

تأثیر پیش تیمار بذر همیشه بهار با برخی مواد آلی و شیمیایی بر مقاومت گیاهچه به تنش کادمیوم

رضوان جاوری^۱، نسیم پورقاسمیان^{۲*}، روح اله مرادی^۳

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی بردسیر، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
۲. دانشیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی بردسیر، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
۳. دانشیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشگاه تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۵/۱۶

چکیده

پیش تیمار بذر به منظور بهبود ویژگی‌های جوانه‌زنی و تولید گیاهچه‌های قوی نقش کلیدی در بهبود مقاومت گیاهان به تنش های محیطی دارد. به منظور بررسی پتانسیل پیش تیمار بذر با برخی مواد آلی در افزایش مقاومت گیاه همیشه بهار به سمیت کادمیوم آزمایشی فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار در آزمایشگاه تحقیقاتی مرکز آموزش عالی کشاورزی بردسیر، دانشگاه باهنر کرمان انجام شد. تیمارها شامل سه سطح کادمیوم (۰، ۴۰، ۶۰ میلی گرم بر لیتر) و هشت نوع پیش تیمار شامل (عدم پیش تیمار (شاهد)، عصاره تفاله موم زنبور عسل، عصاره تاغ، عصاره سپستان، ورمی کمپوست، عصاره ریشه شیرین بیان، آب مقطر و سالیسیلیک اسید (SA) بودند. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم شاخص های جوانه‌زنی و همچنین میزان پروتئین گیاهچه همیشه بهار کاهش و محتوی پرولین و فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX) افزایش معنی داری یافت. درصد جوانه‌زنی، وزن خشک گیاهچه نسبت ریشه‌چه به ساقه‌چه و فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) در شرایط تنش و عدم تنش در پیش تیمار با تفاله موم زنبور عسل و ورمی کمپوست، بیشترین میزان را به خود اختصاص دادند. اسید سالیسیلیک به لحاظ اثرگذاری بعد از دو پیش تیمار ذکر شده بود. تاغ و شیرین بیان در صفات مذکور کمترین مقادیر را نشان دادند. در شرایط تنش شدید، بیشترین محتوای پروتئین مربوط به پیش تیمار با عصاره ورمی کمپوست و تفاله موم زنبور عسل بود. بطور کلی، نتایج این تحقیق نشان داد که پیش تیمار بذر با عصاره ورمی کمپوست و تفاله موم زنبور عسل منجر به کاهش اثرات منفی تنش کادمیوم در گیاه همیشه بهار شدند.

کلیدواژه‌گان: سالیسیلیک اسید، فلزات سنگین، گیاه دارویی، ورمی کمپوست

مقدمه

کادمیوم در بین فلزات سنگین یکی از سمی‌ترین عناصر برای اندام‌های زنده محسوب می‌شود. کادمیوم موجود در خاک دوام زیستی زیادی دارد و سبب ایجاد بسیاری تغییرات در گیاهان از جمله لوله‌ای شدن برگ‌ها، کاهش متابولیسم سلولی، کاهش تنفس و تعرق، مهار فعالیت آنزیم‌ها، کاهش جذب آب و مواد معدنی و کاهش رشد ریشه و ساقه می‌شود (محمودی و همکاران، ۱۳۹۸؛ یوسفی و همکاران، ۱۳۹۷). بنابراین یافتن روش‌هایی برای جلوگیری از آثار زیانبار آنها یا کاهش دادن این آثار به ویژه در مرحله جوانه‌زنی و رشد گیاهچه اهمیت بسیاری دارد، استفاده از پیش تیمار بذر (Priming) یکی از این روش‌هاست.

پیش تیمار بذر روشی معمولی برای بهبود بخشیدن به جوانه‌زنی و سبز شدن بذر و افزایش قدرت بذر و گیاهچه‌ها در شرایط تنش محیطی مانند تنش فلزات سنگین است که موجب افزایش مقاومت گیاهچه در شرایط مذکور می‌گردد (Sanjari et al., 2021). یکی از سازوکارهای دفاعی گیاهان برای رویارویی با خسارت‌های ناشی از تنش اکسیداتیو حاصل از فلزات سنگین، حذف گونه‌های اکسیژن فعال به کمک آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی، شامل: کاتالاز، پراکسیداز، گلوکاتایون ردوکتاز و سوپر اکسید دیسموتاز است (Rahimi & Davari, 2017).

پیش تیمار بذر باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی می‌شود این آنزیم‌ها فرایند پراکسیداسیون لیپیدها را طی جوانه‌زنی کاهش می‌دهند و در نتیجه باعث افزایش درصد جوانه‌زنی می‌شوند. استفاده از پیش تیمار بذر سبب افزایش محتوای آمینواسید پروتئین در شرایط تنش و غیر تنش می‌شود (khan et al., 2018). پیش تیمارهای هورمونی و مواد آلی یکی از انواع مؤثر از پیش تیمارها برای افزایش تحمل به تنش‌های زیستی شناخته شده‌اند (Ashraf & Foolad, 2007). سالیسیلیک اسید، هورمونی گیاهی و از جمله ترکیبات فنلی است که در تعدیل پاسخ گیاه به تنش‌های محیطی نقش دارد. این ترکیب در تنظیم فرایندهای جوانه‌زنی، شکستن خواب بذر، رشد و نمو، جذب یون و فتوسنتز ایفای نقش می‌کند و از طریق کاهش گونه‌های اکسیژن فعال باعث افزایش مقاومت گیاه نسبت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌شود (Hundare et al., 2022).

تفاله موم زنبورعسل ماده‌ای است که طی فرایندهای بازیابی و آماده‌سازی موم برای زنبورعسل تولید می‌شود که شامل ۰/۷۱ درصد نیتروژن، ۶۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم فسفر و ۳۲۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم پتاسیم است. این ماده به عنوان زباله دور ریخته می‌شود (پور قاسمیان و نوربخش، ۱۳۹۴). این ماده به عنوان یک بیواستیمولیت در ایجاد مقاومت به تنش خشکی در کنجد و در رقابت موفق با سالیسیلیک اسید شناخته شد (pourghasemian et al., 2020). همچنین در مطالعه‌ای دیگر، عصاره تفاله موم زنبور عسل به عنوان یک ماده ضد تعرق با کیتوزان در گیاه همیشه بهار مورد مقایسه قرار گرفت و خاصیت ضد تعرقی و محرک رشد بودن آن مورد تایید واقع شد (Pourghasemian et al., 2023). همچنین به اثر بیوچار آن در کاهش اثرات تنش کادمیوم در زعفران (Moradi et al., 2019) اشاره شده است.

گیاه همیشه بهار سالیان دراز به عنوان یک گیاه زینتی کشت می‌شد تا زمانی که خواص دارویی آن مشخص گردید و به عنوان یک گیاه دارویی نیز مورد استفاده واقع شد (Khalid & Teixeira de Silva, 2010). همیشه بهار، که با نام علمی *Calendula officinalis* شناخته می‌شود، گیاهی است با خواص دارویی فراوان. این گیاه به دلیل داشتن ترکیبات فعال مانند فلاونوئیدها، تری‌ترپن‌ها، ساپونین‌ها، اسید سالیسیلیک و موسیلاژ، خواص ضد التهابی، ضد جوش، آنتی‌اکسیدان، ضد درد و آبرسانی دارد. اسانس آن نیز خواص ضد باکتریایی قابل توجهی دارد (Sarvari et al., 2021). در صنایع غذایی نیز به عنوان رنگ طبیعی برای پنیر و کره استفاده می‌شود. (Hassanzadeh et al., 2022). این گیاه به عنوان یک بیش انباشتگر نیز معرفی شده است (Eskandari et al., 2017).

با توجه افزایش روزافزون کادمیوم در زمین‌های زراعی و تبدیل این فلز به یک معضل در بخش کشاورزی، تعیین راهکارهایی که گیاهان بتوانند در این شرایط رشد کنند از اهمیت به سزایی برخوردار است؛ بنابراین با توجه به اهمیت همیشه بهار به عنوان گیاهی دارویی و زینتی مطالعه حاضر با هدف انتخاب ماده مناسب برای پیش تیمار از بین مواد آلی بازیافتی و ارزان قیمت مانند تفاله موم زنبورعسل و همچنین ورمی‌کمپوست به‌عنوان یک کود غنی از مواد غذایی و عصاره برخی گیاهان دارویی به دلیل داشتن

روز ۱۲ ساعت و طول شب نیز ۱۲ ساعت در نظر گرفته شد. تعداد بذرهای جوانه زده هر روز و به مدت ۱۴ روز مورد شمارش قرار گرفتند. معیار جوانه زنی بذرها در شرایط آزمایشگاهی، خروج ریشه چه حداقل به طول دو میلی متر در نظر گرفته می شود (Ranal & Santana, 2006). صفات رشدی مورد مطالعه شامل درصد جوانه زنی، طول ساقه چه، طول ریشه چه، وزن خشک گیاهچه و نسبت طول ساقه چه به ریشه چه بود. طول ساقه چه از یقه تا جوانه انتهایی و طول ریشه چه از یقه تا نوک ریشه اصلی بر حسب سانتیمتر با خط کش، وزن خشک گیاهچه بعد از خشک شدن نمونه ها در آون در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت بر حسب گرم با ترازوی دیجیتالی دقیق اندازه گیری شد. معادلاتی که در بررسی فرایند جوانه زنی مورداستفاده قرار گرفتند شامل درصد جوانه زنی از رابطه ۱ به دست می آید (Maguire, ۱۹۶۲).

$$G\% = (n/N) \times 100 \quad (1)$$

که در آن G درصد جوانه زنی، n تعداد نهایی بذرهای جوانه زده و N تعداد بذرهای کشت شده است. جهت اندازه گیری آنتی اکسیدان های آنزیمی شامل کاتالاز (CAT) و گایاکول پراکسیداز (GPX) یک دهم گرم از نمونه تازه برگی را به همراه یک میلی لیتر بافر استخراج شامل: فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار درصد یک PVP و میلی مولار ۱/۰ EDTA، pH=۸ با پلی وینیل پیرولیدون) بر روی یخ هموژنیزه گردید. سپس عصاره های حاصل در دور ۱۴۰۰۰ جی و دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و محلول رویی حاصل در فالتون های استریل جمع آوری گردید. محلول های رویی به دست آمده به عنوان عصاره های آنزیمی جهت اندازه گیری فعالیت CAT و GPX استفاده شدند. به منظور حفظ فعالیت آنزیمی، تمامی مراحل استخراج و اندازه گیری فعالیت آنزیم بر روی یخ انجام شد (Pandy et al., 1984).

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

سنجش فعالیت آنزیم CAT با استفاده از محاسبه کاهش جذب H₂O₂ کاهش مقدار H₂O₂ در ۲۴۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Du Beckman) انجام شد، مخلوط واکنش برای اندازه گیری فعالیت CAT شامل ۳ میلی لیتر بافر واکنش به صورت ۵۰ میلی مولار بافر استخراج با pH=۷، ۱۰ میلی مولار آب اکسیژنه و ۴۰

متابولیت های ثانویه و خاصیت آنتی اکسیدانی و مقایسه آنها با ماده شیمیایی و گران قیمت سالسیلیک اسید انجام شد.

مواد و روش ها

به منظور بررسی تأثیر پیش تیمار با برخی مواد آلی و شیمیایی بر جوانه زنی و برخی ویژگی های بیوشیمیایی گیاهچه های همیشه بهار در شرایط تنش کادمیوم آزمایشی فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی بردسیر، دانشگاه شهید باهنر کرمان در سال ۱۴۰۱ اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل تنش کادمیوم در سه سطح ۰، ۴۰ به عنوان تنش متوسط و ۶۰ به عنوان تنش شدید و انواع پیش تیمار بذر شامل هشت نوع پیش تیمار (عصاره تفاله موم زنبورعسل، عصاره ورمی کمپوست، عصاره تاغ: *Haloxylon persicum*، عصاره شیرین بیان: *Glycyrrhiza glabra*، عصاره سپستان: *Cordia myxa*، سالسیلیک اسید (SA) با غلظت یک مولار، آب مقطر و عدم پیش تیمار) بود.

جهت آماده سازی عصاره، هر کدام از مواد آلی (تفاله موم زنبورعسل، ورمی کمپوست، سرشاخه های تاغ، ریشه شیرین بیان و میوه سپستان) مورد بررسی را ابتدا خشک و توسط آسیاب برقی مدل (A11B, IKA) پودر کرده و با نسبت ۱ به ۵ در آب مقطر هم-دما شده با محیط و به مدت ۲۴ ساعت (۱۱ ساعت روز و ۱۳ ساعت شب) در دمای اتاق و در شیکر مدل (Ks260, IKA) قرار داده شد و صاف گردید. در مرحله پیش تیمار بذور؛ بذور همیشه بهار به مدت ۱۲ ساعت در پیش تیمارها خیسانده شدند. پس از آن بذرها را خارج کرده و با آب مقطر شسته و در آون با دمای ۲۰ درجه سانتی گراد گذاشته تا به رطوبت اولیه رسیدند. بذرهای مورد استفاده پس از رسیدن به رطوبت اولیه توسط هیپوکلرید سدیم ۲ درصد به مدت ۲ دقیقه و سپس با قارچ کش بنومل ۲ در هزار ضد عفونی گردید و سه بار با آب مقطر شستشو داده شدند. تعداد ۲۰ عدد از این بذرها به هر یک از پتری دیش های استریل به قطر ۹ سانتی متر حاوی کاغذ واتمن شماره یک منتقل گردید و به هر پتری دیش ۱۰ میلی لیتر محلول کادمیوم بسته به تیمار اضافه شد. به منظور کاهش تبخیر محلول، دور پتری دیش ها با پارافیلیم بسته شد. پتری دیش ها در اتاقک رشد پتری ها در اتاقک رشد مدل (AX600-SG) ساخت نور صنعت فردوس) در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد برای روز و دمای ۲۰ درجه سانتی گراد برای شب به مدت ۱۴ روز قرار داده شدند. طول

داده‌های حاصل از آزمایش بر اساس طرح آماری مورد استفاده، توسط نرم‌افزار SAS نسخه 9.2 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد جهت مقایسه میانگین استفاده شد. رسم نمودارها نیز توسط نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد درصد جوانه‌زنی به طور معنی‌داری تحت تأثیر تنش کادمیوم، پیش تیمار و بر هم‌کنش آنها در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (جدول ۱).

با افزایش مصرف کادمیوم از ۴۰ به ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، صفات جوانه‌زنی از جمله درصد جوانه‌زنی به طور قابل توجهی کاهش یافت (شکل ۱). کادمیوم اثرات مخرب خود را بر جوانه‌زنی گیاه از طریق مکانیسم‌های مختلفی اعمال می‌کند که عمدتاً بر فرآیندهای فیزیولوژیکی، ساختارهای سلولی و بیان ژن تأثیر می‌گذارد. گزارش شده است که کادمیوم می‌تواند در توانایی بذر در جذب آب که برای شروع جوانه‌زنی ضروری است، تداخل کند (Gao et al., 2022). این اختلال به دلیل تغییر نفوذپذیری غشای بذر و مهار کانال‌های آکوابورین، پروتئین‌های مسئول انتقال آب، رخ می‌دهد (Reza et al., 2020).

مقایسه میانگین بر هم‌کنش پیش تیمار و تنش کادمیوم نشان داد پیش تیمار با ورمی‌کمپوست سبب بیشترین درصد جوانه‌زنی در شرایط عدم تنش، تنش متوسط و تنش شدید کادمیوم گردید، اگر چه در شرایط عدم تنش، پیش تیمار ورمی‌کمپوست اختلاف معنی‌داری با هیدرو پیش تیمار (پرایمینگ با آب مقطر)، پیش تیمار با سالیسیلیک اسید و تیمار شاهد نداشت (شکل ۱). کاربرد پیش تیمار های ورمی‌کمپوست در شرایط تنش متوسط و شدید به ترتیب باعث افزایش حدود ۲۶ و ۲۲ درصدی جوانه‌زنی نسبت به تیمار شاهد شد (شکل ۱). در شرایط تنش شدید کادمیوم، پیش تیمار با اسید سالیسیلیک، ورمی‌کمپوست و موم بدون تفاوت معنی‌دار با یکدیگر، جوانه‌زنی را نسبت به شاهد افزایش دادند. (شکل ۱). لازم به ذکر است در بین پیش تیمارهای مختلف استفاده شده، پیش تیمار با عصاره‌های تاغ و شیرین‌بیان درصد جوانه‌زنی را حتی در شرایط عدم وجود تنش کادمیوم نسبت به شاهد کاهش دادند (شکل ۱).

میکرولیتر عصاره آنزیمی بر اساس روش ابی (Aebi, ۱۹۸۴) انجام شد.

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX)

سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX) با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل ۵۳۰ Du Beckman) در طول موج ۴۷۰ نانومتر (ضریب خاموشی تترآگایاکول) $\epsilon = 2.5 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ و $A = \epsilon bc$ فرمول مقدار تترآگایاکول تشکیل شده محاسبه شد. بر اساس این رابطه A معادل جذب خوانده شده ϵ ، ضریب خاموشی، C غلظت گایامول پراکسیداز و b طول کوت (یک سانت) می‌باشد (Pandy et al., 1984). فعالیت آنزیم برحسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین کل (میلی‌گرم) موجود در ۵۰ میکرولیتر عصاره گزارش شد. پروتئین:

برای سنجش غلظت پروتئین (Bradford, ۱۹۷۶). به لوله‌های آزمایش حاوی ۱۰۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی، ۵ میلی‌لیتر معرف بیوره افزوده شد و سریعاً ورتکس گردید. پس از ۲۵ دقیقه جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل ۵۳۰ Du Beckman). در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید.

تهیه معرف بیوره

۰/۱ گرم رنگ کوماسی برلیانت بلو در ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد به مدت یک ساعت حل نمودیم، سپس ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۸۵ درصد قطره قطره به آن افزوده شد. در پایان حجم کل محلول به کمک آب مقطر به یک لیتر رسانده می‌شود و محلول حاصل با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شد.

پرولین

۰/۵ گرم برگ‌تر در ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳٪ عصاره‌گیری و نمونه در یخ قرار داده شد، سپس ۲ میلی‌لیتر از عصاره صاف شده با ۲ میلی‌لیتر اسید ناین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک مخلوط و در حمام آب گرم و سپس حمام آب سرد قرار داده شدند. پس از آن مقدار ۴ میلی‌لیتر تولوئن به محلول اضافه نموده و به مدت ۲۰ ثانیه با دستگاه ورتکس به هم زده شد. استانداردهای پرولین محلول در فاز تولوئن را به اندازه لازم در کووت دستگاه اسپکتروفتومتر ریخته و مقدار پرولین را در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت کرده و منحنی استاندارد رسم شد (Beates et al, 1973).

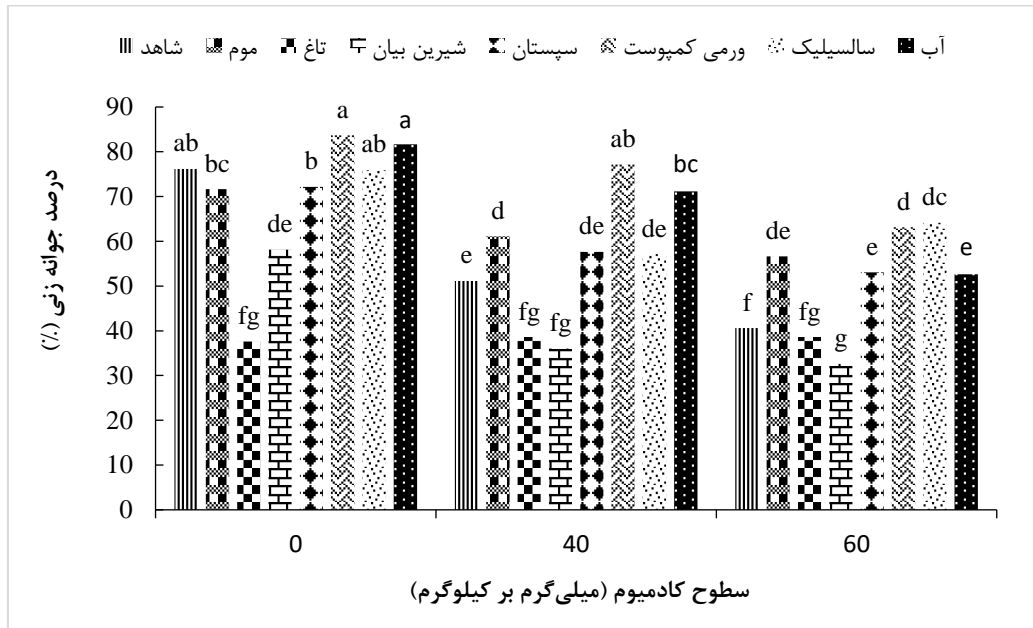
جدول ۱- جدول تجزیه واریانس (میانگین مربعات) ویژگی های جوانه زنی گیاه همیشه بهار تحت تنش کادمیوم

منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد جوانه زنی	وزن خشک گیاهچه	طول ساقه چه	طول ریشه چه	نسبت ریشه چه به ساقه چه
تنش کادمیوم (A)	۲	۲۳۷۴/۶۴**	۰/۰۰۰۰۵**	۹/۸۱**	۸۷/۵۷**	۱۲/۵۱**
پیش تیمار بذر (B)	۷	۱۴۴۰/۰۴**	۰/۰۰۰۰۲ ^{ns}	۱/۰۵**	۵/۳۷**	۲/۵۸**
A×B	۱۴	۱۳۲/۶**	۰/۰۰۰۰۱**	۰/۰۷۰ ^{ns}	۰/۴۵۹**	۲/۹۶**
خطا	۴۸	۲۳/۵۱	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۷۷	۰/۰۰۹	۰/۰۰۰۰۷
ضریب تغییرات (%)	-	۵/۲۳	۶/۶۵	۹/۱۱	۴/۵۲	۷/۳۶

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

درصد جوانه زنی بذر بین پیش تیمار با سالیسیلیک اسید و تفاله موم تفاوت معنی داری نداشتند. در مطالعه ای که توسط pourghasemian و همکاران (2020) بر تأثیر تفاله موم زنبور عسل در کاهش اثر تنش خشکی کنگد انجام شد، نشان داده شد که این ماده می تواند به عنوان یک ماده مغذی برای گیاهان عمل کند، زیرا شامل موادی مانند کلسیم، پتاسیم، و مواد معدنی دیگر است. به نظر می رسد سالیسیلیک اسید از دو راه خاصیت هورمونی و آنتی اکسیدانی و تأثیر بر روی تولید اسمولیت های آلی و تنظیم اسمزی به گیاهی که تحت تنش قرار گرفته، کمک می کند. البته میزان موفقیت گیاه از این امداد رسانی به عوامل مختلف مانند غلظت اسیدهای مصرفی، توان گیاه در استفاده از این ماده خارجی و میزان تنش وارده بستگی داشت (Asghar *et al.*, 2015).

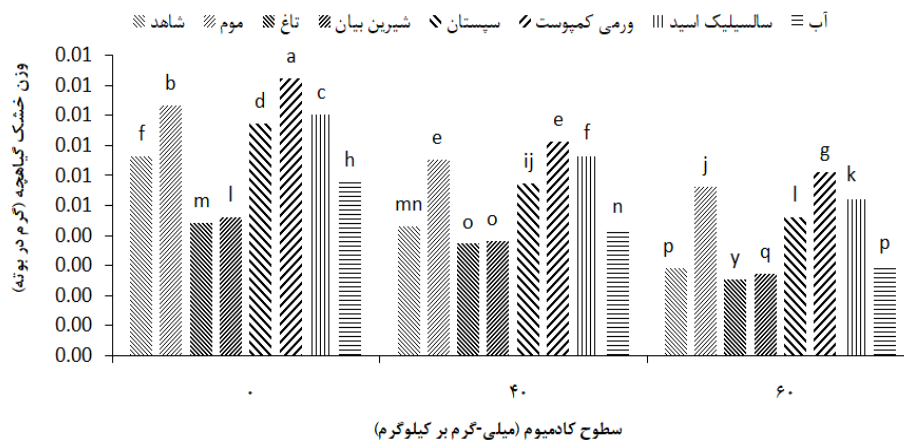
در حالت کلی، پیش تیمار بذر با ورمی کمپوست به عنوان یک روش غنی سازی بذر با عناصر غذایی و اسیدهای آمینه مفید شناخته شده است. ورمی کمپوست حاوی مواد غذایی مورد نیاز برای جوانه زنی بذر است که با استفاده از پیش تیمار بذر با ورمی کمپوست، این مواد غذایی به بذر ارائه می شود و بهبود جوانه زنی و رشد گیاهان را تسریع می کند (Baghai, & Amoaghaei, 2018). همچنین، ورمی کمپوست برای رشد موجودات میکروسکوپی خاک شامل باکتری ها، قارچ ها و سایر میکروارگانیسم ها مفید است (Sheikhi *et al.*, 2013). این میکروارگانیسم ها در تعامل با سطح بذر، انتقال عناصر غذایی و فعالیت های بیولوژیکی در آن را تسهیل می کنند. این فرایند سبب بهبود جوانه زنی شده و رشد گیاه را تسریع می کند (Badakhshan *et al.*, 2014). در مطالعه حاضر، در شرایط تنش و عدم تنش،



شکل ۱- بر همکنش پیش تیمار بذر و تنش کادمیوم بر درصد جوانه‌زنی گیاهچه همیشه بهار میانگین‌های دارای حروف مشترک دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن نمی‌باشد.

گیاهان، و کاهش تنش‌های محیطی باشد (Rezaei *et al.*, 2018; Amiri Kia *et al.*, 2024). در مطالعه‌ای که توسط Pourqasemian و همکاران (2017) بر روی تأثیر پیش تیمار با عصاره برخی گیاهان دارویی و همچنین تفاله موم زنبورعسل بر رشد بذر کنگد انجام شد، نشان داده شد که تفاله موم زنبورعسل و شیرین بیان سبب افزایش رشد گیاهچه‌های کنگد شدند. ایشان دلیل این افزایش را به بیواستیمولیت بودن عصاره‌های مذکور نسبت دادند.

افزایش وزن خشک گیاهچه‌های همیشه‌بهار شدند. روند مذکور برای سطوح ۴۰ و ۶۰ پی‌پی‌ام نیز مشاهده شد. به نظر می‌رسد ورمی‌کمپوست، تفاله موم زنبورعسل و اسید سالیسیک در رقابتی نزدیک، توانسته‌اند سبب بهبود رشد گیاهچه‌های همیشه‌بهار در شرایط تنش و عدم تنش شوند. دلایل افزایش وزن خشک گیاهان به دنبال پیش تیمار بذر با موادی مانند ورمی‌کمپوست و تفاله موم زنبورعسل می‌تواند شامل افزایش جذب عناصر غذایی، افزایش تولید مواد شیمیایی مفید، افزایش سرعت جوانه‌زنی و رشد



شکل ۲- بر همکنش پیش تیمار و تنش کادمیوم بر وزن خشک گیاهچه (ریشه‌چه + ساقه‌چه) همیشه بهار میانگین‌های دارای حروف مشترک دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن نمی‌باشد.

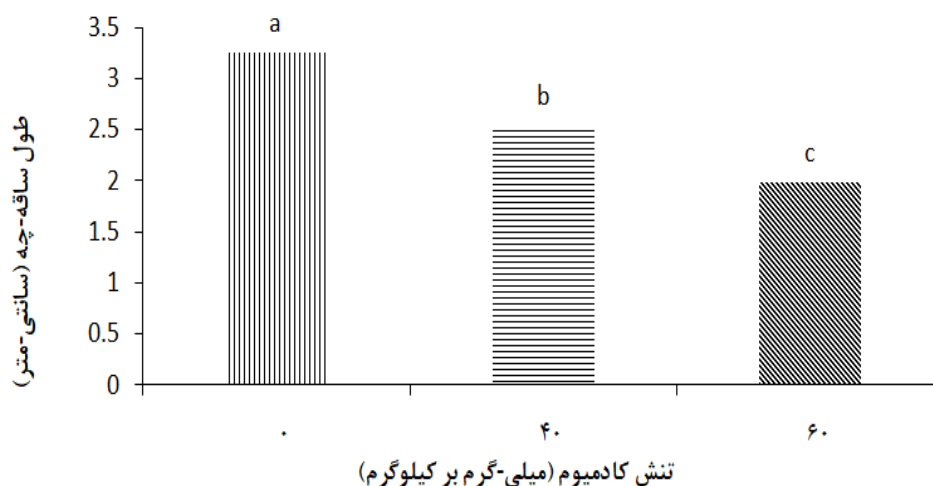
طول ساقه‌چه

باتوجه به نتایج جدول تجزیه واریانس اثرات اصلی سطوح کادمیوم و پیش تیمار بذر بر طول ریشه‌چه ساقه‌چه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد، درحالی‌که بر هم‌کنش این سطوح معنی‌دار نشد (جدول ۱).

سطوح مختلف تنش کادمیوم نسبت به شاهد سبب کاهش طول ساقه‌چه گردید (شکل ۳). تنش ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم نسبت به شاهد سبب شد که طول ساقه‌چه به مقدار ۳۹/۲ درصد کاهش پیدا کند (شکل ۳). کاربرد پیش تیمار بذر با ورمی‌کمپوست، موم، سالیسیلیک اسید و سپستان به ترتیب طول ساقه‌چه را ۳/۱۱، ۲/۹۰، ۲/۸۳، ۲/۶۵ سانتی‌متر نشان داد (شکل ۴). پیش تیمار بذر با ورمی‌کمپوست بیشترین طول ساقه‌چه را نشان داد.

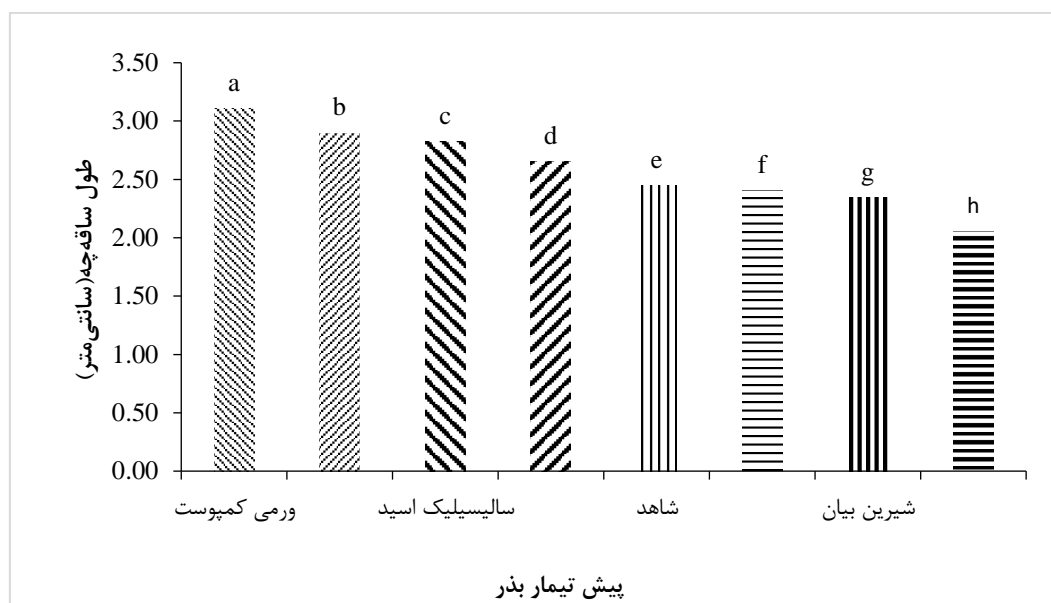
همچنین این تیمار توانست نسبت به شاهد طول ساقه‌چه را به میزان ۲۶/۸ درصد افزایش دهد (شکل ۴). اما پیش تیمار بذر با آب، شیرین‌بیان و تاغ در مقایسه با شاهد سبب کاهش طول ساقه‌چه گردید (شکل ۴).

پیش تیمار بذر باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شود، که این آنزیم‌ها با مقابله با رادیکال‌های آزاد و کاهش تخریب لیپیدهای غشایی، سلامت سلول‌های ساقه را حفظ می‌کنند (Afkari, 2016). همچنین پیش تیمار بذر باعث افزایش تولید مواد شیمیایی مفید مانند پرولین، گلیسین بتائین، اسید آبسزیک و هورمون‌های رشد می‌شود، که این مواد با افزایش تحمل به تنش‌های محیطی، تنظیم رشد ساقه و افزایش تقسیم سلولی، سبب افزایش طول ساقه می‌شوند (Ganjali et al., 2019).



شکل ۳ - اثر تنش کادمیوم بر طول ساقه‌چه همیشه بهار

میانگین‌های دارای حروف مشترک دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن نمی‌باشد.



شکل ۴ - اثر پیش تیمار بذر بر طول ساقه‌چه همیشه بهار

میانگین‌های دارای حروف مشترک دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن نمی‌باشد.

طول ریشه‌چه

نتایج نشان داد، اثرات اصلی تنش کادمیوم، پیش تیمار و برهم‌کنش کادمیوم در پیش تیمار بذر در سطح احتمال ۱ درصد بر طول ریشه‌چه معنی‌دار بود (جدول ۱). در عدم تنش کادمیوم تمام پیش تیمارها نسبت به شاهد سبب افزایش طول ریشه‌چه شدند. بیشترین مقدار ریشه‌چه در شرایط عدم تنش کادمیوم و پیش تیمار با موم و ورمی‌کمپوست بدون تفاوت معنی‌دار با یکدیگر، به ترتیب ۶/۱۴ و ۶/۱۳ (سانتی‌متر) بود (شکل ۵). در تنش متوسط کادمیوم (۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) همه پیش تیمارها به جزء شیرین بیان و تاغ نسبت به شاهد سبب افزایش طول

ریشه‌چه شدند. همچنین در شرایط مذکور بیشترین میزان طول ریشه‌چه در پیش تیمار سپستان، ورمی‌کمپوست و موم به ترتیب ۳/۰۳، ۳/۱۱ و ۳/۰۲ سانتیمتر مشاهده شد (شکل ۵). بذور همیشه‌بهار در شرایط تنش شدید کادمیوم و رویارویی با پیش تیمار مواد مختلف، واکنشی شبیه به تنش متوسط از خود نشان داد (شکل ۵). پیش تیمار بذر با شیرین بیان و تاغ نسبت به شاهد سبب کاهش طول ریشه‌چه شد و پیش تیمار با آب بدون تفاوت معنی‌دار با شاهد، خود را نشان داد. در شرایط مذکور پیش تیمار با موم، ورمی‌کمپوست و سپستان، نسبت به شاهد به ترتیب باعث افزایش در طول ریشه‌چه شد.



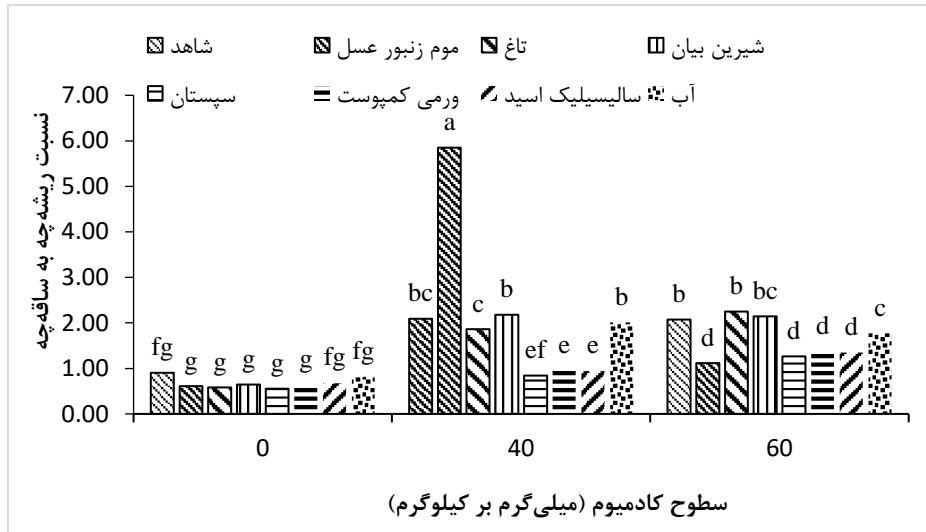
شکل ۵ - بر همکنش پیش تیمار و تنش کادمیوم بر طول ریشه‌چه همیشه بهار

میانگین‌های دارای حروف مشترک دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن نمی‌باشد.

بروز تنش، این نسبت به سمت کاهش طول ریشه‌چه تغییر پیدا کرد در نتیجه حاصل کسر بزرگ‌تر شد (شکل ۱)؛ بنابراین رشد ریشه بیش از ساقه، از حضور کادمیوم متأثر شد. تحقیقات نشان داده‌اند که تنش کادمیوم می‌تواند تأثیرات منفی بر رشد و توسعه ریشه گیاه داشته باشد و نسبت ریشه به ساقه را تحت تأثیر قرار دهد. در مطالعه‌ای، گیاه ذرت در معرض تنش کادمیوم قرار گرفت و نسبت ریشه به ساقه در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت. به عبارتی کادمیوم رشد ریشه را بیش از رشد ساقه تحت تأثیر قرار داد و در نتیجه این نسبت کاهش یافت (Ali et al., 2013). از آنجایی که ریشه قبل از ساقه و در معرض مستقیم کادمیوم قرار می‌گیرد، بیش از آن از اثرات مخرب این فلز تأثیر پذیرفته و جذب سطحی آن از رشد طولی سلول‌ها بعد از تقسیم میتوز جلوگیری می‌کند (Hundare et al., 2022).

نسبت ریشه‌چه به ساقه‌چه
باتوجه به نتایج جدول تجزیه واریانس اثرات کادمیوم، پیش تیمار و بر همکنش کادمیوم در پیش تیمار بر نسبت ریشه-چه به ساقه‌چه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱).

کمترین میزان نسبت ساقه‌چه به ریشه‌چه در شرایط نرمال تنش کادمیوم و پیش تیمار با آب، ۰/۵۵ مشاهده شد که این نشان از حداقل تفاوت مابین اندام هوایی و زمینی گیاه در این تیمار دارد (شکل ۱). بیشترین این صفت در تیمار شرایط تنش ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم و کاربرد پیش تیمار موم مشاهده گردید که اثبات می‌کند تنش ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم بر طول ریشه‌چه اثرگذار بوده (شکل ۱). در شرایط شاهد (عدم کاربرد کادمیوم) نسبت ساقه‌چه به ریشه‌چه اختلاف کمی نشان داد، اما به محض



شکل ۶- بر همکنش پیش تیمار و تنش کادمیوم بر نسبت ریشه چه به ساقه چه همیشه بهار

میانگین‌های دارای حروف مشترک دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن نمی‌باشد.

اعمال تنش، پیش تیمارهای مختلف تأثیرات متفاوتی بر روی محتوای پروتئین گذاشتند، به طوری که در شرایط تنش ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم کادمیوم بیشترین محتوای پروتئین در کاربرد پیش تیمار ورمی کمپوست و سالیسیلیک اسید بدون تفاوت معنی‌دار با یکدیگر به ترتیب ۱۰۳ و ۹۸ میلی گرم بر گرم وزن تر گزارش شدند (شکل ۷).

محتوای پروتئین

با توجه به جدول تجزیه واریانس اثرات اصلی کادمیوم، پیش تیمار بذر و برهم کنش کادمیوم در پیش تیمار بذر در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین، نشان داد که در شرایط عدم تنش کادمیوم، پیش تیمار با مواد مختلف تأثیری بر محتوای پروتئین گیاهچه نداشت (جدول ۱). با این حال، بعد از

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) کادمیوم و پیش تیمار بر ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاهچه همیشه بهار

محتوای آنزیم GPX	محتوای آنزیم CAT	محتوای پرولین	محتوای پروتئین	درجه آزادی	منابع تغییرات
۷/۰۸۸*	۴/۰۵۱*	۲۶۰/۸۸۹**	۳۰۲۶۴/۰۰۳**	۲	تنش کادمیوم
۳/۶۲۵*	۴/۶۳۵**	۰/۱۱۳ ^{NS}	۸۵۹/۰۶۷**	۷	پیش تیمار بذر
۳/۴۱۷**	۳/۳۰۸۶**	۰/۱۸۵۵ ^{NS}	۱۱۶۷/۰۵**	۱۴	تنش کادمیوم × پیش تیمار بذر
۰/۰۱۱۳	۰/۰۰۳۷	۰/۱۷۳۹	۱۵/۷۴	۴۸	خطا
۱۰/۸	۱۲/۵	۱۴/۵	۱۱/۳	-	ضریب تغییرات (/)

*، ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و ^{NS}: غیر معنی‌دار.

میلی گرم بر میلی لیتر نسبت به شاهد کسب نمود (شکل ۷). کمترین میزان پروتئین کل تیمارها در شرایط تنش ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم کادمیوم به همراه پیش تیمار موم مشاهده گردید (شکل ۷).

پیش تیمار بذر با ورمی کمپوست توانست محتوای پروتئین را در شرایط تنش ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم کادمیوم نسبت به شاهد به میزان ۱۴/۴۵ درصد افزایش دهد (شکل ۷). در شرایط تنش ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم کادمیوم، پیش تیمار بذر با ورمی کمپوست بیشترین محتوای پروتئین را با ۹۲



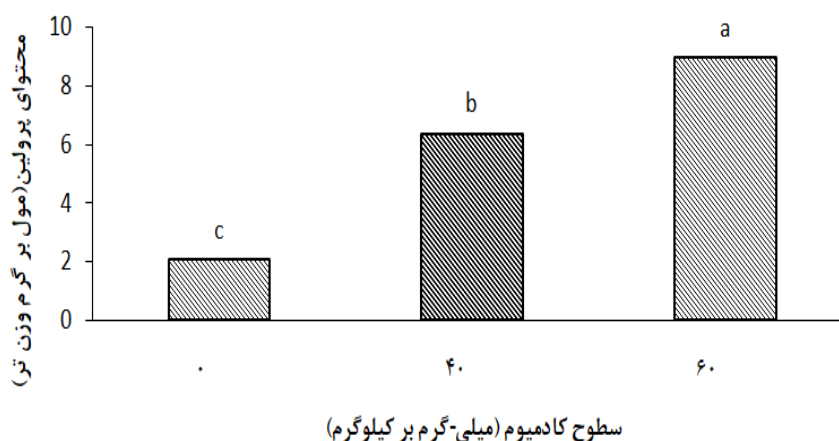
شکل ۷- بر همکنش پیش تیمار و تنش کادمیوم بر محتوای پروتئین گیاهچه همیشه بهار

میانگین‌های دارای حروف مشترک دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن نمی‌باشد.

درصد افزایش پیدا کرد (شکل ۸). همچنین در شرایط تنش ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم نیز یک افزایش ۳۳۴ درصد در محتوای پرولین نسبت به شاهد مشاهده گردید (شکل ۸). یکی از مکانیسم‌های رایج در ایجاد مقاومت در مقابل تنش‌های زیستی و غیرزیستی افزایش اسمولیت‌ها جهت تنظیم اسمزی است، یکی از این اسمولیت‌ها پرولین است (Zare Mehrjardi et al., 2014). به نظر می‌رسد در مطالعه حاضر گیاه همیشه بهار نیز از این مکانیسم دفاعی در مقابل تنش کادمیوم استفاده کرده باشد.

محتوای پرولین

اثر سطوح مختلف کادمیوم بر محتوای پرولین در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد، با این حال پیش تیمار بذر و همچنین اثر متقابل پیش تیمار و تنش بر محتوای پرولین تاثیری نداشتند (جدول ۲). با افزایش میزان تنش کادمیوم، محتوای پرولین نیز افزایش پیدا کرد (شکل ۸). محتوای پرولین در شرایط تنش ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم نسبت به شاهد به میزان ۲۰۹



شکل ۸- اثر تنش کادمیوم بر محتوای پرولین گیاهچه همیشه بهار

میانگین‌های دارای حروف مشترک دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن نمی‌باشد.

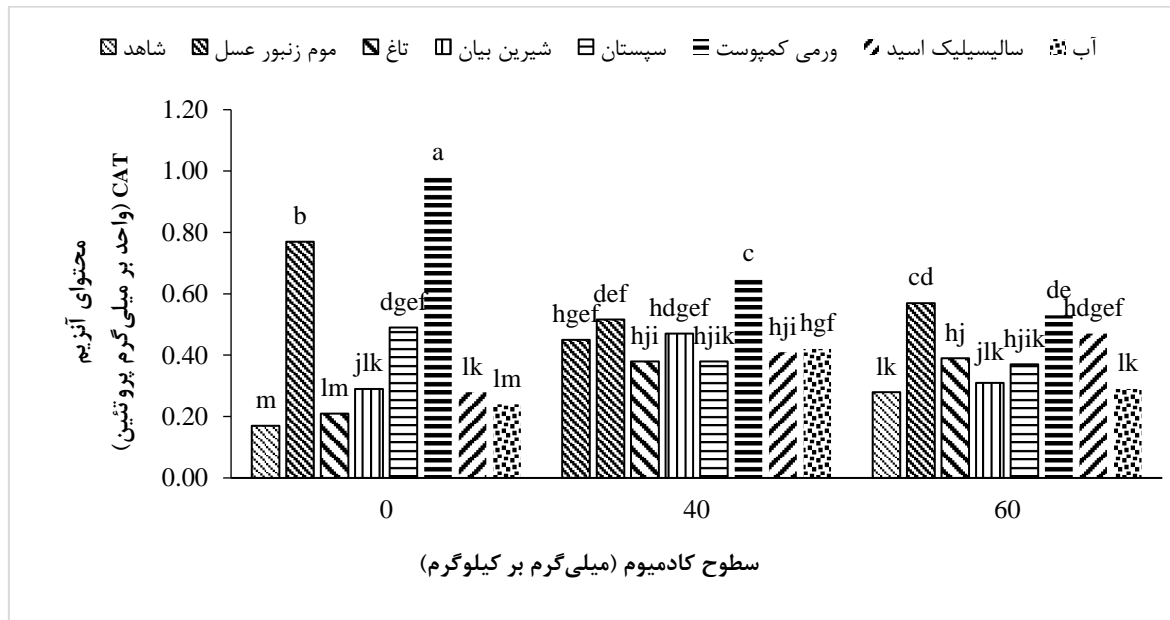
محتوای آنزیم کاتالاز (CAT)

اثرات اصلی سطوح کادمیوم و پیش تیمار بذر و اثر متقابل کادمیوم در پیش تیمار بذر در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار شد (جدول ۲).

پیش تیمار بذر با ورمی کمپوست و تفاله موم زنبور عسل توانستند در هر سه سطح کادمیوم نسبت به بقیه پیش تیمارها و همچنین عدم پیش تیمار به طور قابل توجهی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز را افزایش دهند. و در شرایط نرمال (عدم تنش کادمیوم و عدم کاربرد پیش تیمار) محتوای آنزیم کاتالاز ۰/۱۷ بود که بعد از کاربرد ورمی کمپوست و تفاله موم زنبور عسل به عنوان پیش تیمار بذر به ترتیب به عدد ۰/۹۸ و ۰/۷۷ واحد بر میلی گرم

پروتئین رسید که این تغییر به ترتیب یک افزایش ۸۱ و ۷۷ درصدی را نشان دادند (شکل ۹).

در سطح کادمیوم ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم کادمیوم نیز پیش تیمار بذر با ورمی کمپوست و تفاله موم زنبور عسل بدون تفاوت معنی دار با هم نسبت به شاهد (تنش ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم کادمیوم و عدم کاربرد پیش تیمار) یک افزایش حدود ۵۰ درصدی را نشان دادند. افزایش فعالیت کاتالاز در شرایط تنش و با مصرف محرک های زیستی در مطالعه دیگری که توسط Pourghasmanian و همکاران (2022) بر روی تنش خشکی در کنگد انجام شده بود، به اثبات رسید، در مطالعه ایشان نیز افزایش کاتالاز با بهبود رشد همراه بود.



شکل ۹- بر همکنش پیش تیمار و تنش کادمیوم بر محتوای آنزیم CAT گیاهچه همیشه بهار

میانگین های دارای حروف مشترک دارای اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن نمی باشد.

وارده به گیاهچه می باشد، بطوریکه این تنش احتمالاً سبب آسیب به سنتز و تجمع زیر واحدهای آنزیم GPX شده است (Thiruvengadam *et al.*, 2024). با توجه به وزن خشک گیاهچه (شکل ۲) به نظر می رسد پیش تیمار با عصاره سپستان در کاهش اثرات تنش کادمیوم، در گیاهچه های همیشه بهار موفق نبوده است. در سطح تنش ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم کادمیوم بیشترین میزان محتوای GPX در کاربرد پیش تیمار بذر با سالیسیلیک اسید حاصل گردید که با بقیه پیش تیمارها در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی داری داشت (شکل ۱۰) در شرایط نرمال (عدم کاربرد کادمیوم) تمامی سطوح از لحاظ آماری هیچ اختلافی با

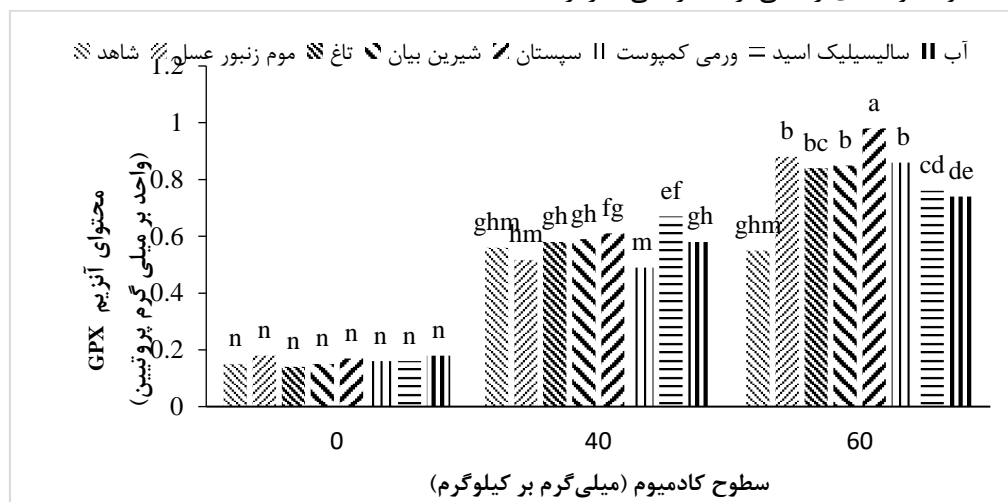
محتوای آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX)

با توجه نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) سطوح مختلف کادمیوم و پیش تیمار بذر و برهم کنش کادمیوم در پیش تیمار بذر در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار شد.

با افزایش تنش کادمیوم محتوای آنزیم GPX نیز افزایش پیدا کرد. به صورتی که بیشترین محتوای آنزیم در شرایط تنش ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم کادمیوم و پیش تیمار بذر با سپستان به مقدار ۰/۹۸ مشاهده شد که این مقدار نسبت به تیمار شاهد (عدم تنش کادمیوم و عدم کاربرد پیش تیمار بذر) ۵۵۳ درصد افزایش نشان داد (شکل ۱۰). افزایش محتوای آنزیم GPX با افزایش تنش، گویای تنش اکسیداتیو

افزایش محتوای GPX عمل کرده اند، به نظر می‌رسد افزایش محتوای CAT در حضور محرک‌های زیستی مذکور توانسته‌اند از میزان رادیکال‌های آزاد بکاهند و سبب بهبود رشد گیاه شوند (شکل ۲ و ۹) عدم پاسخ یکسان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در مطالعات دیگر نیز مشاهده شده اند (Moradi *et al.*, 2019).

یکدیگر نداشتند (شکل ۱۰). پیش تیمار بذر با ورمی‌کمپوست و تفاله موم زنبور عسل در تنش ۴۰ میلی-گرم بر کیلوگرم، محتوای آنزیم GPX کمتری رانسبت به شاهد نشان داد، این مسئله ممکن است به این دلیل باشد که در شرایط مذکور، کادمیوم استرس اکسیداتیو کمتری را ایجاد کرده است و محرک‌های زیستی از مسیریایی غیر از



شکل ۱۰- بر همکنش پیش تیمار و تنش کادمیوم بر محتوای آنزیم GPX گیاهچه همیشه بهار

میانگین‌های دارای حروف مشترک دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن نمی‌باشد.

نتیجه‌گیری کلی

مطالعه نیز نتایج مذکور را تایید کردند. بنابراین به نظر می‌رسد می‌توان از پیش تیمار با عصاره ورمی‌کمپوست و تفاله موم زنبور عسل به عنوان یک زباله دور ریختنی در کاهش تنش اکسیداتیو حاصل از کادمیوم در مرحله جوانه‌زنی در گیاه همیشه بهار استفاده نمود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از مرکز آموزش عالی کشاورزی بردسیر، دانشگاه باهنر کرمان جهت فراهم سازی امکانات برای این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌گردد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که پیش تیمار با مواد مورد مطالعه، می‌توانند از شدت تنش کادمیوم بکاهند و برخی سیستم‌های دفاعی مانند فعالیت آنزیم GPX و CAT را افزایش دهند. همچنین با تولید اسمولیت‌هایی مثل پروتئین و پرولین در ایجاد تنظیم اسمزی نقش داشته باشند. با این حال میزان تاثیرپذیری گیاه همیشه بهار از پیش تیمار با این مواد، متفاوت بود و بیشترین تاثیر را ورمی‌کمپوست و تفاله موم زنبور عسل داشت، که البته این دو ماده در بسیاری صفات با ماده شیمیایی و گران قیمت سالیسیلیک اسید در یک سطح قرار داشتند. صفات جوانه‌زنی مورد

منابع

- Afkari, F. (2018). The effect of seed priming on germination indices and activity of some antioxidant enzymes of basil plant (*Ocimum basilicum* L.) under drought stress conditions. *Developmental Biology*, 9(3), 33-44. (In Persian).
- Ali, B., Gill, R. A., Yang, S., Gill, M. B., Farooq, M. A., Liu, D., & Zhou, W. (2013). Regulation of cadmium-induced proteomic and metabolic changes by 5-aminolevulinic acid in leaves of *Brassica napus* L. *PLoS one*, 8(9), e7300.
- Asgher, M., Khan, M. I. R., Anjum, N. A., & Khan, N. A. (2015). Minimising toxicity of cadmium in plants—role of plant growth regulators. *Protoplasma*, 252, 399-413.
- Hundare, A., Joshi, V., & Joshi, N. (2022). Salicylic acid attenuates salinity-induced growth inhibition in in vitro raised ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) plantlets regulating ionic balance and antioxidative system. *Plant Stress*, 100070.
- Amiri Kia, F., & Nabipour, F. (2024). The effect of seed pretreatment on germination, total dry matter and some physiological traits of two species of scurvy plants (*Alhagi maurorum* Esfahan ecotype and *A. graecorum* Khuzestan ecotype) under saline water conditions. *Environmental stresses in agricultural sciences*, (In Persian).
- 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.
- Badakhshan, M., Mehdi Khani Moghadam, E. A., Baghai Rawri, S., & Rouhani, H. (2016). Investigating the combined effect of trichoderma fungus and bacillus bacteria on tomato seed germination in laboratory conditions. In the first international conference and the third national conference on agricultural engineering and management, environment and sustainable natural resources.
- Bates, L. S., Waldren, R. P., & Tear, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*, 39, 207-305.
- Eskandari, S., Yadgari, M., & Iranipoor, R. (2017). Investigating the accumulation of cadmium and lead in the medicinal plant marigold (*Calendula officinalis*). *Journal of Plant Environmental Physiology*, 12 (3), 76-92. (In Persian).
- Ganjali, A., Mousavi Kohi, S.M., Beik Khormizi, A., & Hosseini, S.W. (2019). Investigating the effect of seed pretreatment on germination and morphophysiological traits of hashemi rice seedlings (*Oryza sativa* L.cv. Hashemi) under different moisture regimes. *Iranian Seed Science and Research*, 7(4), 433-445. doi: 10.22124/jms.2020.4641 (In Persian).
- Hassanzadeh, A., Heydarzadeh, S., & Ghaderi, N. (2022). Evaluation of quantitative and qualitative characteristics of *Calendula officinalis* L. in different treatments of seed priming and biofertilizer. *Crop Production*, 14(4), 123-139.
- Khan, F., Hussain, S., Tanveer, M., Khan, S., Hussain, H. A., & Iqbal, B. (2018). Coordinated effects of lead toxicity and nutrient deprivation on growth, oxidative status, and elemental composition of primed and non-primed rice seedlings. *Environmental Science Pollution Research*, 25, 21185-21194.
- Khalid, K. A., & Teixeira da Silva, J. (2012). Biology of *calendula officinalis* Linn: focus on pharmacology, biological activities and agronomic practices. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 6(1), 12-27.
- Moradi, R., Pourghasemian, N., & Naghizadeh, M. (2019). Effect of beeswax waste biochar on growth, physiology and cadmium uptake in saffron. *Journal of Cleaner Production*, 229, 1251-1261.
- Pourghasemian, N., Moradi, R., Naghizadeh, M., & Landberg, T. (2020). Mitigating drought stress in sesame by foliar application of salicylic acid beeswax waste and licorice extract *Agricultural Water Management*, 231,105997.
- Pourghasemian, N., Moradi, R., & Irriti, M. (2023). Assessing anti-transpiration potential of beeswax waste on *Calendula officinalis* under drought stress conditions. *Scientia Horticulturae*, 315,111987.
- Pourghasemian, N., Shamsadin, M., & Ilkhani, N. (2017). The effect of medicinal plant extracts on some growth and biochemical indicators of sesame. *Iran Seed Science and Research*, 5(4), 71-85. doi: 1022124/jms.2018.2947. (In Persian).
- Rahimi, V., & Davari, M. (2017). Knowing the defense mechanisms of plants and using them in the management of plant diseases. *Biosecurity Scientific Quarterly*,10(3), 44-37
- Ranal, M. A., & Santana, D. G. (2006). How and why to measure the germination process? *Revista Brasileira De Botanica*, 29, 1-11.

- Raza, A., Habib, M., Kakavand, S. N., Zahid, Z., Zahra, N., Sharif, R. and Hasanuzzaman, M. (2020). Phytoremediation of cadmium: physiological, biochemical, and molecular mechanisms. *Biology*, 9(7), p177.
- Rezaei, L., Baradaran, M. H., Bakhtiari, S. (2019). Effect of seed priming on germination characteristics and vegetative growth of Basil (*Ocimum basilicum* L.) under salt stress condition. *Journal of Seed Research*, 9(3), 1-10. (In Persian).
- Sarvari, S., Danai, A., Hemti, Kh., & Alden Moghaddam, A. R. (2021). Metabolic and enzymatic responses of marigold plant (*Calendula officinalis* L.) to spermidine, citric acid and proline foliar application under drought stress after harvest. *Agricultural Science and Technology*, 23(6), 1339–1353. (In Persian).
- Sheikhi, J., Raunghi, A. M. and Mousavi, S. M. (2013). Effect of vermicompost and sodium chloride on spinach growth and some soil chemical properties. *Journal of Science and Technology of Greenhouse Crops*, 20, 1-121. (In Persian).
- Thiruvengadam, M., Chi, H. Y., & Kim, S. H. (2024). Impact of nanopollution on plant growth, photosynthesis, toxicity, and metabolism in the agricultural sector: An updated review. *Plant Physiology and Biochemistry*, 108370.
- Zare Mehrjardi, M, Bagheri, A., Bahrami, A. R., Nabati, J., & Masoumi, A. (2016). Effect of drought stress on osmotic adjustment, proline and soluble sugars in root and shoot and relationship with drought tolerance in 12 genotypes of Chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Iranian Journal of Field Crop Science*, 47(3), 451-462. (In Persian).
- Zulfiqar, U., Ayub, A., Hussain, S., Waraich, E. A., El-Esawi, M. A., Ishfaq, M., Ahmad, M., Ali, N., & Maqsood, M. F. (2022). Cadmium toxicity in plants: Recent progress on morpho-physiological effects and remediation strategies. *Journal of soil science and plant nutrition*, 22(1), 212-269.

The effect of pretreatment of marigold seeds with some organic and chemical substances on seedling resistance to cadmium stress

Rezvan Javari¹, Nasibeh Pourghasemian^{*2}, Rohullah Moradi³

1. MSc. graduate, Department of Plant Productions, Agricultural Faculty of Bardsir, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

2. Associate Professor, Department of Plant Productions, Agricultural Faculty of Bardsir, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

3. Associate Professor, Department of Plant Production, University of Torbat Heydarieh, Torbat Heydarieh, Iran

Received: 07-05-2024

Accepted: 06-08-2024

Abstract

Seed priming used in order to improve germination and produce strong seedlings plays a key role in improving plant resistance to biological stresses. In order to investigate the potential of seed priming with some organic substances in increasing the resistance of marigolds to cadmium toxicity, an experiment with a factorial layout was conducted using a completely randomized design in three replications in the research laboratory of Shahid Bahonar University, Kerman. The treatments were included three Cd levels (0, 40, 60 mg/kg) and eight types of priming including no pretreatment (control), beeswax waste extract, licorice, haloxylyon, vermicompost, cordia, water (water distilled) and salicylic acid (SA). The results showed that with increasing of Cd concentration, the germination indexes and also the amount of protein of marigold seedlings decreased and the content of proline and gayacol peroxidase (GPX) enzyme activity increased significantly. Germination percentage, seedling dry weight, stem length, root, root-to-stem ratio, and catalase (CAT) enzyme activity in stress and non-stress conditions in priming with beeswax waste and vermicompost extract were increased. Haloxylyon and licorice showed the lowest values in the mentioned traits. In severe stress conditions (60 ppm), the highest protein content was related to the priming with vermicompost and beeswax waste extract. In general, the results of this research showed that seed priming with vermicompost and beeswax waste extract reduced the negative effects of cadmium stress in marigold.

Keywords: medicinal plant, heavy metal, salicylic acid vermicompost

Citation: Javari, R., Pourghasemian, N., & Moradi, R. (2024) The effect of pretreatment of marigold seeds with some organic and chemical substances on its seedling resistance to cadmium stress *Plant Production and Genetics*, 5(2), 255-270 <https://doi.org/10.22034/plant.2024.141245.1102>

Copyrights:

Copyrights rights for this article is retained by the author (s), with publication rights granted to Plant Production and Genetics. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.



*Corresponding Author Email: n.pourghasemian@uk.ac.ir