"نشریه علوم و فناوری بذر ایران"
جلد سیزدهم، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳
(ص ۴۶-۳۳)
مقاله پژوهشی

Iranian Journal of Seed Science and Technology
Vol.: 13, No.: 2, Summer 2024
(pp: 33-46)
DOI: 10.22092/ijsst.2023.362518.1491
Research Article

بررسی تاثیر پیش‌تیمار اسید سالیسیلیک بر جوانه‌زنی بذرهای زوال یافته و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه کدوی پوست کاغذی تحت تنش خشکی

نساء قره باغلی[1]*

استادیار پژوهشی، بخش تحقیقات گیاهان زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع‌طبیعی استان همدان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، همدان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۲۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۱۵)

چکیده

با هدف ارزیابی اثر اسید سالیسیلیک در بهبود کارآیی بذرهای زوال یافته کدوی پوست کاغذی در شرایط تنش خشکی، آزمایشی به شکل فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به اجرا درآمد. پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک شامل صفر (پیش تیمار شده با آب)، ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار در سطوح مختلف خشکی صفر، ۰/۲-، ۰/۴- و ۰/۶- مگاپاسکال مورد بررسی قرار گرفت. شاخص های متوسط زمان جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی، طول گیاهچه، بنیه بذر، نشت الکترولیتی غشاء، قندهای محلول، پروتئین‌های محلول، مالون دی‌آلدهید، فعالیت آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و آنزیم‌های کاتالاز مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد پیش‌تیمار بذرها با غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک، از کاهش معنی‌دار شاخص‌های جوانه‌زنی بذرهای زوال یافته کدوی پوست کاغذی تحت تنش خشکی جلوگیری نمود. به‌طوری‌که در پتانسیل ۰/۶- مگاپاسکال، پیش‌تیمار بذرها با ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک درصد جوانه‌زنی، شاخص بنیه بذر، قندها و پروتئین‌های محلول را به‌ترتیب ۸۰/۲، ۱۶۹/۴، ۵۱/۶، ۹۳/۴ درصد و برای فعالیت آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و آنزیم‌های کاتالاز را به‌ترتیب ۴۱/۲، ۱۲ و ۱۱/۸ درصد نسبت به شاهد افزایش داد. بر اساس یافته‌های تحقیق پیش‌تیمار اسید سالیسیلیک با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار به منظور کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی برای بذر های زوال یافته کدوی پوست کاغذی توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی: اسید سالیسیلیک، پروتئین‌های محلول، تنش اکسیداتیو ، درصد جوانه‌زنی

Investigating the effect of pretreatment of salicylic acid on the germination of aged pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seeds and antioxidant enzymes of plant under drought stress

Nesa Gharehbaghli[1]*

Assistant professor, Horticulture Crops Recearch Department, Hamedan Agriculture and Natural Resources Reacerch and Education Center, AREEO, Hamedan , Iran.
(Received: Jun. 10, 2023 – Accepted: Oct. 07, 2023)

Abstract

With the aim of evaluating the effect of salicylic acid in improving the efficiency of the aged pumpkin seeds under drought stress conditions, a factorial experiment was carried out in the form of a completely randomized design with three replications. Pretreatment of different concentrations of salicylic acid including zero (pretreated with water), 1 and 1.5 mM at different drought levels of zero, -0.2, -0.4 and -0.6 MPa were investigated. Indicators of mean germination time, germination percentage, seedling length, seed vigor, membrane electrolyte leakage, soluble carbohydrates, soluble proteins, malondialdehyde, ascorbate peroxidase activity, superoxide dismutase and catalase enzymes were evaluated. The results showed that the pretreatment of seeds with different concentrations of salicylic acid prevented the significant decrease in the germination indices of the deteriorated pumpkin seeds under drought stress. So that at the potential of -0.6 MPa, the treatment of seeds with 1.5 mM salicylic acid increased the percentage of germination, seed germination index, soluble carbohydrates and soluble proteins respectively 80.2, 169.4, 51.6, 93.4% and for the activity of ascorbate peroxidase, superoxide dismutase and catalase enzymes, 41.2%, 12% and 11.8%, respectively, compared to the control. Based on the research findings, seed priming with 1.5 mM concentrations of salicylic acid is recommended in order to reduce the oxidative stress caused by drought for pumpkin seeds.

Key words: germination percentage, oxidative stress, salicylic acid, soluble proteins

* Email: n.gharebaghli@areeo.ac.ir

مقدمه

کدوی پوست کاغذی (*Cucurbita pepo* L.) گیاهی علفی، یک‌ساله، دارای ساقه توخالی، کُرک‌دار و خزنده است که گاهی طول آن به شش متر هم می‌رسد (Rouhi *et al.*, 2021). میزان روغن موجود در بذر کدوی پوست کاغذی با توجه به ژنوتیپ بین ۳۰ تا ۵۰ درصد متغیر است. این روغن در صنایع داروسازی استفاده می‌شود. مواد موثره بذرهای کدوی پوست کاغذی شامل ویتامین A، فیتوسترول، فلاونوئید، اسیدهای چرب و مواد معدنی هستند (Macedo *et al.*, 2022). روغن موجود در بذر کدوی پوست کاغذی از نوع غیر اشباع شامل اسید لینولئیک و اسید اولئیک است (Rouhi *et al.*, 2021). قابلیت نگهداری این گونه بذرها به دلیل اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع کاهش یافته و این مساله منجر به تسریع در فرآیند نامطلوب زوال و کاهش خصوصیات فیزیولوژیکی بذر به ویژه کیفیت آن ها در طول دوره انبارداری می گردد (Rouhi *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2023). بنابراین می‌توان اظهار داشت زوال بذر به همراه آفات و علف‌های هرز در زمرهٔ عوامل مهم خسارت‌زا در چرخهٔ تولید محصولات زراعی به شمار می‌رود (Ranganathan *et al.*, 2023). میزان این خسارت در برخی از پژوهش ها تا ۲۵ در صد برآورد شده اما شدت این خسارت در گیاهان روغنی بیشتر گزارش شده است (Tabatabae, 2013).

از سوی دیگر تنش خشکی از مهم‌ترین فاکتورهای محدودکننده رشد و تولید گیاهان زراعی محسوب شده و با تاثیر بر جوانه‌زنی و سبز شدن گیاهان در مزرعه منجر به کاهش بیش از ۵۰ درصدی در میانگین تولید اکثر محصولات در سرتاسر جهان می‌شود (Gonzalez, 2023). این تنش اثر منفی مضاعفی بر جوانه‌زنی، ظهور و رشد گیاهچه بذرهای زوال یافته داشته و خسارت وارده به محصول را نیز دوچندان می کند (Huang *et al.*, 2023).

اسید سالیسیلیک یک تنظیم کننده رشد با ماهیتی فنولیکی ا ست که نقشی موثر در فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه نظیر فتوسنتز، متابولیسم نیترات، تولید اتیلن، تولید گرما و گلدهی دارد. این تنظیم کننده همچنین نقش مهمی در حفاظت از گیاه تحت تنش های زنده و غیرزنده دارد (Ashraful Alam *et al.*, 2022). به عبارت دیگر اسید سالیسیلیک به وسیله سلول‌های ریشه تولید می‌شود و نقش محوری در تنظیم فرآیند های فیزیولوژیکی مختلف مثل رشد، نمو گیاه، جذب یون، فتوسنتز و جوانه‌زنی ایفا می کند. همچنین این ترکیب با اثر روی اسید آبسیزیک و انباشتگی این تنظیم کننده رشد در گیاه باعث سازگاری به تنش‌های محیطی می‌شود (Behnam *et al.*, 2019). جومالی و همکاران (Jumali *et al.*, 2011) دریافتند اغلب ژن‌های پاسخ دهنده به تیمارهای اسید سالیسیلیک با مسیرهای سیگنالی تنش در ارتباطند. این ژن‌ها شامل: ژن‌های کدکننده چاپرون‌ها (Chaperones)، پروتئین های شوک حرارتی (Heat Shock Proteins) ، آنتی اکسیدان‌ها و ژن‌های بیوسنتز کننده متابولیت‌های ثانویه نظیر سیناپیل الکل دهیدروژناز (Sinapyl alcohol dehydrogenase)، سینامیل الکل دهیدروژناز (Cinnamyl alcohol dehydrogenase) و سیتوکروم پی-۴۵۰ (Cytochrome-P450) می‌باشند. کاربرد مقادیر خارجی این تنظیم کننده به اشکال مختلفی نظیر پیش‌تیمار بذر، اضافه کردن به محیط کشت هیدروپونیک، اضافه نمودن به آب آبیاری و محلول‌پاشی روی برگ‌ها جهت کاهش اثرات ناشی از تنش مورد استفاده قرار می‌گیرد (Ashraful Alam *et al.*, 2022). بسیاری از محققین اظهار نموده‌اند که اسید سالیسیلیک سبب توسعه سیستم دفاع آنتی اکسیدانی گیاه تحت شرایط تنش می‌گردد و پس از تنش نیز توانایی بازگرداندن فعالیت‌های گیاه به وضعیت طبیعی را دارد (Ahmad *et al.*, 2020؛ Chen *et al.*, 2023). پیش‌تیمار بذر به عنوان یک روش کاربردی جهت بهبود کارآیی بذر در برابر تنش‌های اکسیداتیو مورد استفاده قرار می‌گیرد و در آن اجازه جذب آب تا حدی به بذر داده می‌شود که

دو مرحله از مجموع سه مرحله جوانه‌زنی صورت گیرد (Rouhi *et al.*, 2021). شرفی‌زاد و همکاران (Sharafizad *et al.*, 2013) گزارش کردند پیش‌تیمار بذرهای گندم با اسید سالیسیلیک منجر به بهبود درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و شاخص بنیه تحت تنش خشکی گردید. کبیری و همکاران (Kabiri *et al.*, 2014) اظهار داشتند تیمار اسید سالیسیلیک تحت تنش خشکی، گیاهچه‌های سیاهدانه (*Nigella sativa*) را از آسیب‌های ناشی از پراکسیداسیون چربی و کاهش محتوای رطوبت نسبی حفظ نمود. احمد و همکاران (Ahmad *et al.*, 2012) در آزمایش خود مشاهده کردند که بذرهای پیش‌تیمار شده با اسید سالیسیلیک سرعت جوانه‌زنی و بنیه گیاهچه بهتری در مقایسه با بذرهای شاهد تحت تنش داشت و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در بذرهای پیش‌تیمار شده بسیار بالاتر از بذرهای شاهد بود. در این راستا هدف از پژوهش حاضر، یافتن راهکاری جهت ارتقاء جوانه‌زنی و کیفیت فیزیولوژیک بذرهای زوال یافته کدوی پوست کاغذی و کاهش اثر سوء ناشی از تنش خشکی با استفاده از پیش‌تیمار اسید سالیسیلیک با تکیه بر صفات بیوشیمیایی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بوده است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و محل انجام آزمایش: این تحقیق با استفاده از بذر کدوی پوست کاغذی در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا انجام شد. بذرهای کدوی پوست کاغذی (*Cucurbita pepo* L. var. *styriaca*) از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد.

آزمون جوانه‌زنی استاندارد: قبل از اجرای این آزمون، بذرها جهت ضدعفونی در محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت ۵ دقیقه قرار گرفتند (Rouhi *et al.*, 2021). سپس جهت انجام آزمون جوانه‌زنی استاندارد، بذرها به‌مدت ۱۲ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و به روش بین کاغذ (Between paper) مورد ارزیابی قرار گرفتند. قوه نامیه بذرهای مورد استفاده قبل از انجام پیری تسریع شده، ۹۸ درصد به دست آمد. علت محاسبه درصد قوه نامیه بذرها قبل از آزمون پیری تسریع شده، ارزیابی بهتر افت قوه نامیه پس از اِعمال پیری تسریع شده بود. معیار جوانه‌زنی بذرها خروج بیش از دو میلی‌متر ریشه‌چه در نظر گرفته شد(ISTA, 2007).

آزمون پیری تسریع شده: جهت اِعمال پیری تسریع شده، تعداد ۱۰۰ بذر در ظروف مخصوصی که دارای توری‌های فلزی بودند قرار داده شد (بذرها روی توری‌ها قرار گرفت). دمای لازم برای پیری تسریع شده ۴۰ درجه سانتی‌گراد با رطوبت نسبی حدود ۱۰۰درصد و مدت زمان نگهداری ۴۸ ساعت بود (Delouche and Baskin, 1973).

پیش‌تیمار کردن بذور: بذرها پس از پیرشدن، به‌مدت ۱۰ ساعت در محلولی با غلظت‌های صفر (پیش‌تیمار شده با آب)، ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار از اسید سالیسیلیک قرار گرفتند. از بذرهای پیر شده اما بدون اِعمال پیش‌تیمار در تمام سطوح تنش و همچنین فاقد تنش به عنوان شاهد استفاده شد. به‌دنبال آن بذرها توسط آب مقطر شستشو شده و به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار گرفتند تا خشک شده و به رطوبت اولیه بازگردند. سپس نیمی از بذرها جهت آزمون جوانه‌زنی استاندارد و نیمی دیگر برای آزمون هدایت الکتریکی استفاده شدند.

تنش خشکی: جهت اِعمال تنش خشکی از پلی اتیلن گلایکول ۶۰۰۰ در غلظت‌های صفر (آب مقطر)، ۰/۲-، ۰/۴- و ۰/۶- مگاپاسکال (MPa) استفاده شد (Michel and Kaufmann, 1973). در انتهای آزمایش طول گیاهچه‌ها با خط‌کش اندازه‌گیری شد و نمونه‌گیری به منظور تعیین پارامترهای مختلف انجام گرفت.

پارامترهای اندازه‌گیری شده در آزمایش: درصد جوانه‌زنی نهایی (final germination percentage) از رابطه (۱) محاسبه شد (Yan, 2015):

$$FGP = \left(\frac{Ni}{N}\right) \times 100 \qquad \text{(رابطه ۱)}$$

Ni: تعداد کل بذرهای جوانه‌زده در روز آخر شمارش؛ N: تعداد کل بذرها

متوسط زمان جوانه‌زنی(MGT) از رابطه (۲) محاسبه شد (Ellis and Roberts, 1981) :

$$MGT = \sum Dn/n \qquad \text{(رابطه ۲)}$$

در رابطه بالا، D تعداد روز های شمارش از آغاز جوانه‌زنی و n تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز Dاُم می‌باشد.

شاخص بنیه‌طولی گیاهچه (VI) نیز از رابطه (۳) محاسبه شد (Sepehri and Rouhi, 2016):

$$VI = \sum(FGP \times SL)/100 \qquad \text{(رابطه ۳)}$$

FGP: درصد جوانه‌زنی نهایی؛ SL: طول گیاهچه

آزمون هدایت الکتریکی: با استفاده از دستگاه هدایت سنج الکتریکی (CyberScan PC 510)، هدایت الکتریکی محلول بذرها اندازه‌گیری شد. برای اینکار از ۵۰ بذر در سه تکرار برای هر تیمار استفاده گردید. ابتدا وزن خشک بذرها به وسیله ترازوی با دقت یک‌هزارم گرم (Sartorius BA310S) اندازه‌گیری شد. سپس بذرها به ظروف حاوی ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر (ارلن مایر) منتقل و توسط پلاستیک مشکی پوشانده و در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت ظروف حاوی آب و توده بذر از انکوباتور خارج و محلول به‌مدت ۳۰ تا ۴۰ ثانیه به آرامی همزده شد، اندازه‌گیری هدایت الکتریکی محلول در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. هدایت الکتریکی آب مقطر (شاهد) نیز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تعیین و از مقدار هدایت الکتریکی بدست آمده از هر تیمار کسر شد (Hampton and TeKrony, 1995). با استفاده از رابطه (۴) میزان هدایت الکتریکی برحسب وزن بذر مربوط برای هر نمونه تعیین گردید:

$$\text{هدایت‌الکتریکی } (\mu S.cm^{-1}g^{-1}) = \frac{\text{هدایت‌الکتریکی آب‌مقطر } (\mu S.cm^{-1}) - \text{هدایت‌الکتریکی محلول بذر } (\mu S.cm^{-1})}{\text{وزن‌بذر (g)}} \qquad \text{(رابطه ۴)}$$

اندازه‌گیری قندهای محلول: قندهای محلول با روش آنترون (Irigoyen *et al*., 1992) اندازه‌گیری شد.

پروتئین‌های محلول: از روش بردفورد (Bradford, 1976) جهت اندازه‌گیری پروتئین‌های محلول استفاده شد.

اندازه‌گیری محتوای مالون دی‌آلدهید: تعیین و اندازه‌گیری محتوای مالون دی‌آلدهید به عنوان شاخص آسیب به غشاء سلولی به‌روش کاوال‌کانتی (Cavalcanti *et al*., 2004) انجام شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: فعالیت آنزیم کاتالاز براساس میزان مصرف پراکسید هیدروژن در طول موج ۲۴۰ نانومتر و به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد و به‌شکل واحد آنزیم بر میلی‌گرم پروتئین گزارش شد (Cakmak and Horst, 1991). فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بر اساس میزان توانایی آنزیم در ممانعت از احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم درطول موج ۵۶۰ نانومتر نیز با روش اسپکتروفتومتری به‌صورت واحد آنزیم بر میلی‌گرم پروتئین بیان گردید (Giannopolitis and Ries, 1977). فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز مشابه کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز به روش اسپکتروفتومتری و بر اساس میزان اکسیداسیون آسکوربات درطول موج ۲۹۰ نانومتر اندازه‌گیری و به‌صورت واحد آنزیم بر میلی‌گرم پروتئین گزارش گردید (Nakano and Asada, 1981).

طرح آزمایشی و تجزیه‌های آماری: آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام و برای نُرمال کردن داده‌های درصد جوانه‌زنی از تبدیل آرک‌سینوس (arcsin) استفاده شد. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS, 9.1 صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون LSD درسطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر تنش خشکی و پرایمینگ به‌همراه اثرمتقابل آن‌ها بر درصد جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). در شرایط بدون تنش، بیشترین درصد جوانه‌زنی به بذرهای پیش‌تیمار شده تعلق داشت که اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند، اما تفاوت آن‌ها با بذرهای پیش‌تیمار نشده معنی‌دار بود (جدول ۲). کمترین درصد جوانه‌زنی در تنش صفر به بذرهای پیش‌تیمار نشده تعلق داشت. در پتانسیل ۰/۲- مگاپاسکال، بالاترین درصدجوانه‌زنی در پیش‌تیمار با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک مشاهده شد اما این تیمار اختلاف معنی‌داری با غلظت ۱ میلی‌مولار نداشت. پس از تیمارهای فوق، پیش‌تیمار با آب مقطر در رتبه بعدی قرار گرفت (جدول ۲). قابل ذکر است که در پتانسیل‌های ۰/۴- و ۰/۶- مگاپاسکال نیز روندی مشابه پتانسیل ۰/۲- مگاپاسکال مشاهده شد (جدول ۲).

بر اساس نتایج حاصله، کاربرد اسید سالیسیلیک موجب بهبود درصد جوانه‌زنی بذور کدوی پوست کاغذی شد. تاثیر مثبت اسید سالیسیلیک بر جوانه‌زنی را می‌توان به اثر این ترکیب بر بیوسنتز اتیلن نسبت داد (Sharafizadeh, 2017). همچنین گزارش شده است که اسید سالیسیلیک با تاثیر بر سنتز پروتئین بذر و افزایش جذب آب جوانه‌زنی بذور را بهبود می‌بخشد (Abdollahi *et al.*, 2016). پیش تر منتشر شده است که اسید سالیسیلیک نقش مهمی در حفاظت از گیاهان در برابر تنش‌های زنده و غیرزنده داشته و پیش‌تیمار بذر با اسید سالیسیلیک موجب کاهش اثرات ناشی از تنش و بهبود پارامترهای جوانه‌زنی شده است که نتیجه تحقیق حاضر با نتایج آنها مطابقت دارد (Kabiri *et al.*, 2014; Apon *et al.*, 2023). در این خصوص ژانگ و شانگ (Zhang and Shang, 2010) اثر پیش‌تیمار اسید سالیسیلیک روی بذرهای خیار (*Cucumis sativus*) تحت تنش شوری را مورد بررسی قرار داده و بیان داشتند درصد جوانه‌زنی بذرهای تیمار شده افزایش معنی‌داری داشت. این محققین اسید سالیسیلیک را عاملی محرک در بهبود سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی تحت تنش معرفی کردند.

متوسط زمان جوانه‌زنی

نتایج نشان داد اثرات اصلی و اثرمتقابل خشکی و پیش‌تیمار در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۱). در شرایط بدون تنش، تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد اما اختلاف آن‌ها با بذرهای پیش‌تیمار نشده معنی‌دار بود (جدول ۲). تشدید تنش خشکی از ۰/۲- به ۰/۶- مگاپاسکال متوسط زمان جوانه‌زنی را افزایش داد، به‌طوری که بیشترین متوسط زمان جوانه‌زنی در بذرهای پیش‌تیمار نشده در پتانسیل ۰/۶- مگاپاسکال مشاهده شد و کمترین مقادیر به‌ترتیب در غلظت‌های ۱/۵ و ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و پیش‌تیمار آب مقطر در تمام سطوح خشکی ثبت شد (جدول ۲). این در حالی بود که در تمام سطوح خشکی، اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های اسید سالیسیلیک مشاهده نشد اما تفاوت آن‌ها با پیش‌تیمار آب مقطر و عدم پیش‌تیمار معنی‌دار بود. محققان اظهار می‌دارند اغلب ژن‌های پاسخ دهنده به تیمارهای اسید سالیسیلیک نظیر ژن‌های کُدکننده چاپرون‌ها، پروتئین‌های شوک حرارتی، آنتی اکسیدان‌ها و ژن‌های بیوسنتز کننده متابولیت‌های ثانویه با مسیرهای سیگنالی تنش در ارتباط‌اند (Jumali *et al.*, 2011)، بنابراین با کاربرد اسید سالیسیلیک شاید بتوان تحمل به تنش ها در گیاهان را افزایش داد. گزارش شده است که اسید سالیسیلیک با افزایش بیوسنتز بعضی از تنظیم کننده های رشد گیاهی مانند اکسین، سیتوکینین و کاهش نشت یونی سلول‌های گیاهی قادر است تاثیرات منفی تنش بر روی گیاهان را کاهش دهد. در این رابطه شرفی‌زاد و همکاران (Sharafizad *et al.*, 2013) اذعان داشتند پیش‌تیمار بذرهای گندم با اسید سالیسیلیک منجربه کاهش متوسط زمان جوانه‌زنی تحت تنش خشکی گردید. زاده‌باقری (Zadehbagheri, 2014) نیز کاهش در

مدت زمان جوانه‌زنی بذرهای ذرت را در نتیجه پیش‌تیمار با اسید سالیسیلیک گزارش کرد.

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات جوانه‌زنی بذرهای پیرشده کدوی پوست کاغذی

Table 1- The ANOVA of germination characteristics of aged pumpkin seeds

		میانگین مربعات Mean Squares										
منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	GP	MGT	SL	VI	EC	Car	Pr	MDA	CAT	SOD	APX
پیش‌تیمار Priming	3	783.96**	14.03**	6.32**	5.54**	114.51**	59.22**	9.58**	447.53**	0.003**	28.83**	0.023**
تنش Stress	3	3324.98**	74.79**	65.89**	49.77**	230.47**	1318.45**	114.00**	3737.02**	0.02**	271.55**	0.042**
پیش‌تیمار * تنش Priming*Stress	9	53.71**	0.71**	1.40**	1.85**	1.78*	20.43**	0.97**	48.45**	0.0007**	9.92**	0.0017**
خطا Error	32	2.45	0.20	0.17	0.033	0. 75	0. 60	0.017	2.92	0.00004	0.22	0.0004
ضریب تغییرات (٪) CV (%)	-	3.94	5.10	10.01	9.30	3.18	6.69	3.66	3.08	3.79	2.41	2.35

به ترتیب ، معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد، یک درصد*,**,

Pr: پروتئین‌های محلول، Car: قندهای محلول، EC: هدایت الکتریکی، VI: شاخص‌بنیه‌طولی‌گیاهچه، SL: طول گیاهچه، MGT: متوسط زمان جوانه‌زنی، GP: درصد جوانه‌زنی، APX: آسکوربات پراکسیداز، SOD: سوپراکسیددیسموتاز، CAT: کاتالاز، MDA: مالون دی‌آلدهید،

**,* Respectively significant of 1 and 5 percent of probability

S.O.V: Source of Variation, df: degree of freedom, CV: Coefficient of Variation, GP: Germination Percentage, MGT: Mean Germination Time, SL: Seedling Length, VI: Vigor Index, EC: Electrical conductivity, Car: Carbohydrates, Pr: Protein content, MDA: Malondialdehyde content, CAT: Catalase, SOD: Superoxide dismutase, APX: Ascorbate peroxidase

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر پیش‌تیمار بذر بر خصوصیات مورفولوژیک بذرهای پیرشده کدوی پوست کاغذی تحت شرایط تنش خشکی

Table 2- Mean comparison of seed priming effect on morphological characteristics of aged pumpkin seed under drought stress conditions

تیمارها Treatments	تنش خشکی Drough Stress (MPa)	درصد جوانه‌زنی Germination Percentage	متوسط زمان جوانه‌زنی Mean Germination Time (day)	طول گیاهچه Seedling Length (cm)	شاخص بنیه Vigor Index
اسید سالیسیلیک ۱/۵میلی‌مولار Salicylic acid 1.5 mM	0	70.71 a	4.20 h	8.64 a	6.11 a
	-0.2	43.31 b	8.52 fg	3.67 c	1.59 d
	-0.4	36.80 c	9.26 ef	3.39 d	1.24 def
	-0.6	34.25 cd	9.67 de	2.86 cde	0.97 fgh
اسید سالیسیلیک ۱ میلی‌مولار Salicylic acid 1 mM	0	70.37 a	4.36 h	8.55 a	6.01 ab
	-0.2	41.97 b	8.65 f	3.58 c	1.50 de
	-0.4	35.66 cd	9.37 ef	3.14 cd	1.12 efg
	-0.6	33.91 cd	9.85 de	2.85 cde	0.96 fgh
پیش‌تیمار با آب Hydro-priming	0	70.29 a	4.61 h	8.06 a	5.66 b
	-0.2	32.66 d	9.97 de	3.31 cd	1.07 fg
	-0.4	27.72 e	10.55 bcd	2.95 cde	0.81 ghi
	-0.6	23.43 g	11.10 abc	2.14 ef	0.49 ij
شاهد nonprime	0	45.33 b	7.52 g	5.02 b	2.28 c
	-0.2	27.00 ef	10.21 cde	2.95 cde	0.80 ghi
	-0.4	24.00 fg	11.28 ab	2.41 def	0.58 hij
	-0.6	19.00 h	12.00 a	1.88 f	0.36 j

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد با آزمون LSD ندارند

In each column means followed by the same letter are not significantly different at the $P < 0.05$ level

طول گیاهچه با بررسی داده‌های طول گیاهچه مشخص گردید اثر

متقابل پیش‌تیمار و خشکی به‌همراه اثرات اصلی آن ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). در شرایط بدون تنش مشخص گردید که پیش‌تیمار بذر، طول گیاهچه را نسبت به عدم پیش‌تیمار افزایش داد اما اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نشد (جدول۲). در سطوح اول و دوم از تنش خشکی، پیش‌تیمار بذر نتوانست اثر معنی‌داری روی طول گیاهچه داشته باشد، هرچند که در پتانسیل ۰/۶- مگاپاسکال، پیش‌تیمار بذرهای با اسید سالیسیلیک اختلاف معنی‌داری با بذرهای پیش‌تیمار نشده ایجاد کرد (جدول ۲). محققین اظهار می‌دارند اسید سالیسیلیک با تحریک در تولید تنظیم کننده های رشد موجب بهبود در فرآیندهای رشدی گیاه می‌گردد (Ashraful Alam *et al.,* 2022). شرفی‌زاد و همکاران (Sharafizad *et al.*, 2013) دریافتند پیش‌تیمار بذرهای گندم با اسید سالیسیلیک موجب افزایش در رشد گیاهچه تحت تنش خشکی گردید. السهیل (Al-Sahil, 2016) در تحقیقی افزایش در طول گیاهچه خیار را درنتیجه پیش‌تیمار با اسید سالیسیلیک تحت شرایط شوری بیان نمودند. به نظر می رسد اسید سالیسیلیک با تاثیر بر مریستم‌های انتهایی و با تاثیر بر حفظ فشار آماس درون سلولی توسعه و تقسیم سلولی را افزایش و به تبعیت از آن رشد گیاه تحت شرایط تنش‌زا بهبود می‌یابد (Behnam *et al*., 2019). این محققین اظهار نمودند اسید سالیسیلیک با تاثیر بر غلظت یون پتاسیم بر حفظ فشار آماس درون سلولی کمک می‌نماید. همچنین این اسید با تاثیر بر متابولسیم ساکارز و افزایش فعالیت آنزیم اینورتاز در سلول، میزان گلوکز و فروکتوز تحت شرایط تنش زا را ارتقا می‌بخشد که این ترکیبات تاثیر مستقیمی بر تقسیم سلولی، طویل شدن و تمایز سلولی و در نهایت رشد گیاه دارد.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس، معنی‌دار بودن اثرات اصلی تنش، اثر اصلی پیش تیمار و برهم‌کنش آن‌ها را برای شاخص بنیه در سطح یک درصد نشان داد (جدول ۱). در شرایط بدون تنش، شاخص بنیه بذر بیشتر از تنش بود و بیشترین مقدار به غلظت ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک تعلق داشت که با پیش‌تیمار آب مقطر و بذرهای پیش‌تیمار نشده تفاوت معنی‌داری داشت اما تفاوت آن با غلظت ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک معنی‌دار نبود (جدول ۲). در خشکی ۰/۲- مگاپاسکال، بیشترین شاخص بنیه به ترتیب در غلظت‌های ۱/۵ و ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و پیش‌تیمار آب مقطر به دست آمد (جدول ۲). این در حالی بود که اختلاف بین غلظت‌های اسید سالیسیلیک با یکدیگر معنی‌دار نبود. همچنین بین شاخص بنیه حاصل از پیش‌تیمار آب مقطر و بذرهای پیش‌تیمار نشده تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲). در پتانسیل ۰/۴- مگاپاسکال، اختلاف معنی‌داری بین روش‌های مختلف پیش‌تیمار ثبت نشد. در این سطح از خشکی، پیش‌تیمار آب مقطر از یک‌سو با غلظت اول اسید سالیسیلیک و از سوی دیگر با بذرهای پیش‌تیمار نشده اختلاف معنی‌داری به لحاظ آماری نداشت (جدول ۲). در پتانسیل ۰/۶- مگاپاسکال نیز روند نتایج مشابه خشکی ۰/۲- مگاپاسکال بود (جدول ۲). بهبود در شاخص بنیه بذر در نتیجه پیش‌تیمار با اسید سالیسیلیک در لوبیا (Gharib and Hegazi, 2010)، ذرت (Ahmad *et al.*, 2012) ، کلزا (Mir-Mahmoudi *et al.*, 2014) و نیشکر (Apon *et al.*, 2023) تحت شرایط تنش‌زا و عدم تنش گزارش شده است (Sharafizadeh, 2017). اظهار نمودند پرایمینگ بذر با اسید سالیسیلیک از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی مانند آلفا و بتا آمیلاز، سنتز RNA ریبوزومی و DNA میتوکندری کیفیت جوانه‌زنی و بنیه بذر را به صورت معنی‌داری بهبود می‌بخشد.

شاخص طولی بنیه گیاهچه

آزمون نشت الکترولیتی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس برای هدایت الکتریکی مشخص نمود اثرات اصلی در سطح یک درصد و اثر متقابل در سطح پنج درصد معنی دار شدند (جدول ۱). در شرایط بدون تنش، بالاترین میزان هدایت الکتریکی را بذرهای پیش‌تیمار نشده از خود نشان دادند و در بین تیمارهای مختلف، بیشترین میزان هدایت الکتریکی در پیش‌تیمار با آب مقطر مشاهده شد (جدول ۳). کمترین مقدار هدایت الکتریکی بذر در شرایط عدم تنش متعلق به بذرهای پیش‌تیمار شده با ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک بود که با مقادیر حاصل از غلظت ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک تفاوت معنی‌داری نداشت اما اختلاف آن با پیش‌تیمار آب مقطر و بذرهای پیش‌تیمار نشده معنی‌دار بود (جدول ۳). تشدید تنش هدایت الکتریکی را در بذرهای پیش‌تیمار شده و پیش‌تیمار نشده افزایش داد. پیش‌تیمار بذرها به‌ویژه با اسید سالیسیلیک، اثر منفی زوال و تنش بر هدایت الکتریکی را تا اندازه بیشتری نسبت به پیش‌تیمار آب مقطر خنثی نمود (جدول ۳). بیشترین مقدار هدایت الکتریکی متعلق به بذرهای پیش‌تیمار نشده در پتانسیل ۰/۶- مگاپاسکال بود (جدول ۳). کمترین مقادیر هدایت الکتریکی نیز به ترتیب در غلظت های ۱/۵ و ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و پیش‌تیمار آب مقطر ثبت گردید (جدول ۳). این در حالی بود که در هیچ یک از سطوح خشکی بین غلظت‌های اسید سالیسیلیک تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. به نظر می‌رسد پیش‌تیمار بذرهای کدوی پوست کاغذی با اسید سالیسیلیک قادر است آسیب‌های وارده به غشاء سلول را کاهش دهد زیرا توانست هدایت الکتریکی را به شکل معنی‌داری نسبت به بذرهای پیش‌تیمار شده با آب و عدم پیش‌تیمار کاهش دهد. این مساله می‌تواند ناشی از بهبود سیستم دفاع آنتی اکسیدانی گیاه باشد. آزوز و همکاران (Azooz *et al.*, 2011) در مطالعه خود اثر پیش‌تیمار اسید سالیسیلیک با غلظت ۰/۲ میلی‌مولار را روی بذرهای باقلا (*Vicia faba*) تحت شرایط تنش‌زا مورد بررسی قرار داده و بیان داشتند، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز و آسکوربات پراکسیداز در بذرهای پیش‌تیمار شده افزایش یافته است. این در حالی بود که میزان نشت مواد از بذرها و پراکسیداسیون چربی در بذرهای پیش‌تیمار شده کاهش یافته بود. آن‌ها نقش حفاظتی اسید سالیسیلیک در حفظ انسجام غشاء و ممانعت از پراکسیداسیون چربی را به‌عنوان مهم‌ترین عوامل در کاهش اثرات شوری عنوان کردند. همچنین احمد و همکاران (Ahmad *et al.*, 2020) اظهار داشتند اسید سالیسیلیک با ارتقاء سیستم دفاع آنتی اکسیدانی صدمات گونه‌های فعال اکسیژن به غشاء را کاهش می‌دهد و انسجام غشاء پلاسمایی را حفظ می‌نماید. میرمحمودی و همکاران (Mir-Mahmoudi *et al.*, 2014) نیز نتایج مشابهی را در نتیجه پیش‌تیمار با اسید سالیسیلیک روی کلزا گزارش کردند. شرفی‌زاده (Sharafizadeh., 2017) بیان نمود که اسید سالیسیلیک با تاثیر بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی موجبات کاهش در فرایند پراکسیداسیون لیپیدها را فراهم می سازد.

قندهای محلول

با توجه به معنی‌دار شدن اثرات اصلی و برهمکنش خشکی و پیش‌تیمار (جدول ۱)، نتایج نشان داد که در شرایط بدون تنش کم‌ترین مقدار قند های محلول در بذر های پیش‌تیمار نشده و بیشترین آن در بذر های پیش‌تیمار شده به دست آمد (جدول ۳). این در حالی بود که روش‌های مختلف پیش‌تیمار تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند اما اختلاف آن‌ها با بذرهای پیش‌تیمار نشده معنی‌دار بود (جدول ۳). با افزایش شدت تنش میزان قندهای محلول در بذرهای پیش‌تیمار شده و پیش‌تیمار نشده به شدت کاهش یافت (جدول۳). بالاترین میزان قند های محلول در سطوح ۰/۲- و ۰/۴- مگا پاسکال خشکی مربوط به پیش‌تیمار با اسید سالیسیلیک بود که با پیش‌تیمار آب مقطر و بذرهای پیش‌تیمار نشده به لحاظ آماری تفاوت داشت (جدول ۳). در پتانسیل ۰/۶-

مگا پاسکال، بین تیمارهای مختلف و عدم پیش‌تیمار تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳). اسید سالیسیلیک با اعمال تنظیم اسمزی، حفظ آماس سلولی، انسجام غشای پلاسمایی و ممانعت از خسارت رادیکال‌های آزاد سبب افزایش تحمل گیاه به تنش های غیرز نده می‌گردد (Ahmad *et al.*, 2012; Apon *et al.,* 2023; Azooz *et al.*, 2011; Hayat *et al.*, 2010;). قندهای محلول از جمله ترکیبات موثر در برقراری تعادل اسمزی هستند و کاربرد اسید سالیسیلیک امکان افزایش در محتوای آن ها را فراهم می‌آورد. در این راستا کبیری و همکاران (۲۰۱۴) بیان داشتند کاربرد اسید سالیسیلیک به‌صورت پیش‌تیمار در سیاهدانه موجب افزایش در میزان قندهای محلول و افزایش تحمل به خشکی شد. خسروی و همکاران (Khosravi *et al.*, 2011) نیز افزایش در محتوای قندهای محلول گیاه مریم‌گلی (*Salvia officianlis*) را در نتیجه کاربرد اسید سالیسیلیک تحت تنش گزارش کردند. پیش‌تر منتشر شده است که سالیسیلیک اسید از طریق بهبود بیوسنتز ترکیبات آلی مانند قندهای محلول، چربی کل، همی سلولز، گلیکولیپید و استرول اندام هوایی، باعث سازگار شدن گیاه به شرایط تنش‌زا می‌شود (Abdollahi *et al*., 2016).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر پیش تیمار بذر بر خصوصیات فیزیولوژیک بذرهای پیرشده کدوی پوست کاغذی تحت تنش شرایط خشکی

Table 3- Mean comparison of seed priming effect on physiological characteristics of aged pumpkin seed under drought stress conditions

تیمارهای پیش جوانه‌دار Priming Treatments	تنش خشکی Drought Stress (MPa)	نشت الکترولیتی Electrolyte leakage ($\mu S.cm^{-1}g^{-1}$)	قندهای محلول Carbohydrates ($mg.[gdw]^{-1}$)	پروتئین های محلول Soluble proteins ($mg.[gfw]^{-1}$)	محتوای مالون دی آلدهید Malondialdehyde content ($nmol.[gfw]^{-1}$)	کاتالاز فعالیت Catalase ($Units[mgpr]^{-1}$)	فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز Superoxide dismutase ($Units[mgpr]^{-1}$)	فعالیت آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase ($Units[mgpr]^{-1}$)
اسید سالیسیلیک ۱/۵میلی‌مولار Salicylic acid 1.5 mM	0	18.57 j	30.65 a	9.26 a	24.12 j	0.263 a	29.66 a	0.421 ab
	-0.2	25.33 h	9.86 c	2.83 d	56.02 h	0.182 cd	19.07 d	0.314 c
	-0.4	28.08 fg	7.15 d	2.33 e	60.13 fg	0.176 cde	18.13 de	0.319 c
	-0.6	28.67 ef	5.11 efg	2.05 ef	64.71 de	0.170 def	16.92 fg	0.288 d
اسید سالیسیلیک ۱ میلی‌مولار Salicylic acid 1 mM	0	18.63 j	30.681 a	9.11 a	24.48 j	0.265 a	28.06 b	0.426 a
	-0.2	25.41 h	9.83 c	2.8397 d	57.22 gh	0.188 c	18.12 de	0.308 c
	-0.4	28.23 fg	7.03 d	2.30 e	61.03 efg	0.180 cd	17.44 ef	0.306 c
	-0.6	28.92 ef	4.91 efg	1.69 h	66.13 cd	0.162 cd	15.90 gh	0.271 ef
پیش‌تیمار با آب Hydro-priming	0	20.21 i	29.18 a	8.61 b	24.97 j	0.254 a	27.81 b	0.408 b
	-0.2	26.89 g	7.82 d	2.75 d	62.77 def	0.155 fg	17.98 e	0.261 fg
	-0.4	29.89 de	6.51 de	2.16 ef	65.78 cd	0.132 h	17.19 ef	0.245 h
	-0.6	31.15 cd	3.85 fg	1.69 h	70.73 b	0.117 h	15.69 h	0.229 i
شاهد nonprime	0	26.86 g	18.11 b	5.63 c	47.29 i	0.212 b	20.21 c	0.277 de
	-0.2	32.51 bc	7.13 d	1.11 h	65.11 d	0.180 d	17.67 ef	0.247 gh
	-0.4	33.47 ab	5.15 ef	1.10 h	69.13 bc	0.167 d-g	16.10 gh	0.229 i
	-0.6	34.24 a	3.37 g	1.06 h	77.10 a	0.152 g	15.11 h	0.204 j

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد ندارند

In each column means followed by the same letter are not significantly different at the $P < 0.01$ level

پروتئین‌های محلول

نتایج حاصل از تجزیه واریانس حاکی از معنی دار بودن اثرات اصلی و اثر متقابل خشکی و پیش‌تیمار بر پروتئین‌های محلول در سطح یک درصد بود (جدول ۱).

در شـرایط فقدان تنش، پیش‌تیمار با اسـید سـالیسـیلیک بیشترین میزان پروتئین‌های محلول را به خود اختصاص داد و تفاوت معنی‌داری بین سـطوح آن مشـاهده نشـد اما اختلاف آن‌ها با پیش‌تیمار آب مقطر و شـاهد معنی‌دار بود (جدول ۳). با افزایش شـدت تنش مقدار پروتئین های محلول کاهش یافت و کمترین میزان را بذرهای پیش‌تیمار نشـده نشـان دادند (جدول ۳). در سـطوح ۰/۲- و ۰/۴- مگاپاسـکال خشـکی، اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد اما تفاوت آن‌ها با بذرهای پیش‌تیمار نشـده معنی‌دار بود. در خشـکی ۰/۶- مگاپاسـکال، بین غلظت‌های اسید سالیسیلیک از یک‌سو و بین پیش‌تیمار آب مقطر و بذر های پیش‌تیمار نشـده از سـوی دیگر اختلاف معنی‌داری ثبت نشد. این در حالی بود که تفاوت غلظت‌های اسـید سـالیسـیلیک با پیش‌تیمار آب مقطر و بذرهای پیش‌تیمار نشده معنی‌دار بود (جدول ۳). مطالعات نشان داده پیش‌تیمار بذر با اسید سالیسیلیک تحت شرایط تنش نه تنها موجب افزایش در آمینواسـیدهای آزاد، پروتئین‌ها و قندهای محلول می‌شـود بلکه سـبب بهبود در فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و افزایش در کارآیی انتقال مواد غذایی از بافت ذخیره‌ای به جنین در حال رشـد می‌گردد (Savita and Jakhar, 2015; Kabiri *et al.*, 2014; Hayat *et al.*, 2010). در این راسـتا خسـروی و همکاران (Khosravi *et al.*, 2011) افزایش در پروتئین‌های محلول را در نتیجه کاربرد اسید سالیسیلیک روی گیاه مریم گلی تحت شـرایط تنشـی گزارش کردند. شـرایی و حجازی (Shraiy and Hegazi, 2009) نیز افزایش در پروتئین‌های محلول را در نتیجه کاربرد اسـید سـالیسـیلیک در نخود فرنگی (*Pisum Sativum*) اعلام کردند که نتیجه تحقیق حاضر با آن همخوانی دارد.

محتوای مالون دی آلدهید

بر اسـاس نتایج بدسـت آمده از تجزیه واریانس، اثر اصلی تنش خشکی و پیش‌تیمار به همراه اثرمتقابل آن‌ها بر محتوای مالون دی‌آلدهید در سـطح یک درصـد معنی‌دار شد (جدول ۱). بیشترین مقدار مالون دی‌آلدهید در شرایط عدم تنش به بذرهای پیش‌تیمار نشـده تعلق داشـت و کم‌ترین آن به بذرهای پیش‌تیمار شـده اختصـاص یافت (جدول ۳). این در حالی بود که اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف مشـاهده نشـد. با افزایش شـدت تنش محتوای این ترکیب افزایش یافت. در تمام سطوح خشکی، کم‌ترین مقادیر مالون دی‌آلدهید در پیش‌تیمار با اسـید سالیسیلیک مشاهده شد که غلظت‌ها اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشـتند اما تفاوت آن‌ها با پیش‌تیمار آب مقطر و بذرهای پیش‌تیمار نشـده معنی‌دار بود (جدول ۳). این در حالی بود که اختلاف بین پیش‌تیمار آب مقطر و بذرهای پیش‌تیمار نشده تنها در پتانسیل ۰/۶- مگاپاسکال معنی‌دار بود. مالون دی‌آلدهید و سـایر آلدهیدها اغلب جهت اندازه‌گیری میزان خسـارت وارده به غشـاء سـلول تحت شـرایط تنشـی مورد اسـتفاده قرار می‌گیرند (El-Beltagi and Mohammad, 2013). سونگ و همکاران (Song *et al.*, 2012) اظهار داشتند کاربرد اسید سالیسیلیک موجب کاهش در محتوای مالون دی‌آلدهید گندم تحت تنش اکسیداتیو شد. این محققین اثر محرّک اسید سالیسیلیک در بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسـیدانی را دلیل کاهش در محتوای مالون دی‌آلدهید دانسـتند. آزوز و همکاران (Azooz *et al.*, 2011) نیز افزایش در فعالیت آنزیم های آنتی اکسـیدانی در نتیجه پیش‌تیمار بذرهای باقلا با اسـید سالیسیلیک را عامل کاهش در پراکسیداسیون چربی عنوان کردند.

کاتالاز

با توجه به معنی‌دار شـدن اثرات اصـلی و برهمکنش خشـکی و پیش‌تیمار (جدول ۱)، در شـرایط بدون تنش فعالیت آنزیم کاتالاز در تمام تیمارها بیشتر از شاهد بود اما اختلاف بین تیمارها معنی‌دار نبود (جدول ۳). در خشـکی ۰/۲- مگاپاسـکال، کم‌ترین فعالیت کاتالاز به پیش‌تیمار آب مقطر تعلق داشـت و اختلاف آن با سـایر تیمارها و بذرهای پیش‌تیمار نشـده معنی‌دار بود (جدول ۳). این در

حالی بود که تفاوت غلظت دوم اسید سالیسیلیک و شاهد در فعالیت کاتالاز معنی‌دار نشد اما غلظت ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک اختلاف معنی‌داری با شاهد داشت (جدول ۳). در پتانسیل ۰/۴- مگاپاسکال، اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های اسید سالیسیلیک و بذرهای شاهد مشاهده نشد (جدول ۳). در خشکی ۰/۶- مگاپاسکال، اگرچه بیشترین فعالیت کاتالاز به بذرهای پیش‌تیمار شده با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک اختصاص داشت اما اختلاف معنی‌داری با غلظت ۱ میلی‌مولار نشان نداد (جدول ۳). به نظر می‌رسد نقش اسید سالیسیلیک در ارتقاء سیستم دفاع آنزیمی از راهکارهای اصلی در ایجاد تحمل به تنش‌های زنده و غیرزنده در گیاهان محسوب شود (Ashraful Alam *et al.*, 2022). در این خصوص آزوز و همکاران (Azooz *et al.*, 2011) اظهار داشتند پیش‌تیمار بذرهای باقلا با اسید سالیسیلیک تحت تنش شوری موجب افزایش در فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز شد. احمد و همکاران (Ahmad *et al.*, 2012) نیز افزایش در فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در بذرهای پیش‌تیمار شده ذرت با اسید سالیسیلیک را تحت تنش گزارش کردند. سونگ و همکاران (Song *et al.*, 2012) کاربرد مقادیر خارجی اسید سالیسیلیک در گندم را عامل افزایش در فعالیت کاتالاز تحت تنش اکسیداتیو عنوان کردند. احمد و همکاران (Ahmad *et al.*, 2020) در پژوهشی دیگر بهبود در فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه نخود فرنگی (*Pisum sativum*) در نتیجه کاربرد اسید سالیسیلیک تحت شرایط تنش را گزارش کردند.

سوپراکسیددیسموتاز

براساس نتایج آزمایش، اثرات اصلی و اثر متقابل پیش‌تیمار و خشکی در سطح احتمال یک درصد بر فعالیت این آنزیم معنی‌دار بود (جدول ۱). در شرایط عدم تنش، بیشترین فعالیت این آنزیم در غلظت ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک ثبت شد که با سایر تیمارها و شاهد تفاوت معنی‌داری داشت (جدول۳). در خشکی ۰/۲- مگاپاسکال، بیشترین فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در غلظت دوم اسید سالیسیلیک مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با غلظت اول نداشت اما اختلاف معنی‌داری با پیش‌تیمار آب مقطر و شاهد نشان داد (جدول ۳). در این سطح خشکی، بین غلظت ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک، پیش‌تیمار آب مقطر و بذرهای پیش‌تیمار نشده تفاوت معنی‌داری ثبت نگردید. در پتانسیل ۰/۴- مگاپاسکال، اختلاف معنی‌داری بین تیمارها به لحاظ فعالیت سوپراکسید دیسموتاز مشاهده نشد اما تفاوت آن‌ها با بذرهای پیش‌تیمار نشده معنی‌دار بود (جدول ۳). در خشکی ۰/۶- مگاپاسکال، بین غلظت‌های اسید سالیسیلیک از یک‌سو و بین پیش‌تیمار آب مقطر و بذرهای پیش‌تیمار نشده از سوی دیگر اختلاف معنی‌داری ثبت نشد. این در حالی بود که تفاوت غلظت ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با پیش‌تیمار آب مقطر و بذرهای پیش‌تیمار نشده معنی‌دار بود (جدول ۳). بهبود در فعالیت سوپراکسید دیسموتاز به‌عنوان اولین خط دفاعی جهت مقابله با گونه‌های فعال اکسیژن در نتیجه کاربرد اسید سالیسیلیک، بیانگر نقش مهم این ترکیب در سمیت‌زدایی رادیکال‌های آزاد تولید شده در جریان زوال و خشکی است. در این رابطه صدقی و همکاران (Sedghi *et al.*, 2013) اظهار داشتند کاربرد اسید سالیسیلیک در آفتابگردان میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز را نسبت به شاهد افزایش داد. سونگ و همکاران (Song *et al.*, 2012) و روحی و همکاران (Rouhi *et al.*, 2021) نیز افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در بذرهای کدوی پوست کاغذی را در نتیجه پیش‌تیمار تحت شرایط تنش خشکی را گزارش نمودند.

آسکوربات پراکسیداز

یافته ها نشان داد اثر اصلی تنش خشکی و پیش‌تیمار به‌همراه برهم‌کنش آن‌ها بر فعالیت آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار بود (جدول ۱). در شرایط طبیعی و بدون تنش، بالاترین فعالیت به غلظت ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک

اختصـــاص یافت که با پیش‌تیمار آب مقطر و بذرهای پیش‌تیمار نشـده تفاوت معنی‌داری داشـت اما تفاوت آن با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار اســید ســالیســیلیک معنی‌دار نبود (جدول۳). در خشکی ۰/۲- مگاپاسکال، بیشترین فعالیت بـه ترتیـب در غلظـت‌هـای ۱/۵ و ۱ میلی‌مولار اسـید سالیسیلیک و پیش‌تیمار آب مقطر بدست آمد (جدول ۳). این در حـالی بود کـه اختلاف بین غلظـت‌هـای اسـید سـالیسـیلیک با یکدیگر معنی‌دار نبود. همچنین بین فعالیت آسکوربات پراکسیداز در پیش‌تیمار آب مقطر و بذرهای پیش‌تیمار نشده تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳). در پتانسیل ۰/۴- مگاپاسکال، بیشترین فعالیت آسکوربات پراکسیداز در غلظت دوم اسید سالیسیلیک مشاهده شد که تفاوتی با غلظت اول اسید سالیسیلیک نداشت اما اختلاف معنی‌داری با پیش‌تیمار آب مقطر و شاهد نشان داد (جدول ۳). در خشکی ۰/۶- مگاپاسکال، بیشترین فعالیت به ترتیب در غلظت‌های ۱/۵ و ۱ میلی‌مولار اسـید سـالیسـیلیک و پیش‌تیمار آب مقطر بدســت آمد، به طوری که توانســتند میزان فعالیت را به‌ترتیب ۴۱/۲، ۳۲/۸ و ۱۲/۲ درصد نسبت بـه عـدم پیش‌تیمـار افزایش دهنـد (جـدول ۳). تحقیقـات حاکی از آن اسـت که اسـید سـالیسـیلیک تمایل زیادی در اتصال به آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز دارد و از این طریق نقش مهمی را در حفظ هموسـتازی سـلول در برابر صدمات ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن دارد که در نهایت سبب القای پاسخ‌های دفاعی در گیاهان می‌گردد (Hayat *et al.,* 2010; Azooz *et al.*, 2011). بهبود در فعالیت آســکوربات پراکســیداز در نتیجه کاربرد اســید ســالیســیلیک در باقلا (Azooz *et al.*, 2011)، ذرت (Ahmad *et al.*, 2012)، گندم (Song *et al.*, 2012) و سورگوم (Sheykhbaglou *et al.*, 2013) تحت تنش‌های خشکی و شوری گزارش شده است.

نتیجه‌گیری

در پژوهش پیش رو اثرات منفی تنش خشـکی و زوال بذر در نتیجه کاربرد پیش تیمار اسید سـالیسـیلیک با بهبود در فعـالیـت آنزیم‌هـای آســکوربـات پراکســیـداز، ســوپراکســیددیســموتاز و کاتالاز منجر به بهبود صـفات جوانه‌زنی، متوســط زمان جوانه‌زنی و بنیه بذر گردید. به‌طوری کـه کـاربرد ۱/۵ میلی‌مولار از این ترکیـب اثر مثبت بیشتری را نسبت به غلظت ۱ میلی‌مولار در خصوص ارتقاء صــفات مورد بررســی بذرهای زوال یافته کدوی پوسـت کاغذی داشـت. لذا با توجه به بررسـی غلظت‌های مذکور، این نکته به ذهن متبادر می‌گردد که غلظت ۱/۵ میلی‌مولار جهت کاهش اثرات منفی ناشــی از زوال بذر به ویژه در شـرایط تنش خشـکی برای بذرهای این گیاه قابل توصیه است.

منابع

Reference

Abdollahi, F., E.R.K. Sari, and L. Jafari. 2016. Effect of salicylic acid priming on seed germination and some vegetative and physiological characteristics of zinnia (*Zinnia elegans*) under drought condition. Iran. J. Seed Sci. Res. 3:105-116. DOR:20.1001.1.24763780.1395.3.4.9.9. (In Persian, with English Abstract)

Ahmad, F., A. Kamal, A. Singh, F. Ashfaque, S. Alamri, and M.H. Siddiqui. 2020. Salicylic acid modulates antioxidant system, defense metabolites, and expression of salt transporter genes in Pisum sativum under salinity stress**.** J. Plant Growth Regul. 41: 1905-1918.DOI:10.1007/s00344-020-10271-5.

Ahmad, I., T. Khaliq, A. Ahmad, S.M.A. Basra, Z. Hasnain, and A. Ali. 2012. Effect of seed priming with ascorbic acid, salicylic acid and hydrogen peroxide on emergence, vigor and antioxidant activities of maize. Afr. J. Biotechnol. 11: 1127-1132. DOI: 10.5897/AJB11.2266.

Alam, A., H. Ullah, N. Thuenprom, R. Tisarum, S. Cha-um, and A. Datta. 2022. Seed priming with salicylic acid enhances growth, physiological traits, fruit yield, and quality parameters of cantaloupe under water-deficit stress. S. Afr. J. Bot. 150: 1-12. DOI:10.1007/s42729-023-01314-3.

Al-Sahil, A.A. 2016. Effect of gibberellic and salicylic acids on seed germination attributes of cucumber (*Cucumis sativus* L.) under induced salt stress. Cercetari Agronomice in Moldova. 1: 99-109. DOI:10.1515/cerce-2016-0009.

Apon, T.H., S.F Ahmed, Z.F. Bony, M.R. Chowdhury, J.F. Asha, and A. Biswas. 2023. Sett priming with salicylic acid improves salinity tolerance of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) during early stages of crop development. Helyon. 9: 1-14. DOI:10.1016/j.heliyon.2023.e16030.

Azooz, M.M., A.M. Youssef, and P. Ahmad. 2011. Comparative evaluation of salicylic acid on growth, osmotic solutes and antioxidant enzyme activities on broad bean seedlings grown under diluted seawater. Int. J. Plant Physiol. Biochem. 3: 253-264. DOI:10.5897/IJPPB11.052.

Behnam, A., H. Abbaspour, and F. Saeid Nematpour. 2019. Effects of salicylic acid on growth improvement and changes of biochemical parameters of wheat seedlings in cadmium stress. J. Plant Res. 32: 315-327. DOR: 20.1001.1.23832592.1398.32.2.1.6. (In Persian, with English Abstract)

Bradford, M.M. 1976. A dye binding assay for protein. Anal. Biochem.72: 248-254. DOI:10.1006/abio.1976.9999.

Cakmak, I., and W. Horst. 1991. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glycine max*). Plant Physiol. 83: 463–468. DOI:10.1111/j.1399-3054.1991.tb00121.x.

Cavalcanti, F.R., J.T.A. Oliveira, A.S. Martins-Miranda, R.A. Viégas, and J.A.G. Silveira. 2004. Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt-stressed cowpeas leaves. New Phytol. 163: 563-571. DOI:10.1111/j.1469-8137.2004.01139.x.

Chen, S., C.B. Zhao, R.M. Ren, and J.H. Jiang. 2023. Salicylic acid had the potential to enhance tolerance in horticultural crops against abiotic stress. Front. Plant Sci. 14:1-9. DOI:10.3389/fpls.2023.1141918.

Delouche, J.C., and C.C. Baskin. 1973. Accelerated ageing technique for predicting relative storability of seed lots. Seed Sci. Technol. 1: 427-452.

El-Beltagi, H.S., and H. Mohammad. 2013. Reactive oxygen species, lipid peroxidation and antioxidative defense mechanism.Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca. 41: 44-57. DOI:10.15835/nbha4118929.

Ellis, R.A., and E.H. Roberts. 1981. The quantification of ageing and survival inorthodox seeds. Seed Sci. Technol. 9: 373-409.

Gharib, F.A., and A.Z. Hegazi. 2010. Salicylic acid ameliorates germination, seedling growth, phytohormone and enzymes activity in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under cold stress. J. Am. Sci. 6: 675-683.

González, E.M. 2023. Drought Stress Tolerance in Plants. Int. J. Mol. Sci. 24: 1-3. DOI:10.3390/ijms24076562.

Hampton, J.G., and D.M. TeKrony. 1995. Handbook of Vigour Test Methods. The international Seed Testing Association, Zurich, Switzerland.

Hayat, Q., S. Hayat, M. Irfan, and A. Ahmad. 2010. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A review. Environ. Exp. Bot. 68: 14-25. DOI:10.1016/j.envexpbot.2009.08.005.

Huang, C., A. Qin, Y. Gao, S. Ma, Z. Liu, B. Zhao, and Liu, Z. 2023. Effects of water deficit at different stages on growth and ear quality of waxy maize. Front. Plant Sci. 14: 1-14. DOI:10.3389/fpls.2023.1069551.

Irigoyen, J.J., D.W. Emerich, and M. Sanchez-Diaz.1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Physiol. Plant. 84: 55-60. DOI:10.1111/j.1399-3054.1992.tb08764.x.

ISTA. 2007. International Rules for Seed Testing. Seed Sci. Technol. 13: 299-520.

Jisha, K.C., K. Vijayakumari, and J.T. Puthur. 2013. Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. Acta Physiol. Plant. 35: 1381-1396. DOI: 10.1007/s11738-012-1186-5.

Jumali, S.S., I.M. Said, I. Ismail, and Z. Zainal. 2011. Genes induced by high concentration of salicylic acid in Mitragyna speciosa.Aust. J. Crop Sci. 5: 296- 303.

Kabiri, R., F. Nasibi, and H. Farahbakhsh. 2014. Effect of Exogenous Salicylic Acid on Some Physiological Parameters and Alleviation of Drought Stress in *Nigella sativa* Plant under Hydroponic Culture. Plant Prot. Sci. 50: 43-51. DOI:10.17221/56/2012-PPS.

Khosravi, S., A. Baghizadeh, and M.T. Nezami. 2011. The salicylic acid effect on the Salvia officianlis L. sugar, protein and proline contents under salinity (NaCl) stress. J. Stress Physiol. Biochem. 7: 80-87.

Macedo, C., A.M. Silva, A.S. Ferreira, M.M. Moreira, C. Delerue-Matos, and F. Rodrigues. 2022. Microwave-and ultrasound-assisted extraction of Cucurbita pepo seeds: A Comparison study of antioxidant activity, phenolic profile, and in-vitro cells effects. Appl. Sci. 12: 1-18. DOI:10.3390/app12031763.

Michel, B.E., and M.R. Kaufmann. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. Plant Physiol. 51: 914-916. DOI: 10.1104/pp.51.5.914.

Mir-Mahmoudi, T., S. Karbalaye Golizadeh, N. Khaliliqhdam, and S. Yazdanseta. 2014. The effect of salicylic acid on rate germination and seedling establishment on rapeseed (*Brassica napus* L.).Int. J. Agric. Innovations Res. 2: 1122-1125. DOI:10.15835/nsb12310777.

Nakano, Y., and K. Asada. 1981. Hydrogen peroxide scavenged by ascrobate-specific peroxidase in spinach chloroplast. Plant Cell Physiol. 22: 867–880. DOI: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232.

Rouhi, H.R., M.H. Vafaei, M. Saman, and A. Abbasi Surki. 2021. Effect of Hydrogen Peroxide on Physiological Quality and Germination of Aged Pumpkin Seeds under Drought Stress Condition. Philipp. Agric. Scientist. 104(1): 90-99.

Savita, K., and S. Jakhar. 2015. Effect of pre-treatment of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds on seed germination and seedling growth under salt stress. Int. J. Curr. Adv. Res. 3: 303-311

Sedghi, M., H.K. Basiri, and R.S. Sharifi. 2013. Effects of salicylic acid on the antioxidant enzymes activity in sunflower. Ann.West Un. Timişoara Ser. Biol. 16: 67-72.

Sepehri, A., and H.R. Rouhi. 2016. Enhancement of seed vigor performance in aged groundnut (*Arachis hypogaea* L.) seeds by sodium nitroprusside under drought stress. Philipp. Agric. Scientist. 99(4): 339-347.

Sharafizad, M., A. Naderi, S.A. Siadat, T. Sakinejad, and S. Lak. 2013. Effect of Salicylic Acid Pretreatment on Germination of Wheat under Drought Stress. J. Agric. Sci. 5: 179-199. DOI:10.5539/jas.v5n3p179.

Sharafizadeh, M. 2017. Effect of Salicylic Acid and Drought Stress on Germination and Activity of Antioxidant Enzymes of Barely. Iranian J. Seed Sci. Technol. 6: 161-169. DOI: 10.22034/IJSST.2018.116567. (In Persian, with English Abstract)

Sheykhbaglou, R., S. Rahimzadeh, O. Ansari, and M. Sedghi. 2013. The Effect of SalicylicAcid and Gibberellin on Seed Reserve Utilization, Germination and Enzyme Activity of Sorghum (*Sorghum bicolor* L.) Seeds under Drought Stress. J. Stress Physiol. Biochem. 10: 5-13.

Shraiy, A.M.E. and A.M. Hegazi. 2009. Effect of acetyl salicylic acid, indole-3- bytric acid and gibberellic acid on plant growth and yield of pea (*Pisum Sativum* L.). Aust. J. Basic Appl. Sci. 3: 3514-3523.

Song, W., A. Zheng, H. Saho, L. Chu, M. Brestic, and Z. Zhang. 2012. The alleviative effect of salicylic acid on the physiological indices of the seedling leaves in six different wheat genotypes under lead stress. Plant Omics J. 5: 486-493.

Tabatabaei, S.A. 2013. The Effect of priming on germination and enzyme activity of sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds after accelerated aging. J. Physiol. Biochem. 9: 132-138.

Wang, D., H. Xiao, X. Lyu, H. Chen, and F. Wei. 2023. Lipid oxidation in food science and nutritional health: A comprehensive review. Oil Crop Sci. 8: 35-44. DOI: 10.1016/j.ocsci.2023.02.002.

Yan, M. 2015. Hydropriming promotes germination of aged napa cabbage seeds. Seed Sci. Technol. 43: 303-307. DOI: 10.15258/sst.2015.43.2.12.

Zadehbagheri, M. 2014. Salicylic acid priming in corn (*Zea mays* L.var. Sc.704) Reinforces NaCl tolerance at germination and the seedling growth stage. Int. J. Biosci. 4: 187-197. DOI: 10.12692/ijb/4.5.187-197.

Zhang, Z., and Q. Shang. 2010. Promoting effect of salicylic acid and chitosan on germination of cucumber seeds under NaCl stress. ChinaVegetables. 1: 26-29.