مجله پژوهش‌های به زراعی
جلد۱۲، شماره ۱، بهار ۱۳۹۹

مجله پژوهش‌های به زراعی

اثر پرایمینگ ارگانیک بر ویژگی‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیمی بادرنجبویه (*Melissa Officinalis* L.) در شرایط تنش خشکی

روما کلهر منفرد[۱]، محمد نبی ایلکایی[۲]، فرزاد پاک نژاد[۳]*

۱-دانشجوی دکتری گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران
۲-دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران
۳ -استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۷/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۱۴

چکیده

جوانه‌زنی و استقرار گیاه یکی از چالش‌های کشاورزان در مناطق خشک و نیمه خشک است و پرایمینگ ارگانیک راهکار مناسبی جهت کاهش آلودگی‌های زیست محیطی ناشی از کاربرد نهاده‌های شیمیایی است. بدین منظور پژوهشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی بر بذر بادرنجبویه در سه تکرار در آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج اجرا شد. تیمارهای این آزمایش عبارتند از پنج سطح پرایمینگ (کیتوزان، اسید هیومیک، ورمی-کمپوست، آب مقطر و شاهد (بدون پرایم) و چهار سطح تنش خشکی (صفر، ۰/۳، ۰/۶، ۰/۹ مگاپاسکال). نتایج نشان داد که تنش خشکی کاهش درصد جوانه‌زنی، رشد و کیفیت گیاهچه‌های بادرنجبویه را در شرایط بدون پرایم در پی داشت و با افزایش شدت تنش خشکی، رشد گیاهچه‌ها کاهش یافتند. پرایمینگ کیتوزان، اسید هیومیک و ورمی‌کمپوست در افزایش ویژگی‌های جوانه‌زنی و همچنین مقابله با تنش خشکی، موثرتر از پرایمینگ آب مقطر (هیدروپرایمینگ) بود و کاهش اثرات منفی ناشی از تنش خشکی را به همراه داشت. پرایمینگ بذر با تیمارهای ذکر شده سبب روند کاهشی غلظت پرولین و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز شد. پرایمینگ با اسید هیومیک و ورمی‌کمپوست در شرایط بدون تنش به ترتیب منجر به افزایش ۱۹/۵۲٪ و۱۹/۹۳٪ جوانه‌زنی بادرنجبویه نسبت به تیمار بدون پرایم و تنش خشکی ۰/۹ مگاپاسکال گردید.

واژه‌های کلیدی: آسکوربات پراکسیداز، آلفا آمیلاز، اسید هیومیک، پرولین، کیتوزان، ورمی‌کمپوست

* نگارنده مسئول (farzadpaknejad@yahoo.com)

مقدمه

جوانه‌زنی بذر یکی از مراحل حیاتی و تعیین-کننده در چرخه رشدی گونه‌های گیاهی می-باشد، زیرا منجر به افزایش عملکرد گیاه و مقاومت گیاه در برابر تنش‌های محیطی می-شود (Machado *et al.*, 2017). هیدروپرایمینگ به دلیل محیا نمودن آب کافی برای بذر سبب افزایش جوانه‌زنی، خروج یکنواخت و سریع گیاهچه‌ها و افزایش رشد گیاهان در شرایط تنش‌های محیطی می‌شود (Tania *et al.*, 2020). در هنگام بروز تنش‌های محیطی، برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند آسکوربات پراکسیداز، در برگ افزایش یافته و همچنین آنزیم آلفا آمیلاز کاهش می‌یابد. البته میزان غلظت این آنزیم‌ها به شدت و مدت تنش نیز بستگی داشته و همچنین نوع گونه و مرحلهٔ رشد و نمو گیاه نیز در ساخته شدن این آنزیم‌ها تاثیرگذار هستند. گیاهان به کمک ترکیبات آنزیمی و غیرآنزیمی آنتی‌اکسیدانت اقدام به حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن و حفظ پایداری سلولی می‌نمایند (Daryanto *et al.*, 2016; Muhie *et al.*, 2021). کیتوزان یک ماده فعال زیستی است که به دلیل افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی در گیاهان، در زمان برخورد با آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از تنش‌های محیطی، کاربرد فراوانی دارد (Li *et al.*, 2020; Xiaochen *et al.*, 2020). محققین اعلام کردند که کیتوزان سبب افزایش ویژگی‌های رشد گندم (Behboudi *et al*, 2019) و ذرت (Gomes *et al.*, 2021) تحت تنش خشکی شده است. اسید هیومیک به علت دارا بودن هورمون‌های رشد، افزایش جذب عناصر پرمصرف و کم مصرف در گیاه را به همراه دارد و از طرف دیگر، مقاومت گیاه را در برابر تحمل تنش‌های محیطی افزایش می‌دهد (Tang *et al.*, 2020). گزارش شد که کاربرد اسید هیومیک موجب افزایش عملکرد ارزن (Shen *et al.*, 2020) و شنبلیله در برابر تنش خشکی شده است (Abd Elhakem *et al.*, 2021).

ورمی‌کمپوست دارای مواد آلی و عناصر غذایی پرمصرف و کم‌مصرف بسیاری در مقایسه با جوانه‌زنی می‌شود (Voko *et al.*, 2021). نتایج پژوهش‌ها نشان داده است که ورمی‌کمپوست موجب افزایش رشد ذرت (Jjagwe *et al.*, 2020)، کلزا (Feizabadi *et al.*, 2021) در شرایط تنش خشکی شده است. استفاده فراوان از نهاده‌های شیمیایی اثرات منفی فراوانی را بر چرخه‌های زیستی نظام‌های کشاورزی به وجود آورده است. تولید محصولات با کیفیت مناسب (خصوصا گیاهان دارویی)، ملزم به کاهش استفاده از نهاده‌های شیمیایی و افزایش کاربرد نهاده‌های ارگانیک است. بنابراین با توجه به اهمیت بهبود جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه‌ها در شرایط تنش‌های محیطی خصوصا تنش خشکی، این آزمایش با هدف بررسی اثر پرایمینگ مواد ارگانیک در شرایط تنش خشکی، بر روی بذر گیاه دارویی بادرنجبویه اجرا شد.

سایر کودهای آلی است که این امر سبب افزایش رشد گیاهان به ویژه در مرحله حساس

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار بر روی بذر بادرنجبویه (*Melissa Officinalis* L.) در آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج اجرا شد. تیمارهای این آزمایش عبارتند از پنج سطح پرایمینگ (کیتوزان، اسید هیومیک، ورمی‌کمپوست، آب مقطر و شاهد (بدون پرایم) و چهار سطح تنش خشکی (صفر، ۰/۳، ۰/۶، ۰/۹ مگاپاسکال). قبل از اجرای آزمایش کاغذهای صافی در اتوکلاو در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه ضدعفونی شدند. میز کار و ابزار مورد استفاده مانند پنس نیز توسط الکل طبی۸۰ درصدکاملا ضدعفونی شده و بذرها با محلول هیپوکلرید سدیم سه درصد به مدت دو دقیقه ضدعفونی و سپس با آب مقطر شستشو داده شدند. در هر واحد آزمایشی شامل ۱۵۰ عدد بذر بادرنجبویه بود که به روش میان کاغذ (ساندویچی) کاشته شد. قبل از انجام آزمایش،

ورمی‌کمپوست جهت تجزیه شیمیایی به آزمایشگاه ارسال شد (جدول ۱).

جدول۱ - خصوصیات فیزیکی و شیمیایی ورمی‌کمپوست

C/N	کربن آلی (٪)	مواد آلی (٪)	هدایت الکتریکی (ds/m)	پتاسیم (٪)	فسفر (٪)	نیتروژن (٪)	اسیدیته	رطوبت (٪)
۱۴/۷۵	۲۵/۲۳	۴۱/۲۶	۷/۸	۰/۵۰	۰/۴۷	۱/۷۹	۷/۸	۴/۵۸

برای تهیه عصاره ورمی‌کمپوست، ابتدا مقدار ۱۰۰ گرم ورمی‌کمپوست با ۴۰۰ سی‌سی آب مخلوط شده و به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر قرار گرفت، سپس از پارچه تنظیف عبور داده شد (Gopal *et al.*, 2010). برای اعمال تنش خشکی از پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ استفاده گردید، به‌طوری‌که تیمار شاهد از آب مقطر و سایر تیمارها طبق دستور میچل و کافمن (۱۹۷۶) تهیه شد (جدول ۲).

جدول ۲ - تنش خشکی (غلظت پلی‌اتیلن گلایکول)

مقدار محلول	پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰	پتانسیل خشکی
۱۰۰ میلی لیتر	۱۳/۰۸ گرم	۰/۳ مگاپاسکال
۱۰۰ میلی لیتر	۱۸/۹۰ گرم	۰/۶ مگاپاسکال
۱۰۰ میلی لیتر	۲۲/۲ گرم	۰/۹ مگاپاسکال

در این آزمایش از کیتوزان با غلظت ppm ۱۰۰ استفاده شد. کیتوزان متعلق به شرکت Sigma- Aldrich آمریکا بود و برای تهیه محلول کیتوزان ابتدا محلول اسید استیک ۱ درصد تهیه شد و سپس محلول کیتوزان در اسید تهیه شد (Khan *et al.*, 2003). غلظت اسید هیومیک ۵ درصد در نظر گرفته شد و بذرها به شکل پیش تیمار (خیساندن بذر) به مدت ۲۴ ساعت در تیمارهای کیتوزان، اسید هیومیک، ورمی‌کمپوست و آب مقطر در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری و سپس در واحدهای آزمایشی کاشته شدند. به هر واحد

آزمایشی ۲۰ سی‌سی از محلول تنش خشکی (مطابق با سطوح تیمارها) اضافه گردید و به مدت ۱۴ روز در ژرمیناتور در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۴۵ درصد در تاریکی نگهداری شدند. صفاتی نظیر: طول گیاهچه، درصد جوانه‌زنی، شاخص بنیه بذر، ضریب آلومتری، غلظت پرولین، آلفا آمیلاز و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز اندازه‌گیری شدند. در این آزمایش، طول گیاهچه‌ها به وسیله خط کش مدرج اندازه‌گیری شد. زمانی یک بذر جوانه زده به حساب می‌آید که طول ریشه‌چه آن دو تا سه میلی‌متر باشد، بر همین اساس درصد جوانه‌زنی با استفاده از رابطه ۱ محاسبه گردید (Scott *et al.*, 1984).

(رابطه۱) :

$$GP=(S/T) \times 100$$

که در این رابطه S و T به ترتیب تعداد بذرهای جوانه‌زده و کل بذرهای کشت شده هستند. شاخص بنیه بذر نیز مطابق رابطه (۲) و ضریب آلومتری مطابق رابطه (۳) محاسبه گردید.

(رابطه ۲) :

درصد جوانه‌زنی نرمال × طول گیاهچه‌ها = شاخص بنیه بذر

(رابطه ۳):

طول ساقه‌چه/ طول ریشه‌چه= ضریب آلومتری

برای اندازه‌گیری غلظت پرولین، گیاهچه‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت خشک شدند و پس از آسیاب ۰/۳ گرم ماده خشک گیاهی را درون هاون ریخته شد و ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۳٪ آماده شده را به آن اضافه، سپس خرد شد. نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی-گراد در ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند تا مواد اضافی از محلول جدا شود. مقدار ۲ میلی‌لیتر از عصاره صاف شده را درون تیوب ریخته و ۲ میلی‌لیتر اسید ناین هایدرین به آن افزوده و سپس به خوبی مخلوط شدند. هم‌زمان مقدار ۲ میلی‌لیتر از محلول‌های استانداردهای صفر، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶ و۲۰ میلی‌گرم در لیتر پرولین را درون تیوب‌ها ریخته، سپس ۲ میلی لیتر اسید ناین هایدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال به آن‌ها افزوده و به خوبی مخلوط گردید. نمونه‌ها به

مدت ۹۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد درون حمام آب گرم (بن ماری) گذاشته، سپس درون یخ قرار گرفت. ۴ میلی-لیتر تولوئن به محلول‌ها اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه درون دستگاه شیکر قرار داده شد و میزان جذب رنگ را با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شده و با نمونه شاهد مقایسه شد (Bates *et al.*, 1973).

به منظور سنجش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز، از ۱ گرم بافت گیاهچه‌ها استفاده شد. برای تهیه عصاره ابتدا ۵ میلی‌لیتر محلول ۶۰ میلی مولار بافر فسفات ۶/۸ به نمونه گیاهی اضافه شد و این محلول به مدت ۱۵ با تنظیم ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. ۰/۵ میلی‌لیتر محلول نشاسته به داخل لوله آزمایش منتقل شد و سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره تهیه شده از بالا به آن اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در انکوباسیون ۳۷ درجه سانتی‌گراد با ۱ میلی‌لیتر اسید هیدروکلریدریک ۰/۱ نرمال واکنش متوقف شده و در ادامه ۱ میلی‌لیتر از معرف ید به آن اضافه شد، پس از آن حجم محتوی لوله توسط آب مقطر به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده و در نهایت میزان جذب نور غلظت محلول توسط اسپکتروفتومتر با طول موج ۶۲۰ نانومتر یادداشت و با نمونه شاهد مقایسه شد (Xiao *et al.*, 2006). سنجش آنزیم آسکوربات پراکسیداز به روش اسپکتروفتومتری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت و در نهایت میزان فعالیت آنزیم بر حسب میکرومول آسکوربات اکسید شده به ازای یک گرم پروتئین در دقیقه محاسبه شد (Aebi, 1984). داده‌های حاصل از این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار SAS تجزیه و تحلیل شد و مقایسه میانگین نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن با احتمال خطای یک درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

طول گیاهچه

اثر پرایمینگ، تنش خشکی و اثرات متقابل آن‌ها با احتمال خطای یک درصد بر طول گیاهچه معنی‌دار شد (جدول ۳). اعمال

پرایمینگ ارگانیک سبب افزایش طول گیاهچه نسبت به شاهد (بدون پرایم) شد، اما پرایمینگ کیتوزان، اسید هیومیک و ورمی‌کمپوست نسبت به پرایمینگ آب مقطر (هیدروپرایمینگ) اثر مثبت بیشتری بر طول گیاهچه بادرنجبویه داشتند. افزایش تنش خشکی، کاهش طول گیاهچه را به همراه داشت؛ اما اعمال پرایمینگ کیتوزان، اسید هیومیک و ورمی‌کمپوست، اثرات منفی ناشی از تنش خشکی را کاهش داد. بیشترین مقدار طول گیاهچه بادرنجبویه مربوط به تیمارهای پرایمینگ کیتوزان ۱۲/۵۴ cm، اسید هیومیک ۱۳/۰۲ cm و همچنین ورمی‌کمپوست ۱۲/۸۳ cm در شرایط بدون تنش خشکی بود و کمترین مقدار این شاخص نیز مربوط به تیمار بدون پرایمینگ (شاهد)، در شرایط تنش ۰/۹ مگاپاسکال به مقدار ۳/۸۶ cm بود (جدول ۴). وجود عناصرغذایی و شبه هورمون‌ها در اسید هیومیک و ورمی‌کمپوست موجب افزایش رشد گیاهچه‌ها شده است (Ding *et al.*, 2021; Tang *et al.*, 2020). علاوه بر این، کیتوزان باعث افزایش ساخت هورمون اکسین در گیاه می‌شود و نیتروژن موجود در ساختار کیتوزان، می‌تواند دلیلی برای تحریک رشد گیاه باشد (Xiaochen *et al.*, 2020). پیرو این امر، گزارش شده است که کاربرد کیتوزان موجب افزایش رشد گیاهچه‌های ذرت (Gomes *at el.*, 2020) شد که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت.

جدول ۳- تجزیه واریانس تاثیر پرایمینگ و تنش خشکی بر صفات جوانه‌زنی و فعالیت آنزیمی گیاهچه‌های بادرنجبویه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		طول گیاهچه	جوانه‌زنی	شاخص بنیه بذر	ضریب آلومتری	غلظت پرولین	فعالیت آسکوربات	فعالیت آلفاآمیلاز
پرایمینگ (P)	۴	۱۰۴/۸۹**	۳۵۸/۶۷**	۱۸۶۹/۶۷**	۳/۰۴**	۲/۰۶**	۲/۵۳**	۱۶۸/۹۵**
تنش خشکی(D)	۳	۹۷/۴۲**	۳۲۵/۵۴**	۱۵۹۷/۴۳**	۱/۸۹**	۲/۹۷**	۲/۹۴**	۱۷۶/۳۲**
P×D	۱۲	۸۳/۳۷**	۲۷۹/۹۵**	۱۹۸۶/۹۴**	۲/۳۲**	۳/۸۶**	۳/۸۶**	۲۰۵/۷۶**
خطا	۴۰	۲۱/۴۲	۱۲/۹۷	۱۲۸/۶۴	۰/۹۸	۰/۹۶	۱/۲۴	۲۸/۶۵
ضریب تغییرات (%)		۹/۳۵	۸/۶۷	۱۳/۲۹	۴/۳۸	۶/۰۴	۵/۸۶	۷/۲۱

** معنی دار با احتمال خطای یک درصد می‌باشد.

درصد جوانه‌زنی

اثر پرایمینگ، تنش خشکی و اثرات متقابل پرایمینگ در تنش خشکی با احتمال خطای یک درصد بر درصد جوانه‌زنی بذر معنی‌دار بود (جدول ۳). پرایمینگ درصد جوانه‌زنی را نسبت به شاهد (بدون پرایم) افزایش داد، اما پرایمینگ اسید هیومیک و ورمی‌کمپوست نسبت به سایر پرایمینگ‌ها، در افزایش جوانه‌زنی موثرتر بودند. افزایش تنش خشکی موجب کاهش جوانه‌زنی گیاهچه‌ها شد، اما پرایمینگ ارگانیک اثرات منفی ناشی از تنش خشکی را کاهش داد. بیشترین درصد جوانه‌زنی گیاهچه‌های بادرنجبویه مربوط به تیمارهای پرایمینگ اسید هیومیک ۹۷/۳۳ درصد و همچنین ورمی‌کمپوست ۹۷/۶۶ درصد، در شرایط بدون تنش خشکی و کمترین مقدار این شاخص نیز مربوط به تیمار بدون پرایمینگ (شاهد)، در شرایط تنش ۰/۹ مگاپاسکال ۸۱/۴۳ درصد بود (جدول ۴). گیاهچه‌ها تحت تنش خشکی به سبب اثرات اسمزی به دلیل کمبود آب، عدم جذب موادغذایی و تعادل هورمون‌ها، کاهش رشد و جوانه‌زنی را به همراه داشتند (Langeroodi & Noora, 2017). فراهمی عناصرغذایی و هورمون‌های رشد موجود در اسید هیومیک و ورمی کمپوست از یک سو و افزایش فعالیت آنزیمی و نفوذپذیری غشا از سوی دیگر، موجب تحریک جوانه‌زنی شد (Shen *et al.*, 2020; Gomes *et al.*, 2021). پیرو این امر گزارش شده است که پرایمینگ ورمی‌کمپوست موجب افزایش رشد و جوانه‌زنی گیاهچه‌های هویج تحت تنش خشکی شد (Muhie *et al.*, 2021).

تیمارها		طول گیاهچه	جوانه‌زنی	شاخص بنیه بذر	ضریب آلومتری	غلظت پرولین	فعالیت آسکوربات پراکسیداز	فعالیت آلفاآمیلاز
پرایمینگ	تنش خشکی (مگاپاسکال)	(cm)	(%)			(mg g FW^{-1})	(µmol H_2O_2 min^{-1}.mg^{-1} protein)	(nmol $seed^{-1}$$minute^{-2}$)
کیتوزان	شاهد	۱۲/۵۴^{a}	۹۵/۵۹^{b}	۱۱۹۹/۷۳^{b}	۱/۱۲^{e}	۰/۹۵^{f}	۰/۴۳^{d}	۸۶/۱۳^{a}
	۰/۳	۱۰/۳۶^{b}	۹۲/۶۶^{c}	۹۶۰/۰۶^{d}	۱/۲۲^{d}	۰/۱۱۸^{e}	۰/۴۴^{d}	۷۹/۵۶^{b}
	۰/۶	۸/۴۲^{c}	۹۰/۶۷^{d}	۷۶۳/۹۷^{e}	۱/۲۲^{d}	۰/۱۴۹^{d}	۰/۵۹^{c}	۷۵/۹۷^{c}
	۰/۹	۶/۸۶^{d}	۸۸/۶۴^{e}	۶۰۹/۱۲^{f}	۱/۶۴^{b}	۰/۱۷۹^{c}	۰/۷۱^{b}	۷۱/۵۴^{d}
اسید هیومیک	شاهد	۱۳/۰۲^{a}	۹۷/۳۳^{a}	۱۲۷۱/۶۷^{a}	۰/۸۹^{f}	۰/۹۷^{f}	۰/۳۴^{c}	۸۷/۵۶^{a}
	۰/۳	۱۰/۷۵^{b}	۹۵/۶۷^{b}	۱۰۲۸/۸۲^{c}	۱/۱۳^{e}	۰/۱۴۱^{d}	۰/۴۴^{d}	۸۰/۳۵^{b}
	۰/۶	۸/۶۹^{c}	۹۲/۹۷^{c}	۸۰۷/۹۶^{e}	۱/۲۶^{d}	۰/۱۴۶^{d}	۰/۴۶^{d}	۷۶/۲۹^{c}
	۰/۹	۶/۹۷^{d}	۹۰/۵۷^{d}	۶۳۲/۳۸^{f}	۱/۶۶^{b}	۰/۱۷۷^{c}	۰/۵۸^{c}	۷۱/۰۳^{d}
ورمی‌کمپوست	شاهد	۱۲/۸۳^{a}	۹۷/۶۶^{a}	۱۲۵۲/۹۹^{a}	۰/۹۵^{f}	۰/۱۲۴^{e}	۰/۳۵^{e}	۸۷/۰۹^{a}
	۰/۳	۱۰/۵۹^{b}	۹۵/۳۳^{b}	۱۰۰۹/۶۲^{c}	۱/۱۴^{e}	۰/۱۴۷^{d}	۰/۶۹^{b}	۸۰/۱۱^{b}
	۰/۶	۸/۷۶^{c}	۹۳/۳۳^{c}	۸۱۸/۵۷^{e}	۱/۲۶^{d}	۰/۱۷۶^{c}	۰/۵۶^{c}	۷۶/۰۲^{c}
	۰/۹	۸/۸۵^{c}	۹۰/۵۹^{d}	۸۰۱/۷۳^{e}	۱/۶۶^{b}	۰/۱۹۶^{b}	۰/۷۲^{b}	۷۱/۳۷^{d}
آب مقطر	شاهد	۹/۰۴^{c}	۹۳/۶۴^{c}	۸۴۶/۶۵^{e}	۱/۲۹^{d}	۰/۱۲۱^{e}	۰/۵۳^{c}	۸۰/۷۶^{b}
	۰/۳	۷/۰۴^{d}	۹۰/۳۳^{d}	۶۳۵/۹۸^{f}	۱/۴۸^{c}	۰/۱۵۷^{d}	۰/۷۳^{b}	۷۶/۴۱^{c}
	۰/۶	۶/۱۱^{e}	۹۰/۶۷^{d}	۵۵۴/۰۸^{g}	۱/۴۹^{c}	۰/۱۷۳^{c}	۰/۷۰^{b}	۷۱/۵۲^{d}
	۰/۹	۵/۰۸^{f}	۸۸/۵۹^{e}	۴۴۸/۳۹^{h}	۱/۶۴^{b}	۰/۱۹۷^{b}	۰/۹۱^{a}	۶۴/۹۷^{e}
شاهد (بدون پرایم)	شاهد	۸/۵۶^{c}	۹۰/۶۶^{d}	۷۷۶/۱۱^{ef}	۱/۵۱^{c}	۰/۱۷۸^{c}	۰/۵۶^{c}	۵۹/۰۵^{f}
	۰/۳	۶/۹۴^{d}	۸۸/۴۶^{e}	۶۱۳/۹۷^{f}	۱/۶۷^{b}	۰/۱۹۴^{b}	۰/۶۹^{b}	۵۸/۴۳^{f}
	۰/۶	۶/۰۹^{e}	۸۶/۵۸^{f}	۵۲۷/۳۲^{g}	۱/۶۹^{b}	۰/۱۹۵^{b}	۰/۷۰^{b}	۶۵/۱۹^{e}
	۰/۹	۳/۸۶^{g}	۸۱/۴۳^{g}	۳۲۵/۹۶^{i}	۱/۸۶^{a}	۰/۲۱۶^{a}	۰/۸۸^{a}	۵۱/۲۶^{g}

جدول ۴- مقایسه میانگین تاثیر پرایمینگ و تنش خشکی بر صفات جوانه‌زنی و فعالیت آنزیمی گیاهچه‌های بادرنجبویه

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک فاقد تفاوت معنی‌دار هستند (آزمون دانکن با احتمال خطای یک درصد)

شاخص بنیه بذر

اثر پرایمینگ، تنش خشکی و اثرات متقابل آن‌ها با احتمال خطای یک درصد بر شاخص بنیه بذر معنی‌دار شد (جدول ۳). اعمال پرایمینگ افزایش شاخص بنیه بذر را نسبت به شاهد (بدون پرایم) به همراه داشت. پرایمینگ اسید هیومیک و ورمی‌کمپوست در افزایش شاخص بنیه بذر موثرتر از پرایمینگ کیتوزان و آب مقطر (هیدروپرایمینگ) عمل کردند. تنش خشکی شاخص بنیه بذر را کاهش داد که به واسطه پرایمینگ ارگانیک، اثرات منفی آن کمتر دیده شد. بیشترین شاخص بنیه بذر مربوط به

تیمارهای پرایمینگ اسید هیومیک ۱۲۷۱/۶۷ و همچنین ورمی‌کمپوست ۱۲۵۲/۹۹ در شرایط شاهد (بدون تنش خشکی) و کمترین مقدار این شاخص نیز مربوط به تیمار بدون پرایمینگ (شاهد)، در شرایط تنش ۰/۹ مگاپاسکال ۳۲۵/۹۶ بود (جدول ۴). در تیمارهای پرایمینگ ارگانیک، افزایش شاخص بنیه بذر به سبب افزایش درصد جوانه‌زنی به واسطه وجود هورمون‌ها و مواد آلی بوده است که موجب افزایش تعداد کل بذرهای جوانه‌زده (گیاهچه‌های تولیدشده) گردیده و نتیجه آن افزایش بنیه بذر می‌باشد (Jjagwe *et al.*, 2020). گزارش شده است که اسید هیومیک سبب افزایش رشد و بنیه بذر شنبلیله شده (Abd Elhakem *et al.*, 2021) که نتایج همراستا با نتایج پژوهش حاضر می‌باشد.

ضریب آلومتری

اثر پرایمینگ، اثر تنش خشکی و اثرات متقابل پرایمینگ در تنش خشکی با احتمال خطای یک درصد بر ضریب آلومتری معنی‌دار شد (جدول ۳). افزایش تنش خشکی موجب افزایش ضریب آلومتری (در شرایط پرایمینگ و بدون پرایم) شد و پرایمینگ ضریب آلومتری را کاهش داد. بیشترین مقدار ضریب آلومتری مربوط به تیمارهای تنش خشکی ۰/۹ مگاپاسکال ۱/۸۶، در شرایط بدون پرایمینگ (شاهد) بود و کمترین مقدار این شاخص نیز مربوط به پرایمینگ اسید هیومیک ۰/۸۹ و ورمی‌کمپوست ۰/۹۵ در شرایط شاهد (بدون تنش خشکی) بود (جدول ۴). ضریب آلومتری، یکی از پارامترهایی که تحت تأثیر تنش‌های محیطی قرار می‌گیرد که به دلیل کمبود آب، ریشه‌چه‌ها برای دستیابی به آب گسترده شده و رشد ریشه‌چه نسبت به ساقه‌چه افزایش می‌یابد. همسو با این نتایج اعلام شده است که تنش خشکی موجب افزایش ضریب آلومتری در گیاهچه‌های گندم (Cui *et al.*, 2017) شده و هیدروپرایمینگ نیز کاهش ضریب آلومتری گیاهچه‌های بامیه را به همراه داشت (Tania *et al.*, 2020).

غلظت پرولین

اثر تنش خشکی و اثر پرایمینگ و اثرات متقابل پرایمینگ در تنش خشکی با احتمال خطای یک درصد بر غلظت پرولین معنی‌دار شد (جدول ۳). افزایش تنش خشکی سبب افزایش غلظت پرولین (در شرایط پرایمینگ و بدون پرایم) شد. بیشترین

غلظت پرولین مربوط به تنش خشکی ۰/۹ مگاپاسکال ۰/۲۱۶ mg g FW^{-1}، در شرایط بدون پرایمینگ (شاهد) بود و کمترین مقدار این شاخص نیز در پرایمینگ کیتوزان ۰/۹۵ mg g FW^{-1}، اسید هیومیک ۰/۹۷ mg g FW^{-1} در شرایط شاهد (بدون تنش خشکی) مشاهده شد (جدول ۴). افزایش پرولین در گیاه نشان‌دهنده توانایی گیاه در واکنش به تنش است و نقش پرولین و اثرات مثبت آن به عواملی مانند ساختار گیاه، مدت و شدت تنش بستگی دارد. تنش خشکی باعث افزایش پرولین در کلزا شد و کاربرد ورمی‌کمپوست اثرات منفی تنش خشکی را کاهش داد (Feizabadi *et al.*, 2021).

فعالیت آسکوربات پراکسیداز

اثر پرایمینگ، تنش خشکی و اثرات متقابل آن‌ها با احتمال خطای یک درصد بر فعالیت آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار شد (جدول ۳). اعمال تنش خشکی موجب افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز شد، به‌طوری که با افزایش غلظت تنش خشکی فعالیت آسکوربات پراکسیداز نیز افزایش یافت. بیشترین فعالیت آسکوربات پراکسیداز مربوط به تیمار تنش خشکی ۰/۹ مگاپاسکال ۰/۸۸ µmol H_2O_2 $min^{-1}.mg^{-1}$ protein در شرایط بدون پرایم (شاهد) بود و کمترین مقدار این شاخص نیز مربوط به پرایمینگ ورمی-کمپوست ۰/۳۵ µmol H_2O_2 $min^{-1}.mg^{-1}$ protein در شرایط بدون تنش خشکی بود (جدول ۴). تنش خشکی موجب ایجاد تنش اکسیداتیو در سلول‌های گیاهی و تجمع H_2O_2 در سلول می‌شود. با افزایش شدت تنش خشکی به ۰/۹ مگاپاسکال، غلظت آسکوربات پراکسیداز افزایش یافت که می‌توان دلیل آن را پاسخ گیاه در مقابله با تنش خشکی دانست و پرایمینگ مواد ارگانیک باعث تحمل بهتر گیاه در برابر تنش خشکی شد و غلظت آسکوربات پراکسیداز تولید شده را نسبت به شرایط بدون پرایم (شاهد) کاهش داد. پژوهش سایر محققین نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی غلظت آسکوربات پراکسیداز در گیاهچه گندم افزایش یافت (Cui *et al.*, 2017) که همراستا با آزمایش حاضر بوده است.

فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز

اثر پرایمینگ، تنش خشکی و اثرات متقابل آن‌ها با احتمال خطای یک درصد بر فعالیت آلفا آمیلاز

معنی‌دار شد (جدول ۳). افزایش شدت تنش خشکی، کاهش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز را در پی داشت و پرایمینگ کیتوزان، اسید هیومیک و (۱۳/۸۶ nmol seed^{-1}minute^{-2})، اسید هیومیک (۸۷/۵۶ nmol seed^{-1}minute^{-2}) و همچنین پرایمینگ ورمی‌کمپوست (nmol seed^{-1}minute^{-2} ۸۷/۰۹) در شرایط بدون تنش خشکی بود و کمترین مقدار این شاخص نیز مربوط به تیمار بدون پرایمینگ (شاهد)، در شرایط تنش ۰/۹ مگاپاسکال (۵۱/۲۶ nmol seed^{-1}minute^{-2}) بود (جدول ۴). ورمی‌کمپوست، اسید هیومیک و کیتوزان دارای عناصر پرمصرف و کم‌مصرف برای گیاه هستند که این عناصر باعث آزاد شدن آنزیم‌های هیدرولیتیکی و شکسته شدن نشاسته به الیگوساکاریدها می‌شوند. الیگوساکاریدها طی مراحلی به گلوکز شکسته می‌شوند که باعث کاهش پتانسیل آب سلول و در نتیجه موجب تسهیل ورود آب به درون سلول شده و به دنبال این فرآیند، طویل شدن سلول رخ می‌دهد. آلفا آمیلاز یک آنزیم حیاتی است که در تخریب گرانول‌های نشاسته به مولکول‌های آلی کوچک نقش مهمی دارد و انرژی و مواد غذایی را برای ورمی‌کمپوست اثرات منفی حاصل از تنش خشکی را کاهش دادند. بیشترین فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز مربوط به پرایمینگ کیتوزان جوانه‌زنی بذر تهیه می‌کند (Liu *et al.*, 2018). گزارش شد که کاربرد کیتوزان موجب کاهش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در ذرت (Gomes *et al.*, 2021) شده است که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت داشت.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این پژوهش بیانگر آن است که اعمال تنش خشکی، کاهش درصد جوانه‌زنی، رشد و کیفیت گیاهچه‌های بادرنجبویه را در شرایط بدون پرایم به همراه داشت و افزایش شدت تنش خشکی موجب کاهش رشد گیاهچه‌ها و افزایش ضریب آلومتری، غلظت پرولین و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز شد. پرایمینگ کیتوزان، اسید هیومیک و ورمی‌کمپوست در افزایش ویژگی‌های جوانه‌زنی و همچنین مقابله با تنش خشکی، موثرتر از پرایمینگ آب مقطر (هیدروپرایمینگ) عمل کردند و اثرات منفی حاصل از تنش خشکی را کاهش دادند. همچنین پرایمینگ بذر بادرنجبویه با تیمارهای فوق روند

کاهشی غلظت پرولین و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را در پی داشت و موجب افزایش آنزیم آلفا آمیلاز شد که این امر بیانگر افزایش تحمل گیاه نسبت به تنش خشکی است. بنابراین کاربرد پرایمینگ کیتوزان، اسید هیومیک و ورمی-کمپوست به علت فراهمی عناصرغذایی مورد نیاز برای گیاه و همچنین برای مقابله با اثرات منفی ناشی از تنش خشکی در جوانه‌زنی بذر بادرنجبویه قابل توصیه است.

منابع

Abd Elhakem, M., E. Ahmed, H. Abd El-Galeel, and S. Sayed. 2021. Improving fenugreek plants growth and productivity via humic acid treatment. Agricultural Sciences. 3 (1): 15-22.

Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. Methods in Enzymology. 105: 121-126.

Bates, I.S., R.P. Waldern, and I.D. Tear. 1973. Rapid determination of free praline for water stress studies. Plant and Soil, 39: 205-207.

Behboudi, F., Z. Tahmasebi-Sarvestani, M. Zaman Kassaee, S.A.M. Modarres, A. Sorooshzadeh, and A. Mokhtassi-Bidgoli. 2019. Evaluation of chitosan nanoparticles effects with two application methods on wheat under drought stress. Plant Nutrition. 42 (13): 1439-1451.

Cui, G., X. Zhao, S. Liu, F. Sun, C. Zhang, and Y. Xi. 2017. Beneficial effects of melatonin in overcoming drought stress in wheat seedlings. Plant Physiology and Biochemistry. 118: 138–149.

Daryanto, S., L. Wang, and P.A. Jacinthe. 2015. Global synthesis of drought effects on food legume production. PLOS ONE, 10 (6): e0127401.

Dazy, M., V. Jung, J. Ferard, and J. Masfaraud. 2008. Ecological recovery of vegetation on a coke-factory soil: Role of plant antioxidant enzymes and possible implication in site restoration. Chemosphere. 74: 57-63.

Ding, Z., M.S.K. Kheir, Ahmed, A.M.A. Osama, E.M. Hafez, E.A. ElShamey, Z. Zhou, B. Wang, X. Lin, Y. Ge, A.E. Fahmy, and F.S. Mahmoud. 2021. A vermicompost and deep tillage system to improve saline-sodic soil quality and wheat productivity. Environmental Management. 277: 111388.

Feizabadi, A., G. Noormohammadi, and F. Fatehi. 2021. Changes in Growth, Physiology, and Fatty Acid Profile of Rapeseed Cultivars Treated with

Seabra, and H.C. Oliveira. 2021**.** Seed priming with copper-loaded chitosan nanoparticles promotes early growth and enzymatic antioxidant defense of maize (*Zea mays* L.) seedlings. Chemical

Liu, L., W. Xia, H. Li, H. Zeng, B. Wei, S. Han, C. Yin. 2018**.** Salinity inhibits rice seed germination by reducing α-amylase activity via decreased bioactive gibberellin content. Frontiers in Plant Science. 9: 275-289.

Machado, R.M.A. and R.P. Serralheiro. 2017**.** Soil salinity: effect on vegetable crop growth. Management practices to prevent and mitigate soil salinization. Horticulture. 3:30.

Michael, B.E. and M.R. Kaufman. 1976**.** The osmotic potential of polyethylenglycol-6000. Plant Physiology, 51: 914-916.

Muhie, S., N. Memis, C. Ozdamar, Z. Gokdas, and I. Demir. 2021**.** Biostimulant priming for germination and seedling quality of carrot seeds under drought, salt and high temperature stress conditions. International Agriculture Environment and Food Sciences. 5(3): 352- 359.

Scott, S.J., R.A. Jones, and W.A. Williams. 1984**.** Review of data analysis

Vermicompost Under Drought Stress. Soil Science Plant Nutrition. 21: 200–208.

Gomes, D.G., M.T. Pelegrino, A.S. Ferreira, H.B. Bazzo, C. Zucareli, A.B.

technology and biotechnology. 96 (8): 2176-2184.

Gopal, M., A. Gupta, C. Palaniswami, R. Dhanapal, and G.V.Thomas. 2010**.** Coconut leaf vermiwash: a bioliquid from coconut leaf vermicompost for improving the crop production capacities of soil. Current science, 98:1202-1210.

Jjagwe, J., K. Chelimo, J. Karungi, A.J. Komakech, and J. Lederer. 2020**.** Comparative Performance of Organic Fertilizers in Maize (*Zea mays* L.) Growth, Yield, and Economic Results. Agronomy. 10(1): 69-83.

Li, K., R. Xing, S. Liu, and P. Li. 2020**.** Chitin and Chitosan Fragments Responsible for Plant Elicitor and Growth Stimulator. Agricultural and Food Chemistry. 68(44): 12203-12211.

Langeroodi, A.R.S. and R. Noora. 2017**.** Seed priming improves the germination and field performance of soybean under drought stress. Animal Plant Science. 27: 1611–1620.

Voko, M.P., M.G. Kulkarni, N. Ngoroyemoto, S.H. Gupta, and J.F. Finnie. 2021**.** Vermicompost Leachate, Seaweed Extract and Smoke-Water Alleviate Drought Stress in Cowpea By Influencing Phytochemicals, Compatible Solutes and Photosynthetic Pigments.

Xiao, Z., R. Storms, and A. Tsang. 2006**.** A quantitative starch-iodine method for measuring alpha-amylase and glucoamylase activities, Analytical Biochemistry, 351:146-148.

Xiaochen, J., R. Mijanur, R. Rajib, R. and Heng, Y. 2020**.** Recognition Pattern, Functional Mechanism and Application of Chitin and Chitosan Oligosaccharides in Sustainable Agriculture. Current Pharmaceutical Design. 26 (29): 3508-3521.

methods for seed germination. Crop Science. 24:1192-1199.

Shen, J., M. Guo, Y. Wang, X. Yuan, Y. Wen, Y., X. Song, and P. Guo. 2020**.** Humic acid improves the physiological and photosynthetic characteristics of millet seedlings under drought stress. Plant Signaling & Behavior. 15(8): 1774212.

Tang, S.H., J. Tang, D. Yuan, Z. Wang, Y. Zhang, and Y Rao. 2020**.** Elimination of humic acid in water: comparison of UV/PDS and UV/PMS. 10, 17627-17634.

Tania, S.S., M.S. Rhaman, and M.M. Hossain. 2020**.** Hydro-priming and halo-priming improve seed germination, yield and yield contributing characters of Okra (*Abelmoschus esculentus* L.). Tropical Plant Research. 7(1): 86–93.

Effect of organic priming on germination characteristics and enzyme activity of Lemon balm (*Melissa Officinalis* L.) under drought stress conditions

R. Kalhor Monfared[1], M.N. Ilkaei[2], F. Paknejad[3*]

1- Ph.D Student of Department of Agronomy and Plant Breeding, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.
2- Associate professor of Department of Agronomy and Plant Breeding, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.
3- Professor of Department of Agronomy and Plant Breeding, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.

Abstract

Plant germination and establishment is one of the challenges of farmers in arid and semi-arid areas, and organic priming is a suitable solution to reduce environmental pollution caused by the use of chemical inputs. For this purpose, a factorial research was carried out in the form of a completely randomized design on the seeds of Lemon balm (*Melissa Officinalis* L.) in three replications in the seed technology laboratory of the Islamic Azad University, Karaj branch. The treatments of this experiment include five levels of priming (chitosan, humic acid, vermicompost, distilled water and control (no prime)) and four levels of drought stress (0, 0.3, 0.6, 0.9 Mpa). The results showed that drought stress decreased the germination percentage, growth, and quality of lemongrass seedlings in non-prime conditions, and as the intensity of drought stress increased, the growth of seedlings decreased. Chitosan, humic acid, and vermicompost priming was more effective than distilled water priming (hydropriming) in increasing germination characteristics and coping with drought stress, and reduced the negative effects of drought stress. Seed priming with the mentioned treatments caused a decrease in proline concentration and ascorbate peroxidase enzyme activity. Priming with humic acid and vermicompost in non-stress conditions led to 19.52% and 19.93% germination increase in lemon balm respectively, compared to the treatment without priming and 0.9 MPa drought stress conditions.

Keywords: Alpha amylase, Ascorbate peroxidase, Humic acid, Chitosan, Proline, Vermicompost

[*] Corresponding author (farzadpaknejad@yahoo.com)