پژوهش‌های بذر ایران/ سال نهم/ شماره دوم/ ۱۴۰۱/ صفحات: ۳۳-۱۷

مقاله پژوهشی

# اثر پیش‌تیمار بذر بر برخی مؤلفه‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیمی گیاهچه گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) در شرایط تنش خشکی در آزمایشگاه

منصور براهوئی [۱]، سید غلامرضا موسوی [۲*]، محمد جواد ثقه الاسلامی [۲]، رضا برادران [۲]، سید مهدی جوادزاده [۳]

**چکیده مبسوط**

**مقدمه: گلرنگ گیاهی است که به دلیل دارا بودن ارزش بالای دارویی و غذایی به خصوص استحصال روغن خوراکی در کشورهای توسعه یافته مورد توجه قرار گرفته است. خشکی از مهمترین عوامل زیان بار در نواحی خشک و نیمه خشک جهان است که تولید گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. مواد تعدیل کننده نقش مهمی را در سازگاری گیاهان به شرایط تنش ایفا می‌کنند. از جمله این مواد هورمون اسید جیبرلیک و آنتی اکسیدان اسید آسکوربیک است که موجب افزایش تحمل گیاهان در شرایط نا مساعد محیطی می‌شوند. تحقیق حاضر به منظور بررسی تأثیر اسید جیبرلیک و اسید آسکوربیک بر مؤلفه‌های جوانه‌زنی بذر و برخی شاخص‌های آنزیمی گلرنگ در شرایط تنش خشکی انجام شد.**

**مواد و روش‌ها: این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه علوم کشاورزی دانشگاه ایرانشهر در سال ۱۳۹۹ اجرا شد. عامل اول شامل سه سطح پیش‌تیمار بذر (شاهد (پیش تیمار با آب مقطر)، پیش تیمار با اسید جیبرلیک و پیش تیمار با اسید آسکوربیک) و عامل دوم تنش خشکی در چهار سطح (۰، ۳-، ۶- و ۹- بار) بود. تنش خشکی با استفاده از پلی اتیلن گلایکول ۶۰۰۰ اعمال شد. جوانه‌زنی بذرها در داخل ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۴ روز تحت شرایط تاریکی انجام شد. صفات جوانه‌زنی و شاخص‌های آنزیمی طبق روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شد.**

**یافته‌ها: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اکثر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشدی گیاهچه گلرنگ با افزایش تنش خشکی روند کاهشی داشت، همچنین تنش خشکی منجر به تغییر فعل و انفعالات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت شد. پیش‌تیمار بذر با اسید جیبرلیک و اسید آسکوربیک در مقایسه با بذرهای پیش‌تیمار نشده، منجر به افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی، رشد گیاهچه و بهبود در فعالیت آنزیمی از جمله کاتالاز، پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز شد. پیش‌تیمار با اسید جیبرلیک از برتری معنی‌داری برخوردار بود. پیش‌تیمار بذر در شرایط تنش خشکی منجر به افزایش صفات سرعت جوانه‌زنی، محتوی پروتئین و فعالیت کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربیک دیسموتاز نسبت به شاهد گردید.**

**نتیجه‌گیری: به طور کلی، پیش‌تیمار بذرهای گلرنگ با استفاده از اسید جیبرلیک منجر به تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت شده و این فعل و انفعالات در نهایت موجب تعدیل اثرات منفی تنش خشکی و افزایش پارامترهای جوانه‌زنی شد.**

**واژه‌های کلیدی: آنتی اکسیدانت، اسید آسکوربیک، اسید جیبرلیک، پراکسیداز، کاتالاز**

**جنبه‌های نوآوری:**

۱- نقش اسید جیبرلیک و اسید آسکوربیک بر صفات جوانه‌زنی بذر گلرنگ بررسی شد.

۲- تأثیر اسید جیبرلیک و اسید آسکوربیک بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و پروتئین محلول در طول جوانه‌زنی بذر بررسی گردید.

[۱] دانشجوی دکتری گیاهان دارویی، گروه باغبانی، واحد بیرجند، دانشگاه آزاد اسلامی، بیرجند، ایران

[۲] دانشیار مرکز تحقیقات کشاورزی، گیاهان دارویی و علوم دامی، واحد بیرجند، دانشگاه آزاد اسلامی، بیرجند، ایران

[۳] استادیار گروه زراعت، واحد ایرانشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، ایرانشهر، ایران

[*] رایانانه نویسنده مسئول: moosavi@iaubir.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۲۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۲/۰۴)

http://dorl.net/dor/20.1001.1.23831251.1401.9.2.11.4

DOI: 10.61186/yujs.9.2.17

**مقدمه**

گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) یکی از مهمترین دانه‌های روغنی جهان است و همین امر سبب گسترش کشت و در نتیجه استخراج روغن بذر آن برای مصارف خوراکی گردیده است (دانشور و خواجه‌نژاد[1]، ۲۰۱۵). در سال‌های اخیر و به خصوص در کشورهای توسعه یافته، گلرنگ به دلیل دارا بودن ارزش‌های بالای دارویی و غذایی به طور قابل ملاحظه‌ای مورد توجه قرار گرفته است (ارسلان و کوکاک[2]، ۲۰۰۵). خشکی یکی از تنش‌های محیطی شایع در جهان می‌باشد که سبب کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی و تولید در اکثر گیاهان می‌شود (پاتادی[3] و همکاران، ۲۰۱۱، سلطانی[4] و همکاران، ۲۰۰۱). ایران جزو مناطق خشک و نیمه خشک به حساب می‌آید، بنابراین عملکرد گیاهان زراعی در نتیجه کمبود نزولات جوی به شدت کاهش می‌یابد. کمبود آب بر حسب طول مدت و شدت تنش موجب عدم جوانه‌زنی یا کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی می‌شود. گیاهان با بنیه اولیه قوی‌تر، سریع‌تر روی سطح خاک سایه‌اندازی می‌کنند و هدر رفتن آب را کاهش می‌دهند. توانایی جوانه‌زنی بذرها در شرایط تنش رطوبتی شانس استقرار بیشتر گیاه و تراکم بالاتر را به دنبال دارد که در نتیجه منجر به افزایش عملکرد می‌شود (کایا[5] و همکاران، ۲۰۰۶).

خشکی بسیاری از جنبه‌های متابولیسم و رشدی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. یکی از مهمترین روش‌های مطالعه تنش خشکی، استفاده از مواد اسمزی مختلف برای ایجاد پتانسیل‌های اسمزی است. پلی‌اتیلن گلایکول به علت وزن مولکولی بالا نمی‌تواند از دیواره سلولی عبور کند. به همین دلیل از آن برای تنظیم پتانسیل آب در آزمایش‌های جوانه‌زنی استفاده می‌شود (ابراهیم[6] و همکاران، ۲۰۰۱). در بررسی چهار رقم گلرنگ پاییزه در پنج سطح تنش خشکی (صفر، ۲-، ۴-، ۶-و ۸- بار) ناشی از پلی‌اتیلن گلایکول ۶۰۰۰، درصد جوانه‌زنی به طور معنی‌داری از ۸۱/۰۲ درصد در شاهد به ۶/۰۳ درصد در خشکی ۸- بار کاهش یافت (سید شریفی و سید شریفی[7]، ۲۰۰۸).

یکی از تغییرات بیوشیمیایی در گیاهانی که در شرایط تنش خشکی قرار دارند، تولید گونه‌های فعال اکسیژن با افزایش انتقال الکترون به مولکول اکسیژن است (فتحی امیرخیز[8] و همکاران، ۲۰۱۱). گیاهان به‌منظور حفاظت در برابر انواع فعال اکسیژن (ROS)، به دفاع آنتی‌اکسیدانت مجهز هستند (آگراوال[9] و همکاران، ۲۰۰۵). سامانه دفاعی آنتی‌اکسیدانت آنزیمی شامل سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز هستند که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کلیدی در مبارزه علیه بنیان‌های آزاد اکسیژن به شمار می‌روند (نادری زرنقی[10]و همکاران، ۲۰۱۴). در گیاهان فعالیت آنزیم‌هایی مانند کاتالاز، پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز موجب خنثی‌سازی فعالیت اکسیژن فعال تولید شده در سلول‌ها می‌گردد و تولید اکسیژن فعال در سلول‌های گیاهی موجب تحریک و افزایش فعالیت آنزیم‌های اشاره شده می‌شود (افکاری[11]، ۲۰۱۷). آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز به عنوان اولین خط دفاعی در برابر انواع فعال اکسیژن‌ها، $O^{2-}$ را در کلروپلاست و میتوکندری و سایر اندام‌ها (ویاس و کومار[12]، ۲۰۰۵) به $H_2O_2$ تبدیل می‌کند (قناتی و رحمتی[13]، ۲۰۰۶) و سپس $H_2O_2$ حاصل توسط آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز و کاتالاز به آب تبدیل می‌شود (ایردل و دوملوپینار[14]، ۲۰۱۱). در مطالعات خود عکس‌العمل گیاهچه‌های گلرنگ در برابر تنش ناشی از کمبود آب را به صورت افزایش آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در مقایسه با شاهد بیان کردند (مهدوی[15] و همکاران، ۲۰۱۴).

استفاده از محرک‌های زیستی یکی از راهکارهای کاهش اثرات تنش‌های زیستی و غیرزیستی و افزایش

[1] Daneshvar and Khajoei-Nejad
[2] Arslan and Kucuk
[3] Patade
[4] Soltani
[5] Kaya
[6] Ibrahim
[7] Seyed-sharifi and Seyed-sharifi
[8] Fathi-Amirkhiz
[9] Agrawal
[10] Naderi Zarnaghi
[11] Afkari
[12] Vyas and Kumar
[13] Ghanati and Rahmati
[14] Erdal and Dumlupinar
[15] Mahdavi

عملکرد و کیفیت محصول است. این ترکیبات خواص تحریک کننده دارند که می‌توانند سازوکارهای دفاعی گیاه در برابر تنش‌ها را القا کنند (گورنیک[1] و همکاران، ۲۰۰۸). پیش تیمار بذر یک روش معمول برای افزایش درصد، سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی و سبز شدن بذر تحت شرایط نامساعد محیطی می‌باشد. پیش تیمار بذرها با استفاده از مواد مختلف می‌تواند مقاومت در برابر تنش را افزایش دهد (پاتادی و همکاران، ۲۰۱۱).

جیبرلین یکی از هورمون‌های تنظیم‌کننده رشد گیاهی است که اثرهای متعددی بر رشد و توسعه گیاه دارد. از جمله این اثرات می‌توان به جوانه زدن بذر، رشد و توسعه برگ، رشد ساقه، تحریک گل‌دهی، رشد و توسعه اجزای گل و نیز رشد و توسعه میوه اشاره نمود. چنین ترکیباتی برای رشد، نمو و علامت‌دهی تنش‌ها و همچنین توسعه شبکه دفاعی بسیار مهم و ضروری هستند و قادرند فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه را به شکل افزایشی یا کاهشی تحت تأثیر قرار دهند (کایا[2] و همکاران، ۲۰۰۹). پیش‌تیمار بذر با جیبرلین سبب بهبود مؤلفه‌های جوانه‌زنی گیاهچه کلزا تحت شرایط تنش شوری شد (لاری یزدی[3] و همکاران، ۲۰۰۹).

اسید آسکوربیک یکی از فراوان‌ترین آنتی‌اکسیدان‌ها در سلول‌های گیاهان عالی است و در اکثر سلول‌های گیاهی در اندامک‌هایی نظیر کلروپلاست و میتوکندری وجود دارد (دی تولو[4] و همکاران، ۲۰۰۴). اسید آسکوربیک با افزایش توانایی آنتی اکسیدانی گیاه، خسارات ناشی از تنش خشکی را کم می‌کند، به طوری که از یک طرف موجب تغییر چرخه سلولی و تحریک تقسیم سلولی گیاهان می‌شود و از طرف دیگر رشد طولی و گسترش سلولی را امکان پذیر می‌سازد (لاولور[5]، (لاولور[5]، ۲۰۰۲). به علاوه مشخص شده است که اسید آسکوربیک مجموعه‌ای از نقش‌ها را در رشد گیاهان مانند تقسیم و بزرگ شدن سلول، توسعه دیواره سلولی و دیگر فرآیندهای نموی را بازی می‌کند (قادری[6] و همکاران، ۲۰۱۰). استفاده از اسید آسکوربیک به عنوان پیش‌تیمار بذر، سبب افزایش برخی از شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه پنج گونه کلزا تحت شرایط تنش خشکی شد (چانویی[7] و همکاران، ۲۰۱۶).

اثرهای مفید پیش‌تیمار بذر در شرایط تنش خشکی درگیاهان زیادی همچون آفتابگردان (کایا و همکاران، ۲۰۰۶)، زیره (رحیمی[8]، ۲۰۱۳) و بالنگوی سیاه (مرادیان[9] و همکاران، ۲۰۱۷) به اثبات رسیده است.

با توجه مطالب فوق، تحقیق حاضر به منظور بررسی اثر پیش‌تیمار اسید جیبرلیک و اسید آسکوربیک بر خصوصیات جوانه‌زنی و آنزیمی بذرهای گلرنگ تحت شرایط تنش خشکی و انتخاب بهترین روش پیش‌تیمار بذر اجرا گردید.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه ولایت شهرستان ایرانشهر در سال ۱۳۹۹ انجام شد. عامل اول در سه سطح پیش تیمار بذر شامل شاهد (آب مقطر)، اسید جیبرلیک (با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و اسید آسکوربیک (با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و عامل دوم در چهار سطح تنش خشکی صفر، ۳-، ۶- و ۹- بار بود. برای ایجاد سطوح مختلف پتانسیل آب از پلی‌اتیلن گلایکول ۶۰۰۰ استفاده شد. مقدار لازم از این ماده جهت ایجاد هر یک از سطوح تنش با استفاده از رابطه ۱ برآورد شد (میشل و کافمن[10]، ۱۹۷۳).

رابطه (۱)

$$\psi s = -(1/18\times10^{-2})C - (1/18\times10^{-4})C^2 + (2/67\times10^{-4})CT + (8/39\times10^{-7})C^2$$

$\psi s$: پتانسیل اسمزی (بار)؛ T: دما درجه سلسیوس و C: غلظت (گرم بر لیتر)

بذرهای مورد استفاده گلرنگ رقم صفه و از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. بذرها ابتدا با آب معمولی و آب مقطر شستشوی سطحی و سپس توسط محلول

[1] Gornik
[2] Kaya
[3] Lari Yazdi
[4] De Tullio
[5] Lawlor
[6] Ghaderi
[7] Channaoui
[8] Rahimi
[9] Moradian
[10] Michel and Kaufman

هیپوکلریت سدیم ۱ درصد برای ۳۰ ثانیه ضد عفونی و در پایان دو مرتبه با آب مقطر شست و شو داده شدند (یلیور و هنناچی[1]، ۲۰۱۲). پتری‌ها هم توسط محلول هیپو کلریت سدیم کاملاً ضد عفونی و در ادامه بذرها در محلول‌های مختلف پیش تیمار آب مقطر، اسید جیبرلیک و اسید آسکوربیک به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفته و سپس ۱۲ ساعت در سایه خشک شدند (مرادی[2] و همکاران، ۲۰۱۰). تعداد ۲۵ بذر برای هر پیش‌تیمار جداگانه روی کاغذ صافی داخل پتری‌هایی با قطر ۱۲ سانتی‌متر درون ژرمیناتور در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و محیط تاریک منتقل و به مدت ۱۴ روز تعداد بذرهای جوانه‌زده شمارش شد (ایستا[3]، ۲۰۱۰). به منظور کاهش کاهش میزان تبخیر، درب پتری‌ها به وسیله نوار پارا فیلم بسته شد. بذرهای جوانه‌زده در روز دوم به صورت روزانه در ساعتی معین شمارش و میزان جوانه‌زنی ثبت شد. مبنای جوانه‌زنی خروج ریشه‌چه به اندازه ۲ میلی‌متر بود (آلوارنگا و مارکوس فیلو[4]، ۲۰۱۴). در طول طول آزمایش بر حسب نیاز آب مقطر در محلول مخصوص هر ظرف به میزان محاسبه شده اضافه شد. سپس صفات مورد بررسی شامل

درصد جوانه‌زنی از رابطه ۲ (در پایان دوره آزمایش ۱۴ روز و خروج ریشه‌چه به عنوان معیار جوانه‌زنی بذور) (اسکات[5] و همکاران، ۱۹۸۴).

$$GP= (n\times100) / N$$ رابطه (۲)

سرعت جوانه‌زنی از رابطه ۳ (پاگتر[6] و همکاران، ۲۰۰۹).

$$GR=\Sigma ni / ti$$ رابطه (۳)

ضریب آلومتری از رابطه ۴ (ابراهیمی[7] و همکاران، ۲۰۱۳).

$$CA=Ls/ Lr$$ رابطه (۴)

شاخص بنیه گیاهچه از رابطه ۵ (عبدالباقی و اندرسون[8]، ۱۹۷۳).

$$SV=Lp \times GP/100$$ رابطه (۵)

**n:** مجموع کل بذرهای جوانه‌زده در پایان آزمایش، **N:** کل بذرهای کاشته شده، ti: تعداد روزهای پس از جوانه زنی، ni: تعداد بذرهای جوانه زده درti، Ls: طول ساقه‌چه، Lr: طول ریشه‌چه، Lp: مجموع طول ساقه‌چه و ریشه‌چه (میلی‌متر)

میانگین طول ریشه‌چه و میانگین طول ساقه‌چه نیز اندازه‌گیری شد.

به منظور اندازه‌گیری صفات آنزیمی نمونه‌گیری از گیاهچه‌های رشد کرده بعد از شماره‌گذاری در داخل نیتروژن مایع جهت انتقال به یخچال۸۰- درجه سلسیوس برای انجام آزمایشات مربوطه نگهداری گردید. صفات اندازه‌گیری شده شامل فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش قناتی[9] و همکاران (۲۰۰۲) بود. بدین ترتیب که ۰/۰۲ گرم از بافت تازه منجمد شده در نیتروژن مایع در بافر پتاسیم فسفات ۰/۰۲ مولار، pH=۶/۸ در دمای ۰- ۴ درجه سلسیوس سائیده و عصاره‌گیری شد و سپس همگن حاصل در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۰- ۴ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و محلول رویی جهت اندازه‌گیری فعالیت پراکسیداز مورد استفاده قرار گرفت. فعالیت آنزیمی با افزودن مقادیر مناسب از عصاره آنزیمی، بافر، گایاکول با غلظت نهایی ۲۸ میلی‌مولار و پراکسید هیدروژن با غلظت نهایی ۵ میلی‌مولار در طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر خوانده و فعالیت آنزیمی به ازای تغییرات جذب به میلی‌گرم پروتئین در دقیقه بیان شد. فعالیت آنزیم آسکوربیک پراکسیداز (APX) به روش ناکانو و آسادا[10] (۱۹۸۱) اندازه‌گیری شد. ۳ میلی‌لیتر محلول واکنش آسکوربات پراکسیداز شامل بافر فسفات (pH=۷) ۵۰ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ۰/۵ میلی‌مولار، $H_2O_2$ ۰/۱ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر آنزیم استخراجی بود. فعالیت APX با کاهش جذب اسید آسکوربیک طی ۱ دقیقه در ۲۹۰ نانومتر محاسبه شد. ۱ واحد فعالیت APX به عنوان مقدار آنزیم لازم برای اکسید کردن ۱ میلی‌مولار اسید آسکوربیک در هر دقیقه در نظر گرفته شد. فعالیت آنزیم‌ها به صورت فعالیت ویژه

[1] Elouaer and Hannachi
[2] Moradi
[3] International Seed Testing Association
[4] Alvarenga and Marcos-Filho
[5] Scott
[6] Pagter
[7] Ebrahimi
[8] Abdul-Baki and Anderson
[9] Ghanati
[10] Nakano and Asada

(میلی‌گرم وزن تازه برگ/ واحد آنزیم) بیان شد. فعالیت آنزیم کاتالاز به روش چانس و مهلی[1] (۱۹۵۵) اندازه-گیری شد. بدین منظور ابتدا یک میلی‌لیتر بافر استات پتاسیم pH=۶/۷ در کووت ریخته و به آن به نسبت مساوی پراکسید هیدروژن ۰/۰۳ مولار و عصاره گیاه به میزان ۱۷/۶ میکرولیتر اضافه شد. محلول حاصله بهم زده و میزان جذب نوری آن در طول موج ۲۶۰ نانومتر به‌مدت چهار دقیقه و به فواصل ۱۵ ثانیه قرائت شد. برای اعداد قرائت شده منحنی فعالیت رسم شد تا از خطی بودن فعالیت آنزیم اطمینان حاصل شود و از روی میزان جذب نوری نمونه، میزان فعالیت آنزیم تعیین شد. فعالیت آنزیم سوپر اکسیداز دیسموتاز به روش سایرام[2] و همکاران (۱۹۹۸) محاسبه شد. این روش واکنشی پیچیده بر اساس کربنات، سدیم، متیونین EDTA، بافر فسفات پتاسیم، آب مقطر و آنزیم استخراجی است. واکنش با اضافه کردن ریبوفلاوین آغاز و پس از توقف واکنش میزان جذب نمونه در ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت شد و سنجش پروتئین به روش بردفورد[3] (۱۹۷۶) انجام شد. بدین منظور یک میلی‌لیتر از محلول بردفورد به همراه ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی پس از مخلوط شدن کامل، در دستگاه اسپکتوفتومتر قرار داده شد و جذب محلول در طول موج ۵۹۵ نانومتر ثبت شد. غلظت پروتئین بر حسب میلی‌گرم بر گرم بافت تازه با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شد. در این آزمایش از دستگاه اسپکتوفتومتر مدل Perkin Elmer- Lambda 25 ساخت آمریکا استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS[4]، مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel استفاده شد.

## نتایج و بحث

### مؤلفه‌های جوانه‌زنی

اثرات ساده تنش خشکی و پیش‌تیمار بذر بر صفات درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، میانگین طول ریشه‌چه، میانگین طول ساقه‌چه و شاخص بنیه گیاهچه معنی‌دار شد، اما هیچکدام از اثرات ساده بر صفت ضریب آلومتری معنی‌دار نشد. همچنین برهمکنش تنش خشکی و پیش‌تیمار بذر برای صفت سرعت جوانه‌زنی، معنی‌دار شد، اما در صفات درصد جوانه‌زنی، میانگین طول ریشه‌چه، میانگین طول ساقه‌چه، ضریب آلومتری و شاخص بنیه گیاهچه معنی‌دار نشد (جداول ۱).

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین درصد جوانه‌زنی مربوط به سطوح خشکی ۳- بار بود که با سطح بدون تنش اختلاف معنی‌داری نداشت و کمترین آن در سطح خشکی ۹- بار بود که نسبت به شاهد (تنش خشکی صفر بار) ۷۳/۳۴ درصد کاهش داشت. بیشترین میزان درصد جوانه‌زنی در پیش‌تیمار با اسید جیبرلیک بود که نسبت به شاهد (پیش‌تیمار با آب مقطر) به میزان ۳۱/۱۷ درصد برتری داشت (جدول ۲). بیشترین سرعت جوانه‌زنی (۹/۶۸ بذر در روز) در تیمار عدم تنش خشکی و کاربرد اسید آسکوربیک بود که نسبت به تیمار شاهد (تنش خشکی صفر بار و پیش-تیمار با آب مقطر) ۲۶/۳۵ درصد افزایش داشت و کمترین این صفت در تیمارهای سطح خشکی ۹- بار و سه ترکیب پیش‌تیمار بذر (پیش‌تیمار با آب مقطر، اسید جیبرلیک و اسید آسکوربیک) به دست آمد که کاهش بیش از ۱۵ درصدی نسبت به تیمار شاهد (تنش خشکی صفر بار و پیش‌تیمار با آب مقطر) را داشت (شکل ۱).

بیشترین میزان طول ریشه‌چه مربوط به سطح بدون تنش با میانگین ۲/۷۶ سانتی‌متر و کمترین آن مربوط به سطح خشکی ۹- بار با میانگین ۱/۴۷ سانتی‌متر بود که با سطح ۶- بار اختلاف معنی‌داری نداشت و کاهش ۴۶/۷ درصد در مقایسه با شاهد داشت. بیشترین میانگین طول ریشه‌چه در استفاده از اسید جیبرلیک با میانگین ۲/۴۲ سانتی‌متر بود که نسبت به شاهد ۳۱/۴۱ درصد افزایش داشت و کمترین آن در پیش‌تیمار با آب مقطر با میانگین ۱/۶۶ سانتی‌متر به دست آمد. بیشترین

[1] Chance and Maehly
[2] Sairam
[3] Bradford
[4] Statistical Analysis Software

**جدول ۱.** تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف پیش تیمار و تنش خشکی بر برخی شاخص‌های جوانه‌زنی بذر گلرنگ

**Table 1.** Analysis of variance for the effect of different priming treatments on some germination indices of safflower seed under drought stress

| منابع تغییرات S.O.V | درجه آزادی df | میانگین مربعات Mean Squares | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | درصد جوانه‌زنی Germination percentage | سرعت جوانه‌زنی Germination rate | طول ریشه‌چه Radicle length | طول ساقه‌چه Plumule length | ضریب آلومتری Allometric coefficient | شاخص بنیه بذر Seed vigour index |
| خشکی (D) | 3 | 5630.5$^{**}$ | 96.74$^{**}$ | 2.77$^{**}$ | 5.04$^{**}$ | 0.55$^{ns}$ | 370563.8$^{**}$ |
| پرایمینگ (P) | 2 | 784.3$^{**}$ | 10.28$^{**}$ | 1.73$^{**}$ | 3.16$^{**}$ | 0.33$^{ns}$ | 111706.9$^{**}$ |
| D × P | 6 | 65.07$^{ns}$ | 1.55$^{*}$ | 0.03$^{ns}$ | 0.16$^{ns}$ | 0.15$^{ns}$ | 8743.8$^{ns}$ |
| خطا (Error) | 24 | 29.88 | 0.42 | 0.09 | 0.29 | 0.30 | 4292.7 |
| ضریب تغییرات (درصد) CV(%) | | 10.51 | 10.79 | 14.97 | 13.89 | 27.5 | 19.66 |

ns، * و ** به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

$^{ns}$,*and ** not significant and significant at $p<0.05$ and $p<0.01$, respectively

طول ساقه‌چه مربوط به سطح خشکی صفر بار ۴/۹۶ سانتی‌متر بود و کمترین آن در بالاترین سطح تنش خشکی ۹- بار ۳/۲۶ سانتی‌متر به دست آمد که کاهش ۳۴/۲ درصد در مقایسه با شاهد داشت. بیشترین میانگین طول ساقه‌چه در استفاده از اسید جیبرلیک ۴/۳۹ سانتی‌متر بود که افزایش ۳۳/۴ درصد در مقایسه با شاهد داشت. بیشترین حالت شاخص بنیه گیاهچه مربوط به سطح خشکی صفر بار بود و کمترین آن در سطح خشکی ۹- بار بود که کاهش ۸۳/۱ درصد در مقایسه با شاهد داشت. همچنین نتایج نشان داد که بیشترین شاخص بنیه گیاهچه مربوط به پیش‌تیمار با اسید جیبرلیک بود که نسبت به شاهد ۳۳/۶۶ درصد افزایش داشت (جدول ۲).

با افزایش محتوی پلی‌اتیلن گلایکول در محیط رشد بذر، کاهش معنی‌داری در میانگین پارامترهای جوانه‌زنی و رشد گیاهچه اتفاق افتاد. به نظر می‌رسد تنش خشکی به طور قابل توجهی از طریق سازوکارهای مختلف رشد گیاه را مختل می‌کند و بر جوانه‌زنی و متابولیسم بذر تأثیر می‌گذارد (ژانگ[1] و همکاران، ۲۰۱۲). پژوهشگران مختلف نتایج مشابهی مبنی بر اثر کاهنده تنش خشکی بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه گزارش کردند که از آن جمله می‌توان به زبرجدی[2] و همکاران (۲۰۱۲) و استادیان بیدگلی[3] و همکاران (۲۰۱۷) در گلرنگ، یزدان بیوکی[4] و همکاران (۲۰۱۰) در گندم، لو[5] و همکاران (۲۰۱۷) و لئو[6] و همکاران (۲۰۱۹) در برنج، بای[7] و همکاران (۲۰۲۰) در پنبه و ردی[8] و همکاران (۲۰۲۱) در لوبیا اشاره داشت.

پاسخ فوری یک گیاه به تنش خشکی را می‌توان با مهار سرعت جوانه‌زنی تعیین کرد (بای و همکاران، ۲۰۲۰). بر اساس همین روش، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که سرعت جوانه‌زنی به‌شدت با افزایش سطوح تنش خشکی کاهش معنی‌داری نشان داد. خسارت ناشی از تنش خشکی به جوانه‌زنی بذر بطور عمده به دلیل کاهش در جذب آب و کاهش تأمین انرژی برای بذرها، ایجاد یک سری تغییرات در متابولیسم، از جمله تجمع ROS، سیستم دفاع آنتی اکسیدانی، انتقال سیگنال هورمون و تولید تنظیم‌کننده‌های اسمزی است (شارما و ژینگ[9]، ۲۰۱۹). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که پیش-پیش‌تیمار بذر با اسید جیبرلیک به طور قابل توجهی جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های گلرنگ را در شرایط تنش و غیر تنش را افزایش داده است. یکی از دلایل مثبت بودن اثر اسید جیبرلیک، در رشد اولیه گلرنگ، احتمالاً

[1] Zhang
[2] Zabarjadi
[3] Ostadian Bidgoli
[4] Yazdan Bioki
[5] Lou
[6] Liu
[7] Bai
[8] Rady
[9] Sharma and Zheng

به دلیل تعادل نسبت هورمونی بذر و کاهش مواد بازدارنده رشد مانند اسید آبسیزیک است (رفعت‌پور[1] و همکاران، ۲۰۲۰). به طور کلی پژوهشگران بیان داشتند که پیش‌تیمار بذر روش مناسب، آسان و کم هزینه است که به عنوان یک روش متداول و با بهره‌گیری از محلول-هایی با پتانسیل‌های متفاوت اسمزی، مانند اسید جیبرلیک، برای افزایش درصد، سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی تحت شرایط تنش‌زای محیطی استفاده می-شود (عطایی سماق[2] و همکاران، ۲۰۱۵). این موضوع با یافته‌های (زارع[3] و همکاران، ۲۰۱۰) و (لی[4] و همکاران، همکاران، ۲۰۱۱) همسو بود. بر اساس نظر پژوهشگران استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی همچون اسید جیبرلیک می‌تواند تحمل به تنش خشکی را در بسیاری از گونه‌های گیاهی در مراحل مختلف رشدی بهبود ببخشد (ردی و همکاران، ۲۰۲۱). در پژوهشی رشد گیاهانی که تحت تنش قرار داشتند با استفاده از اسید جیبرلیک افزایش یافته که این امر می‌تواند به دلیل اثرات مثبت اسید جیبرلیک مثل افزایش تقسیم سلولی و طویل شدن سلولی باشد (حق‌جو و بحرانی[5]، ۲۰۱۸). جیبرلین‌ها موجب رشد طولی ساقه و ریشه در بسیاری از گیاهان می‌گردند. جیبرلین در مقایسه با اکسین در سلول‌های جوان‌تر عمل کرده و موجب تقسیم و طویل شدن سلول می‌گردد، در حالی که اکسین از طریق بهبود انبساط سلولی عمل می‌نماید (موری[6] و همکاران، ۲۰۱۸). پیش‌تیمار بذر با اسید جیبرلیک تأثیر معنی‌داری بر پارامترهای جوانه‌زنی گیاه قیچ (*Zygophyllum atriplicoides*) تحت تنش خشکی داشت. از این رو، این روش به عنوان گام امیدوارکننده‌ای برای بهبود پارامترهای جوانه‌زنی این گیاه عمل می‌کند (رفعت‌پور و همکاران، ۲۰۲۰). شاتپاتی[7] و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث کاهش میانگین زمان جوانه‌زنی در مقایسه با بذور پیش‌تیمار نشده برنج شد.

## پروتئین محلول

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساده و همچنین اثرات متقابل تنش خشکی و پیش‌تیمار روی درصد پروتئین محلول معنی‌دار شد (جدول ۳). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین درصد پروتئین محلول مربوط به تیمار سطح خشکی ۹- بار و اسید جیبرلیک بود که افزایش ۳۹/۰۱ درصد نسبت به تیمار شاهد داشت و کمترین میزان درصد پروتئین مربوط به تیمارهای سطح خشکی صفر بار و سه ترکیب پیش‌تیمار به ترتیب با میانگین ۵/۳۰، ۵/۳۱ و ۵/۳۴ درصد بود (شکل ۲).

در تنش‌های غیرزیستی از قبیل تنش خشکی، شوری، گرما و سرما بیان یکسری از پروتئین‌ها در گیاه افزایش یافته که در ایجاد سازگاری با شرایط تنش نقش مهمی دارند (اشرف و هریس[8]، ۲۰۰۴). هم راستا با یافته‌های پژوهش حاضر در آزمایشی محتوای پروتئین و فعالیت سایر آنزیم‌ها با افزایش سطح تنش در گیاه بابونه نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد (جهانبخش[9] و همکاران، ۲۰۱۸). به نظر می‌رسد که افزایش محتوی پروتئین محلول در تیمار تنش خشکی و تحت تأثیر پیش‌تیمار بذر به دلیل نقش دفاعی و حفاظتی در برابر اکسیدانت‌های سلولی باشد. علت برتری بذرهای پیش-تیمار شده در گونه‌های مختلف گیاهی نسبت به بذرهای پیش‌تیمار نشده را می‌توان چنین استنباط نمود که در ابتدا پیش‌تیمار بذر با توسعه دو مرحله از سه مرحله جوانه‌زنی یعنی از طریق کوتاه کردن مدت زمان سوخت و ساز، باعث تسریع جوانه‌زنی می‌شود (نیلسون[10]، ۲۰۰۰) و در ادامه در طی پیش‌تیمار بذر، سنتز پروتئین و DNA افزایش یافته و همچنین بر فسفولیپیدهای سلول غشایی در جنین تأثیر گذار است (بردفورد[11]، ۱۹۹۵). در مطالعه‌ای برهم‌کنش تنش شوری و اسید جیبرلیک بر خصوصیات فیزیولوژیکی ذرت بررسی و

[1] Rafatpour
[2] Ataiee Samaq
[3] Zare
[4] Li
[5] Haqjoo and Bahrani
[6] Moori
[7] Shatpathy
[8] Ashraf and Harris
[9] Jahanbakhi
[10] Nelson
[11] Bradford

**جدول ۲.** مقایسه میانگین اثر تنش خشکی و پیش‌تیمار بذر بر شاخص‌های جوانه‌زنی گیاهچه گلرنگ

**Table 2.** Comparison of means for the effect of drought stress and priming on safflower germination indices

| تیمارها Treatments | درصد جوانه‌زنی Germination percentage | طول ریشه‌چه (سانتی‌متر) Radicle length (cm) | طول ساقه‌چه (سانتی‌متر) plumule length (cm) | شاخص بنیه بذر Seed vigour index |
|---|---|---|---|---|
| تنش خشکی (بار) Drought stress(bar) | | | | |
| 0 | 70.22±10.41 a | 2.76±0.36 a | 4.96±0.77 a | 548.98±143.42 a |
| -3 | 72.67±11.14 a | 2.13±0.43 b | 3.84±0.53 b | 442.07±130.11 b |
| -6 | 46.0±9.59 b | 1.76±0.51 c | 3.51±0.75 bc | 249.01±94.83 c |
| -9 | 19.11±3.18 d | 1.47±0.4 c | 3.26±0.58 c | 92.33±29.54 d |
| پیش‌تیمار بذر Seed priming | | | | |
| شاهدControl | 44±19.15 c | 1.66±0.55 c | 3.36±0.74 c | 237.62±137.92 c |
| اسید جیبرلیک Gibberellic acid | 60.17±25.25 a | 2.42±0.53 a | 4.39±0.93 a | 430.56±232.03 a |
| اسید آسکوربیک Ascorbic acid | 51.83±25.15 b | 2.01±0.62 b | 3.93±0.83 b | 331.12±205.76 b |

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده نداشتن اختلاف آماری در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون LSD. اعداد + و – خطای معیار هستند.

Similar letters in each column represent the lack of significance at $p<0.05$ based on the LSD test. The numbers + and - are standard errors

**جدول ۳.** تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف پیش‌تیمار بذر و تنش خشکی بر پروتئین محلول و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت گیاهچه گلرنگ

**Table 3.** Analysis of variance for the effect of different priming treatments of soluble protein and antioxidant enzyme activity in safflower seedlings under drought stress

| منابع تغییرات S.O.V | درجه آزادی df | میانگین مربعات Mean Squares | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | پروتئین محلول Soluble protein | فعالیت سوپراکسید دیسموتاز SOD activity | فعالیت کاتالاز CAT activity | فعالیت پراکسیداز POD activity | فعالیت آسکوربات پراکسیداز APX activity |
| خشکی (D) | 3 | $14.14^{**}$ | $0.082^{**}$ | $5.19^{**}$ | $0.41^{**}$ | $45.18^{**}$ |
| پرایمینگ (P) | 2 | $2.54^{**}$ | $0.066^{**}$ | $5.32^{**}$ | $0.098^{*}$ | $2.83^{ns}$ |
| D × P | 6 | $2.44^{**}$ | $0.005^{ns}$ | $2.39^{**}$ | $0.062^{*}$ | $19.90^{**}$ |
| خطا (Error) | 24 | 0.22 | 0.009 | 0.12 | 0.020 | 4.52 |
| ضریب تغییرات (درصد) CV(%) | | 6.88 | 18.80 | 23.93 | 11.11 | 24.32 |

ns، * و ** به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد۳

$^{ns}$,*and ** not significant and significant at $p<0.05$ and $p<0.01$, respectively.

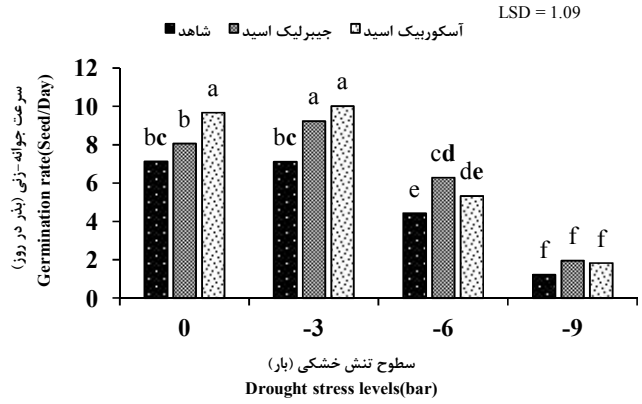
**جدول ۴.** مقایسه میانگین اثر تنش خشکی و پیش‌تیمار بر فعالیت سوپراکسید دیسموتاز گیاهچه گلرنگ

**Table 4.** Mean comparison for the effect of drought stress and priming on SOD activity in safflower seedling

| تیمارها Treatments | فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (واحد آنزیم بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) SOD activity (ΔA mg pro) |
|---|---|
| تنش خشکی (بار) Drought stress(bar) | |
| 0 | 0.43±0.08 c |
| -3 | 0.47±0.08 bc |
| -6 | 0.53±0.11 b |
| -9 | 0.65±0.16 a |
| پیش‌تیمار بذر Seed priming | |
| شاهد Control | 0.6±0.15 a |
| اسید جیبرلیکGibberellic acid | 0.46±0.12 b |
| اسید آسکوربیک Ascorbic acid | 0.5±0.11 b |

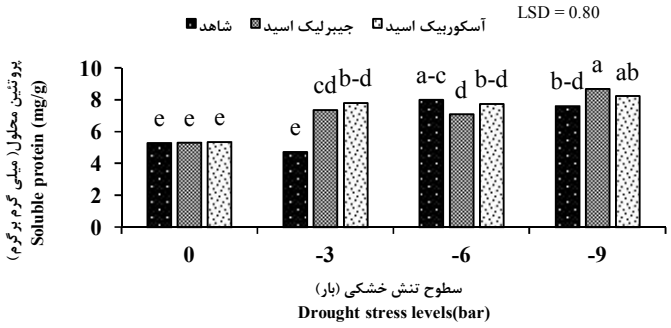
حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده نداشتن اختلاف آماری در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون LSD. اعداد + و – خطای معیار هستند.

Similar letters in each column represent the lack of significance at $p<0.05$ based on the LSD test. The numbers + and - are standard errors




**شکل ۱.** مقایسه میانگین برهم‌کنش تنش خشکی و پیش‌تیمار بذر برای سرعت جوانه‌زنی بذر گلرنگ

**Fig. 1.** Mean comparison for the interaction of drought stress and seed priming on the germination rate of safflower seed




**شکل ۲.** مقایسه میانگین برهم‌کنش تنش خشکی و پیش‌تیمار بذر برای پروتئین محلول گیاهچه گلرنگ

**Fig. 2.** Mean comparison for the interaction of drought stress and seed priming on soluble proteins in safflower seedling

گزارش شد که اسید جیبرلیک می‌تواند تجمع پرولین و نشت الکترولیت را کاهش دهد. بنابراین آسیب گیاهان ناشی از تنش شوری تعدیل می‌شود (تونا[1] و همکاران، ۲۰۰۸).

## فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده تنش خشکی بر فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز، آسکوربیک پراکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز معنی‌دار شد، اثر ساده پیش‌تیمار بذر بر روی فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز معنی‌دار شد، اما در آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت تأثیر پیش‌تیمار بذر قرار نگرفت. اثر متقابل تنش خشکی و پیش‌تیمار بذر بر روی صفات کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار شد، اما در آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز معنی‌دار نشد (جدول ۳). مقایسه میانگین‌ها نشان داد با افزایش تنش خشکی میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز افزایش یافته، به طوری که بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در سطح خشکی ۹- بار با میانگین ۰/۶۵ واحد آنزیم در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه به دست آمد که نسبت به شاهد (تنش خشکی صفر بار) ۳۳/۸۵ درصد افزایش داشت. مقایسه میانگین‌های اثر ساده پیش تیمار بذر نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید

[1] Tuna

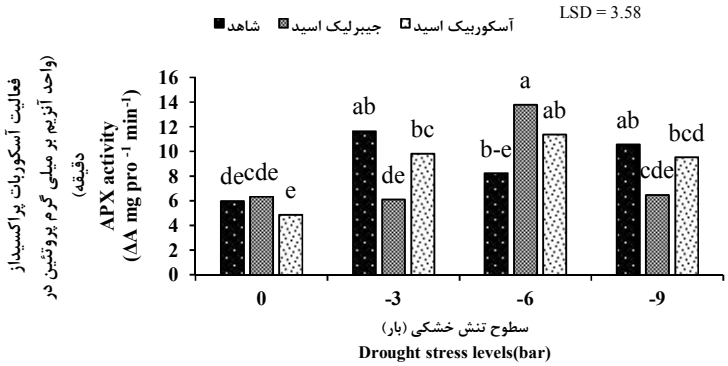
دیسموتاز در تیمار شاهد با ۰/۶ واحد آنزیم در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه به دست آمد که از برتری معنی‌دار ۳۰/۴ و ۲۰ درصدی به ترتیب نسبت به پیش تیمار بذر با اسید جیبرلیک و اسید آسکوربیک برخوردار بود (جدول ۴). بیشترین میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تیمار سطح خشکی ۶- بار و اسید جیبرلیک با میانگین ۱۳/۸۲ واحد آنزیم بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه بود که افزایش ۵۶/۵۲ درصد در مقایسه با تیمار شاهد (تنش خشکی صفر بار و پیش‌تیمار با آب مقطر) داشت و کمترین میزان این آنزیم مربوط به تیمار سطح خشکی صفر بار و اسید آسکوربیک با میانگین ۴/۸۸ واحد آنزیم بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه که نسبت به تیمار شاهد ۲۰ درصد کاهش داشت (شکل ۳).

فعالیت آنزیم کاتالاز با افزایش تنش خشکی از یک روندی سیگموئیدی برخوردار بود. به طوری که بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار سطوح خشکی ۳- و ۶- بار به ترتیب با میانگین ۲/۳۶ و ۱/۸۶ واحد آنزیم بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه و اسید جیبرلیک بود که به ترتیب افزایش ۸۱/۴ و ۷۹/۲ درصد در مقایسه با تیمار شاهد داشت و کمترین میزان این آنزیم مربوط به تیمارهای سطح خشکی صفر بار و شاهد (پیش‌تیمار با آب مقطر)، سطح خشکی ۶- بار و اسید آسکوربیک، سطح خشکی ۹- بار و پیش‌تیمار با آب مقطر و سطح خشکی ۹- بار و اسید جیبرلیک بود که از نظر آماری در یک گروه قرار گرفتند (شکل ۴). بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار سطح خشکی ۳- بار و اسید جیبرلیک به میزان ۱/۶ واحد آنزیم بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه بود که افزایش ۱۶/۲۵ درصد در مقایسه با تیمار شاهد داشت و کمترین میزان این آنزیم مربوط به تیمارهای سطح خشکی ۹- بار و سه ترکیب پیش‌تیمار و سطح خشکی ۶- بار و اسید آسکوربیک بود که نسبت به تیمار شاهد به ترتیب ۲۳/۰۸، ۳۰، ۳۰ و ۳۰ درصد کاهش داشت (شکل ۵). بای و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که تنش خشکی منجر به تجمع گونه‌های فعال اکسیژن، مالون دی آلدئید، پرولین و همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت سوپر اکسید دیسموتاز و پراکسیداز شد که هم راستا با یافته‌های پژوهش حاضر است. در نتیجه فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز، پراکسید هیدروژن تولید می‌شود که باید خیلی سریع از محیط عمل خارج شود. تغییر در فعالیت آنزیم به سطح تنش اعمال شده، گونه گیاهی و نوع آنزیم بستگی دارد. به عنوان مثال بررسی تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانت در هشت رقم کلزا در پاسخ به تنش خشکی نشان داد که فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز و پراکسیداز در پاسخ به تنش خشکی افزایش و فعالیت کاتالاز کاهش یافت (عبیدی و پاک‌نیت[1]، ۲۰۱۰). پیش‌تیمار بذر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را افزایش می‌دهد که این آنزیم‌ها هستند که منجر به کاهش فعالیت پراکسیداسیون لیپید در طی جوانه‌زنی و بنابراین افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی می‌شود (رفعت‌پور و همکاران، ۲۰۲۰؛ هسو و سونگ[2]، ۱۹۹۷).

همچنین پیش‌تیمار بذر سبب افزایش در شاخص-های مرتبط با مصرف مواد ذخیره‌ای و رشد گیاهچه می-شود که افزایش در مصرف مواد ذخیره‌ای سبب بهبود در سایر شاخص‌های جوانه‌زنی می‌شود (انصار ی[3] و همکاران، ۲۰۱۲). تنش اکسیداتیو حاصل افزایش سطح رادیکال‌های آزاد اکسیژن درون سلولی است. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت ممکن است راهی برای تحمل گیاه به تنش‌های محیطی باشد (جاندا[4] و همکاران، ۱۹۹۹). افزایش سطح فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در تیمار تنش خشکی و تحت تأثیر پیش-تیمار بذر به دلیل نقش دفاعی و حفاظتی در برابر اکسیدانت‌های سلولی باشد، به‌علاوه این افزایش سطح فعالیت، مانع از پراکسید شدن چربی‌های غشاء سلولی تحت شرایط خشکی می‌گردد. در مطالعه‌ای اثرات متقابل تنش شوری و اسید جیبرلیک بر خصوصیات فیزیولوژیکی ذرت بررسی و گزارش دادند که اسید جیبرلیک می‌تواند تجمع پرولین و نشت الکترولیت را کاهش دهد. همچنین با تأخیر در کاهش فعالیت آنزیم-های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز آسیب گیاهان ناشی از تنش شوری تعدیل می‌شود (تونا و همکاران، ۲۰۰۸).

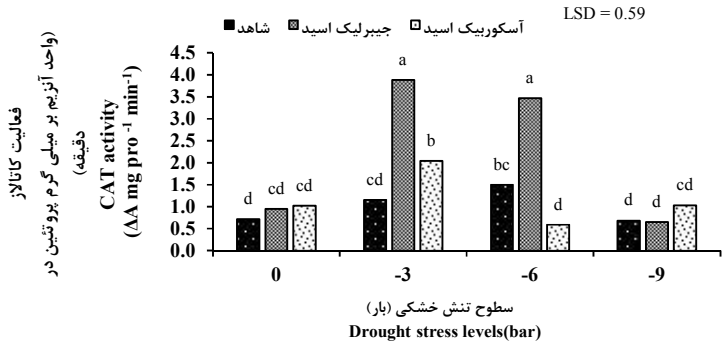
[1] Abedi and Pakniat
[2] Hsu and Sung
[3] Ansari
[4] Janda

همچنین افزایش در شاخص‌های جوانه‌زنی با افزایش در فعالیت آنزیم‌ها و پروتئین در ارتباط می‌باشد. به بیان دیگر پیش‌تیمار بذر با افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در بذر، سبب مقاومت تحت شرایط تنش می‌شود و افزایش در شاخص‌های جوانه‌زنی را به همراه دارد (انصاری و همکاران، ۲۰۱۳).



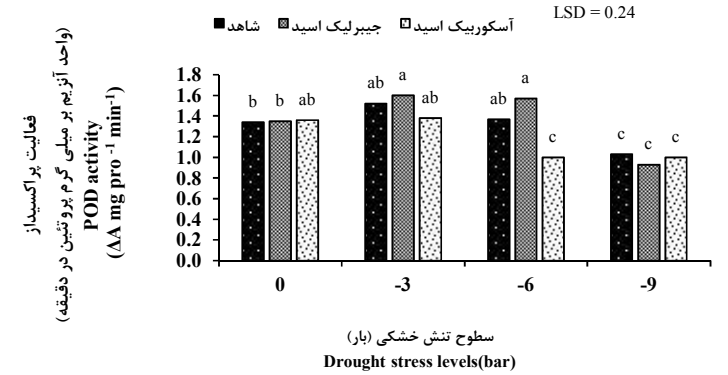

**شکل ۳.** مقایسه میانگین برهم‌کنش تنش خشکی و پیش‌تیمار بذر برای میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز گیاهچه گلرنگ

**Fig. 3.** Mean comparison for the interaction of drought stress and seed priming on ASC-POX activity in safflower seedling




**شکل ۴.** مقایسه میانگین برهم‌کنش تنش خشکی و پیش‌تیمار بذر برای میزان فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه گلرنگ

**Fig. 4.** Mean comparison for the interaction of drought stress and seed priming on CAT activity in safflower seedling




**شکل ۵.** مقایسه میانگین برهم‌کنش تنش خشکی و پیش‌تیمار بذر برای میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهچه گلرنگ

**Fig. 5.** Mean comparison for the interaction of drought stress and seed priming on peroxidase activity in safflower seedling

## نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد تنش خشکی اثرات منفی بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه گلرنگ داشت. تنش خشکی منجر به تغییر فعل و انفعالات آنزیم‌های آنتی اکسیدانت شد. پیش‌تیمار بذر در مقایسه با بذرهای بدون پیش‌تیمار، منجر به افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه و تغییر فعالیت آنزیمی از جمله کاتالاز، پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز و غیره شد. از بین روشهای پیش‌تیمار، کاربرد اسید جیبرلیک از برتری معنی‌داری برخوردار بود. به طور کلی، پرایمینگ بذرهای گلرنگ با استفاده از اسید جیبرلیک منجر به تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت شده و این فعل و انفعالات در نهایت موجب تعدیل اثرات منفی تنش خشکی و افزایش پارامترهای جوانه‌زنی گردید.

## منابع

Abdul Baki, A.A. and Anderson, J.D. 1973. Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. Crop Science, 13: 630-633. https://doi.org/10.2135/cropsci1973.0011183X001300060013x

Abedi, T. and Pakniat, H. 2010. Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivars of oilseed rape (*Brassica napus* L.). Czech Journal of Genetics and Plant Breeding, 46(10): 27-34. https://doi.org/10.17221/67/2009-CJGPB

Afkari, A. 2017. Effect of seed priming on germination characteristics and some antioxidant enzymes activity of Basil (*Ocimum basilicum* L.) under drought stress conditions. Developmental Biology, 9(3): 33-44. [In Persian with English Summary].

Agrawal, S., Sairam, P.K., Srivasta, G.C. and Meena, R.C. 2005. Changes in antioxidant enzymes activity and oxidative stress by abscisic acid and salicylic acid in wheat. Biologia Plantarum, 49(4): 541-550. https://doi.org/10.1007/s10535-005-0048-z

Alvarenga, R.O. and Marcos-Filho, J. 2014. Vigor evaluation of stored cotton seeds, including the Seed Vigor Imaging System (SVIS). Journal of Seed Science, 36: 222-230. https://doi.org/10.1590/2317-1545v32n2944

Ansari, O., Azadi, M.S., Sharif-Zadeh, F. and Younesi, E. 2013. Effect of hormone priming on germination characteristics and enzyme activity of mountain rye (*Secale montanum*) seeds under drought stress conditions. Journal of Stress Physiology and Biochemistry 9(3): 61-71.

Ansari, O., Choghazardi, H.R., Sharif Zadeh, F. and Nazarli, H. 2012. Seed reserve utilization and seedling growth of treated seeds of mountain rye (*Secale Montanum*) as affected by drought stress. Cercetări Agronomice în Moldova, 2: 43-48. https://doi.org/10.2478/v10298-012-0013-x

Arslan, B. and Kucuk, M. 2005. Oil content and fatty acid composition of some safflowers cultivars in Van (Turkey). Proceedings of the 6th International safflower Conference, Istanbul, Turkey, 6-11 June: 167-174.

Ashraf, M. and Harris, P. 2004. Potenial biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant Science, 166: 3-16. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2003.10.024

Ataiee Samaq, H., Omidi, H., Aghighi Shahverdi, M. and Mohabeli, M. 2015. The effect of gibberellic acid and abscisic acid on germination indices of medicinal plant Securigera (*Securigera securidaca* L.) under salinity stress. Journal of Seed Research, 5(4): 21-33. [In Persian with English Summary].

Bai, Y., Xiao, S., Zhang, Z., Zhang, Y., Sun, H., Zhang, K., Wang, X., Bai, Z., Li, C. and Liu, L. 2020. Melatonin improves the germination rate of cotton seeds under drought stress by opening pores in the seed coat. Peer J Computer Science, 8: e9450. https://doi.org/10.7717/peerj.9450

Bradford, K.J. 1995. Water relation in seed germination. In: Kigel, J. and Galili, G. (eds.), Seed development and germination. Marcel Dekker, Inc, New York, 351-396. https://doi.org/10.1201/9780203740071-13

Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Annual Review Biochemistry, 72: 248-254. https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3

Chance, B. and Maehly, A.C. 1955. Assay of catalase and peroxidases. Methods in Enzymology, 2: 764-765. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(55)02300-8

Channaoui, S., Elkahkahi, R., Mazouz, H., Charafi, J., El-Fechtali, M. and Nabloussi, A. 2016. Study of the effect of drought stress on germination and seedlings growth of five varieties of rapeseed (*Brassica napus* L.). Jahorina, Bosnia and Herzegovina. Proceedings, 990-995.

Daneshvar, F. and Khajoei-Nejad, G. 2015. Study of bio-fertilizers application effects on yield potential and yield components of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars under different irrigation regimes. Iranian of Irrigation and Water Engineering, 4: 59-69. [In Persian with English Summary].

De Tullio, M.C., Paciolla, C., Dalla Vecchia, F., Rascio, N., Gemerico, S., De garal Liso, R. and Arrigoni, O. 2004. Changes in onion root development induced by the inhibition of peptidyl-proly1 hydroxylase and influence of the ascorbate system on cell division and elongation. Planta, 209: 424-434. https://doi.org/10.1007/s004250050745

Ebrahimi, O., Esmaili, M.M., Sabori, H. and Tahmasebi, A. 2013. Effect of salinity and drought stress on germination two species of Tall Wheatgrass (*Agropyron elongatum*, *Agropyron desertrum*). Desert Ecosystem Engineering Journal, 1(1): 31-38. [In Persian with English Summary].

Elouaer, M.A. and Hannachi, C. 2012. Seed priming to improve germination and seedling growth of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under salt stress. Eurasian Journal of Bio Sciences, 6(1): 76-84. https://doi.org/10.5053/ejobios.2012.6.0.9

Erdal, S. and Dumlupinar, R. 2011. Mammalian sex hormones stimulate antioxidant system and enhance growth of chickpea plants. Acta Physiologiae Plantarum, 33(3): 1011-1017. https://doi.org/10.1007/s11738-010-0634-3

Fathi-Amirkhiz, K., Amini, M., Modares-Sanavi, A.M., Reza-Zadeh, A. and Heshmati, S. 2011. Effect of iron application on enzymic activity, grain yield and oil content of Safflower under water deficit conditions. Iranian Journal of Crop Sciences, 13(3): 452-465. [In Persian with English Summary].

Ghaderi, N., Talaei, A., Ebadi, A. and Lesani, H. 2010. Study of some physiological characteristics in sahani', 'bidane-sefid' and 'farkhii' grapes during drought stress and their subsequent recovery. Iranian Journal of Horticultural Sciences, 41(2): 179-188. [In Persian with English Summary].

Ghanati, F. and Rahmati, I.M. 2006. Improvement of antioxidant system and decrease of lignin by nickel treatment in tea plant. Journal of Plant Nutrition, 29: 1649-1661. https://doi.org/10.1080/01904160600851536

Ghanati, F., Morita, A. and Yokota, H. 2002. Induction of suberin and increase of lignin content by excess Boron in Tabacco cell. Soil Science and Plant Nutrition, 48(3): 357-364. https://doi.org/10.1080/00380768.2002.10409212

Gornik, k., Grzesik, M. and Duda, B.R. 2008. The effect of chitosan on rooting of grapevine cuttings and on subsequent plant growth under drought and temperature stress. Journal of Fruit and Ornamental Plant Research, 16: 333-343.

Haqjoo, M. and Bahrani, A. 2018. The effect of Salicylic and Gibberellic acid pretreatments on the accumulation of some ions and germination indices in canola under salinity stress, Journal of Plant Production Science, 8(1): 23-34. [In Persian with English Summary].

Hsu, J. and Sung, J. 1997. Antioxidant role of glutathione associated with accelerated aging and hydration of triploid watermelon seeds. Physiologia Plantarum, 100: 967-974. https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1997.1000424.x

Ibrahim, M, Zeid, N. and El-semary, A. 2001. Response of two differentially drought tolerant varieties of maize to drought stress. Pakistan Journal of Biological Sciences, 4(7): 779-784. https://doi.org/10.3923/pjbs.2001.779.784

International Seed Testing Association. 2010. International rules for seed testing. Seed Science and Technology. The Seed Technologist Newsletter.

Jahanbakhsh, S., Parmoon, GH. and Joudi, Z. 2018. Effect drought and salt stress on germination, establishment and antioxidant enzyme activity different ecotypes chamomile (*Matricaria chamomilla* L). Journal of Plant Physiology, 8(30): 1-19.

Janda, T., Szalai, G., Tari, I. and Paldi, E. 1999. Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (*Zea mays* L.) plants. Journal Plants, 208: 175-180. https://doi.org/10.1007/s004250050547

Kaya, C., Tuna, A.L. and Yokas, I. 2009. The role of plant hormones in plants under salinity stress. In: Ashraf, M., Ozturk, M. and Athar, HR. (eds.). Salinity and water stress: improving crop efficiency. Springer, Berlin.

Kaya, M.D., Okçu, G., Atak, M., Cıkılı, Y. and Kolsarıcı, O. 2006. Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). European Journal of Agronomy, 24(4): 291-295. https://doi.org/10.1016/j.eja.2005.08.001

Lari Yazdi, H., Amiri, H. and Lak, R. 2009. Study of interaction effects between gibberellic acid and ascorbic acid on germination percentage and rate on two cultivars of rapeseed (*Brassica napus* L.) (RGS & Hayola401) in different concentrations of NaCl. Journal of Biology, 2(4): 45-50. [In Persian with English Summary].

Lawlor, D.W. 2002. Limitation to photosynthesis in water stressed leaves: stomata vs. metabolism and the role of ATP. Annals of Botany, 89(7): 871-885. https://doi.org/10.1093/aob/mcf110

Li, J., Yin, L., Jongsma, M. and Wang, C. 2011. Effects of light, hydropriming and abiotic stress on seed germination, and shoot and root growth of pyrethrum (*Tanacetum cinerariifolium*). Industrial Crops and Products, 34: 1543-1549. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.05.012

Liu, J., Hasanuzzaman, M., Wen, H., Zhang, J., Peng, T., Sun, H. and Zhao, Q. 2019. 'High temperature and drought stress cause abscisic acid and reactive oxygen species accumulation and suppress seed germination growth in rice'. Protoplasma, 256: 1217-1227. https://doi.org/10.1007/s00709-019-01354-6

Lou, D., Wang, H., Liang, G. and Yu, D. 2017. OsSAPK2 confers abscisic acid sensitivity and tolerance to drought stress in rice. Frontiers in Plant Science, 8: 993. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00993

Mahdavi, B., Modarres Sanavy, S.A.M., Aghaalikhani, M. and Sharifi, M. 2014. Effect of chitosan on safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Seed germination and antioxidant enzymes activity under water stress. Journal of Plant Research, 26: 352-365. [In Persian with English Summary].

Michel, B.E. and Kaufman, M.R. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. Plant Physiology, 51: 914-916. https://doi.org/10.1104/pp.51.5.914

Moori, S., Eisvand, H.R., Ismaili, A. and Sasani, Sh. 2018. Effects of seed preparation with gibberellic acid and brassinosteroid on germination indices and physiological traits after

accelerated aging. Iranian Journal of Seed Science and Technology, 7(2): 183-193. [In Persian, with English Summary].

Moradi, A., Sharifzadeh, F., Tavakol Afshari, R. and Ma'ali Amiri, R. 2010. Effect of pretreatment on germination and seedling growth of tall wheatgrass under optimal moisture and drought stress conditions. Journal of Range Research, 4(3): 462-473. [In Persian, with English Summary].

Moradian, Z., Omidi, H., Karimi, T., Azadbakht, F. and Bazkani, R. 2017. The effect of hormonal pretreatment on germination and seedling growth indices of urban Balengo (*Lallemantia iberica* Fisch. & C.A. Mey) under drought stress. Seed Research, 7: 21-29.

Naderi Zarnaghi, R., Valizadeh, M. and Fotovat, R. 2014. Electrophoretic analysis of antioxidant enzymes activity under drought stress in winter wheat genotypes at tillering stage. Cereal Research, 4(3): 185 -197. [In Persian with English Summary].

Nakano, Y. and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant and Cell Physiology, 22: 867-880.

Nelson, C.P. 2000. Water potential: The key to successful seed priming. Decagon Devices, Inc. AN4101- 10.

Ostadian Bidgoli, R., Balouchi, H., Soltani, E. and Moradi, A. 2017. Effects of temperature and water potential on seed germination characteristics in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) sofeh var. Iranian Journal of Seed Science and Technology, 6(1): 11-22. [In Persian with English Summary].

Pagter, M., Bragato, C., Malagoli, M. and Brix, H. 2009. Osmotic and ionic effects of NaCl and $Na_2SO_4$ salinity on Phragmites australis. Aquatic Botany, 90: 43-51. https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2008.05.005

Patade, V.Y., Maya, K. and Zakwan, A. 2011. Seed priming mediated germination improvement and tolerance to subsequent exposure to cold and salt stress in capsicum. Research Journal of Seed Science, 4(3): 125-136. https://doi.org/10.3923/rjss.2011.125.136

Rady, M.M., Boriek, S.H., El-Mageed, A., Taia, A., Seif El-Yazal, M.A., Ali, E.F., Hassan, F.A. and Abdelkhalik, A. 2021. Exogenous gibberellic acid or dilute bee honey boosts drought stress tolerance in Vicia faba by rebalancing osmoprotectants, antioxidants, nutrients, and phytohormones. Journal Plants, 10: 748. https://doi.org/10.3390/plants10040748

Rafatpour, S., Shahriari, A., Saberi, M., Karvarinasab, M. and Tarnian, F. 2020. Effects of priming on germination and seedling growth of zygophyllum atriplicoides under drought stress. Journal Ecopersia, 8: 89-96. [In Persian with English Summary].

Rahimi, A. 2013. Seed priming improves the germination performance of cumin (*Cuminum syminum* L.) under temperature and water stress. Industrial Crops and Products, 42: 454- 460. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.06.026

Sairam, R.K., Desmukh, P.S. and Saxena, D.C. 1998. Role of antioxidant systems in wheat genotypes tolerant to water stress. Biologia Plantarum, 41: 387-394. https://doi.org/10.1023/A:1001898310321

Scott, S.J., Jones, R.A. and Williams, W.A. 1984. Review of data analysis methods for seed germination. Journal Crop Science, 24: 1192-1199. https://doi.org/10.2135/cropsci1984.0011183X002400060043x

Seyed sharif, R. and Seyed sharif. R. 2008. Evaluation the effects of polyethylene glycol on germination and growth seedling *Carthamus* cultivars. Journal of Biology, 21(3): 400-410. [In Persian with English Summary].

Sharma, A. and Zheng, B. 2019. Melatonin mediated regulation of drought stress: physiological and molecular aspects. Journal Plants, 8(7):190. https://doi.org/10.3390/plants8070190

Shatpathy, P., Kar, M., Dwibedi, S.K., and Dash, A. 2018. Seed priming with salicylic acid improves germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.) under PEG-6000 induced water stress. International Journal of Current Microbiology and Applied Science, 7: 907-924. https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.710.101

Soltani, A., Galeshi, S., Zeinali, E. and Latifi, N. 2001. Genetic variation for and interrelationships among seed vigor traits in wheat from the Caspian Sea coasts of Iran. Seed Science and Technology, 29: 653-662.

Tuna, A.L., Kaya, C., Dikilitas, M. and Higgs, D. 2008. The combined effects of gibberellic acid and salinity on some antioxidant enzyme activities, plant growth parameters and nutritional status in maize plants. Environmental and Experimental Botany, 62: 1-9. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.06.007

Vyas, D. and Kumar, S. 2005. Purification and partial characterization of a low temperature responsive Mn-SOD from tea (*Camellia sinensis* L.). Biochemical and Biophysical and Research Communications, 329(3): 831-838. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.02.051

Yazdan Bioki, R., Rezvani Moghad'dam, P., Kouchaki, A., Behzad Amiri, M., Falahi, J. and Deyhim Fard, R. 2010. Effect of different nutrition of wheat (cv. Sayonez) on its germination indices and seedling growth under drought stress and biological muck. Journal of Agroecology, 2(2): 266-276. [In Persian, with English Summary].

Zabarjadi, A., Soheilikhah, J., Ghasempour, H.R. and Visipour, A. 2012. Effect of drought-induced stress by peg6000 on physiological and morphological traits of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seed germination in order to selection of drought tolerant genotypes. Iranian Journal of Biology, 25(2): 252-263. [In Persian, with English Summary].

Zare, S., Tavili, A., Shahbazi, A. and Riyahi, A. 2010. The effect of different salicylic acid concentrations on improved germination characteristics of Salad burnet (*Sanguisorba minor* L.) under salt and drought stress. Journal of Range and Watershed Management, 63: 29-40.

Zhang, N., Zhao, B., Zhang, H.J., Weeda, S., Yang, C., Yang, Z.C., Ren, S. and Guo, Y.D. 2012. Melatonin promotes water stress tolerance, lateral root formation, and seed germination in cucumber (*Cucumis sativus* L.). Journal of Pineal Research, 54: 15-23. https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2012.01015.x

Iranian Journal of Seed Research, 2023, 9(2): 17-33

Research Article

# Effect of seed priming on some germination indices and enzymatic activity of safflower (*Carthamus tinctorius*) seedling under drought stress in vitro

**Mansoor Barahouei[1], Seyed Gholamreza Moosavi[2*], Mohamad Javad Seghatoleslami[2], Reza Baradaran[2], Seyed Mahdi Javadzadeh[3]**

**Extended Abstract**

**Introduction:** Safflower is a plant that has been considered due to its high medicinal and nutritional value, especially in the extraction of edible oils in developed countries. Drought is one of the most important harmful factors in arid and semi-arid regions of the world that affects plant production. Modifiers play an important role in plant adaptation to stress conditions. Among these compounds are the hormone gibberellic acid and the antioxidant ascorbic acid, which increase plant tolerance to adverse environmental conditions. The present study investigated the effect of gibberellic acid and ascorbic acid on seed germination parameters and some enzymatic indices of safflower under drought stress.

**Materials and Methods:** The experiment was conducted as a factorial based on a completely randomized design with three replications in the Agricultural Science Laboratory of Iranshahr University in 2020. Experimental treatments included three levels of control (pretreatment with distilled water), pretreatment with gibberellic acid and ascorbic acid, and four levels of drought stress (0, -3, -6, and -9 bar). Drought stress was applied using polyethylene glycol 6000. Seed germination was carried out inside a germinator at 25 $^{\circ}$ C for 14 days in darkness. Germination traits and enzymatic indices were measured using standard methods.

**Results:** The results of variance showed that most germination and growth indices of safflower seedlings decreased with increasing drought stress .Also, drought stress led to changes in the activity of antioxidant enzymes. Seed priming with gibberellic acid and ascorbic acid increased germination indices and seedling growth and improved enzymatic activity, including catalase, peroxidase, and superoxide dismutase in comparison with untreated seeds. Priming with gibberellic acid had a significant advantage. Seed priming in drought stress conditions has increased germination rate, protein content, and catalase, peroxidase, and ascorbic dismutase activity, respectively, compared to the control.

**Conclusion:** In general, seed priming of safflower using gibberellic acid changed the activity of antioxidant enzymes. These activities ultimately moderated the negative effects of drought stress and increased germination parameters.

***Keywords: Antioxidant, Ascorbic acid, Catalase, Gibberellic acid, Peroxidase***

***Highlights*:**

1. The role of gibberellic acid and ascorbic acid on safflower seed germination traits was investigated.
2. The effect of gibberellic acid and ascorbic acid on the activity of antioxidant enzymes and soluble protein during seed germination was investigated.

[1] Ph. D student of Medicinal Plants, Horticulture Department, Birjand Branch, Islamic Azad University, Birjand, Iran

[2] Associate Professor of Agricultural Research Center, Medicinal Plants and Animal Science, Birjand Branch, Islamic Azad University, Birjand . Iran

[3] Assistant Professor, Department of Agriculture, Iranshahr Branch, Islamic Azad University, Iranshahr, Iran

[*]Corresponding author, E-mail: moosavi@iaubir.ac.ir

(Received: 12.17.2021; Accepted: 04.24.2022)

http://dorl.net/dor/20.1001.1.23831251.1401.9.2.11.4

DOI: 10.61186/yujs.9.2.17