegetable crop growth. Management practices to prevent and mitigate soil salinization. *Horticulturae*, 3(2), 30. <https://doi.org/10.3390/horticulturae3020030>
- Mittler, R. (2017). ROS are good. *Trends in Plant Science*, 22(1), 11. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.08.002>
- Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651–681. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>
- Paparella, S., Araújo, S. S., Rossi, G., Wijayasinghe, M., Carbonera, D., & Balestrazzi, A. (2015). Seed priming: state of the art and new perspectives. *Plant Cell Reports*, 34(8), 1281–1293. <https://doi.org/10.1007/s00299-015-1784-y>

- Rouphael, Y., & Colla, G. (Eds.). (2020). Biostimulants in agriculture [Special issue]. *Scientia Horticulturae*, 196, 1–134.
- Shukla, P. S., Mantin, E. G., Adil, M., Bajpai, S., Critchley, A. T., & Prithiviraj, B. (2019). *Ascophyllum nodosum*-based biostimulants: Sustainable applications in agriculture for the stimulation of plant growth, stress tolerance, and disease management. *Frontiers in Plant Science*, 10, 655. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00655>
- Soltani, E., & Maddah, V. (2024). *Germin software user manual* (Version 3.0). Seed Science Press. . [In Persian]
- Van Zelm, E., Zhang, Y., & Testerink, C. (2020). Salt tolerance mechanisms of plants. *Annual Review of Plant Biology*, 71, 403–433. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050718-100005>
- Zhang, H., Zhu, J., Gong, Z., & Zhu, J. K. (2022). Abiotic stress responses in plants. *Nature Reviews Genetics*, 23(2), 104–119. <https://doi.org/10.1038/s41576-021-00413-0>.