گیاه و زیست فناوری ایران
Iranian Journal of Plant & Biotechnology (IJPB)

مقاله پژوهشی

اثر پلاسمای سرد DBD بر رشد و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.)

مریم سپاسی[۱]، علیرضا ایرانبخش (نویسنده مسئول)[۲*]، سارا سعادتمند[۳]، مصطفی عبادی[٤] و زهرا اوراقی‌اردبیلی[٥]

۱- دانشجوی دکتری، گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، mym.sepasi2018@gmail.com

۲*- استاد، گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، Iranbakhsh@iau.ac.ir

۳- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، sadatmandsara@gmail.com

٤- استادیار، گروه زیست شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران، mtf.ebadi@gmail.com

٥- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران، zahraoraghi@yahoo.com

تاریخ دریافت: مرداد ۱٤۰۳ تاریخ پذیرش: مهر ۱٤۰۳

The effect of cold plasma DBD on growth and antioxidant enzyme activity on Basil plants (*Ocimum basilicum* L.)

Maryam Sepasi[1], Alireza Iranbakhsh (Corresponding author)[2*], Sara Sadatmand[3], Mostafa Ebadi[4] and Zahra Oraghi Ardebili[5]

1- Ph.D student, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, mym.sepasi2018@gmail.com

2*- Professor, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, Iranbakhsh@iau.ac.ir

3- Associated Professor, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, sadatmandsara@gmail.com

4- Assistant Professor, Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran, mtf.ebadi@gmail.com

5- Associated Professor, Department of Biology, Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran, zahraoraghi@yahoo.com

Received: July 2024 Accepted: October 2024

Abstract

A cold atmosphere or low-pressure plasma is a potential tool to increase crop production. This study exposed plant seeds to DBD cold plasma for 45 (P1) and 90 (P2) seconds. The amount of fresh and dry weight of the plant increased significantly in the P1 treatment compared to the control, decreasing in the P2 treatment. Germination percentage remained unchanged compared to the control. Total chlorophyll increased in P1 treatment and decreased in P2 treatment. The protein contents increased by 37% and 42%, respectively, in P1 and P2 treated plants compared to the control. The soluble sugar contents in the P2-treated plants increased by 6% compared to the control, while its amount remained unchanged in the P1-treated plants compared to the control. The proline content in the P2-treated plants increased two times compared to the control, while its amount remained unchanged in the P1-treated plants compared to the control. Catalase and peroxidase enzyme activity increased in p1 and p2 treatments compared to the control. Cold plasma technology has a significant potential to increase seed and plant growth.

Key words: Antioxidant enzymes, Basil, Cold plasma, DBD, Growth

Iranian Journal of Plant & Biotechnology
Summer 2024, Vol 19, No 2, Pp 1-9

چکیده

اتمسفر سرد یا پلاسمای کم فشار یک ابزار بالقوه برای افزایش تولید گیاهان زراعی است. در این مطالعه دانه های گیاه ریحان به مدت ٤٥ (P1) و ۹۰ (P2) ثانیه در معرض پلاسمای سرد DBD قرارگرفتند. نتایج نشان داد که میزان وزن تر و خشک گیاه در اثر تیمار P1 به طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت در حالیکه میزان آنها در اثر تیمار P2 کاهش یافت. درصد جوانه‌زنی در اثر تیمارهای مختلف پلاسما تفاوت معنی‌داری با شاهد نشان نداد. محتوای کلروفیل کل در اثر تیمار P1 افزایش و در اثر تیمار P2 کاهش یافت . میزان پروتیین در اثر تیمارهای P1 و P2 به ترتیب ۳۷٪ و ٤۲٪ نسبت به شاهد افزایش یافت. میزان قندهای محلول در تیمار P2 به نسبت ٦٪ نسبت به شاهد افزایش یافت، در حالی میزان آن در اثر تیمار P1 نسبت به شاهد بی‌تغییر ماند. میزان پرولین در اثرتیمار P2 به نسبت دو برابر نسبت به شاهد افزایش یافت، در حالی که میزان آن در اثر تیمار P1 نسبت به شاهد بی‌تغییر ماند. فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیدازدر اثر تیمارهای P1 و P2 نسبت به شاهد افزایش یافت. فناوری پلاسمای سرد پتانسیل قابل توجهی برای افزایش رشد دانه رست و گیاه دارد.

کلمات کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پلاسمای سرد، رشد، گیاه ریحان

فصلنامه گیاه و زیست فناوری ایران
تابستان ۱٤۰۳، دوره ۱۹، شماره ۲، صص ۹-۱

مقدمه و کلیات

کشاورزی به دلیل رشد مداوم جمعیت جهانی، آلودگی محیط زیست، کمبود زمین کشاورزی و تغییرات آب و هوایی با مشکلات زیادی مواجه است. استراتژی ها و فن آوری های مختلفی برای سازگاری گیاه با محیط های در حال تغییر توسعه داده شده است. طی چند سال اخیر استفاده از پلاسمای اتمسفری سرد توسعه یافته که به طور فعال برای کاربردهای کشاورزی مورد بررسی قرارگرفته است (Adhikari *et al*., 2020). پلاسما یک گاز یونیزه است که در دمای اتاق تحت فشار اتمسفر تولید می‌شود و گونه‌های واکنش‌پذیر را تولید می‌کند. بنابراین افزایش رشد گیاه و غیرفعال شدن میکروارگانیسم‌ها از کاربردهای پلاسما در حوزه کشاورزی است.اتمسفر سرد یا پلاسمای کم فشار یک ابزار بالقوه برای افزایش تولید گیاهان زراعی است و چندین مطالعه اثر پلاسما در افزایش جوانه زنی بذر، رشد و تولید مثل گیاه مشاهده شده است (Adhikari *et al*., 2020). اشکال اکسیژن و نیتروژن فعال (RONS) و نیتریک اسید تولید شده در طی تیمارپلاسما، خواب بذر را از بین می برد و احتمال جوانه زنی و زیست توده را افزایش می دهد. این ترکیبات به داخل بذرها نفوذ می کنند و ممکن است سرعت جذب آب را تغییر دهند و رطوبت پذیری را افزایش دهند که به نوبه خود سرعت جوانه زنی را افزایش می دهد. Švubová و همکاران (2021) گزارش دادند در دانه سویا مصرف آب و در نتیجه وزن دانه به صورت خطی با افزایش دوز پلاسما افزایش یافت. تغییر در خاصیت مرطوب کنندگی بذرها در اثر اکسیداسیون سطح آنها ایجاد می شود که منجر به جوانه زنی سریعتر و عملکرد بهتر می شود که در گیاهان گندم و جو (Cherkasov *et al*., 2015) و عدس، لوبیا و گندم (Bormashenko *et al*., 2012) یافت شد. Jiang و همکاران (2014) مشاهده کردند که پس از تیمار بذر، گیاهان گندم به طور قابل توجهی بلندتر با ریشه های بلندتر و حاوی کلروفیل و نیتروژن بیشتری بودند. تیمار پلاسما جوانه زنی بذر را در بیشتر مطالعات افزایش داده است، اگرچه هیچ تغییری در درصد جوانه زنی در چندین مطالعه مشاهده نشد (Zhou *et al*., 2011; Mihai *et al*., 2014; Matra, 2018). پلاسما سرعت جوانه زنی، درصد جوانه زنی کلی یا هر دو را افزایش داد. مطالعات دیگر نشان داد که افزایش در میزان جوانه زنی بذر در معرض پلاسما وابسته به گونه می باشد(Volin *et al*., 2000). گزارش ها حاکی از آن است که هموستازی ردوکس گیاهان با استفاده از پلاسمای سرد اصلاح می‌شود. تنظیم فعالیت آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و کاتالاز (CAT) در گیاهان گندم پس از قرار گرفتن در معرض پلاسما ی سرد با DBD مشاهده شد (Rahman *et al*., 2018). به همین ترتیب، تغییرات در وضعیت آنتی اکسیدانی (پرولین، آسکوربیک، گواياکول پراکسیداز، فنیل آلانین آمونیاک لیاز، فنولیک و فلاونوئید) نیز در گیاهان در مرحله رویشی پس از تیمار پلاسمای فشار اتمسفر سرد مشاهده شد. تولید پایدار محصولات زراعی و امنیت غذایی از موضوعات مهم برای جامعه مدرن است. بنابراین، توسعه فناوری هایی برای رسیدگی به این مسائل ضروری است. فن آوری های کشاورزی پایدار نه تنها می‌تواند تولید و تحمل محصول را افزایش دهد،

بلکه به حفظ منابع طبیعی و اکوسیستم ها نیز کمک می کند. اتمسفر سرد یا پلاسمای کم فشار یک تکنیک عصر مدرن است که ممکن است خطرات مرتبط با کشاورزی و سیستم‌های پردازش مواد غذایی را کاهش دهد. اتمسفر سرد یا پلاسمای کم فشار یک رویکرد سازگار با محیط زیست است که بر تولید محصول در شرایط نامطلوب تأثیر مثبت می گذارد(Adhikari *et al*., 2020). هدف از این تحقیق بررسی اثر پلاسمای سرد بر درصد جوانه زنی، رشد و آنزیم های انتی اکسیدان گیاه ریحان است.

فرآیند پژوهش

دانه های ریحان با محلول هیپوکلریت سدیم ۱٪ به مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی شدند. سپس بذرها به مدت ٤٥ (P1) و ۹۰ (P2) ثانیه در معرض پلاسمای سرد آرگون (Ar) قرار گرفتند. دستگاه پلاسمای سرد DBD. سرعت ورود گاز به دستگاه ۲ لیتر با فرکانس 13 Hz بود.گیاهان پس از ۹۰ روز برداشت شدند و انالیزهای فتوشیمایی انجام شد.

قندهای محلول: برای انجام آزمایش ۰/۱ گرم از گیاه با ۱۰ میلی لیتر اتانول ۷۰٪ مخلوط گردید. بر روی آن ۱ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد اضافه شد و بر روی آن ۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ اضافه گردید. محلول زرد رنگی بدست امده که به مرور تغییر رنگ می دهد و به قهوه ای روشن تمایل پیدا می‌کند، این محلول را نیم ساعت در دمای آزمایشگاه قرار می‌دهیم تا هم خشک شده و هم رنگ نهایی به دست می‌آید. سپس شدت رنگ حاصله را با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٤٨٥ نانومتر خوانده شد و میزان قند های محلول با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید (Kochert, 1978).

پرولین: برای سنجش پرولین از روش Soroori و همکاران (2021) استفاده شد. ۰/۵ گرم بافت تر گیاهی در ۱۰ میلی لیتر محلول ۳٪ اسید سولفوسالیسیلیک سائیده شد. سپس به هر یک از لوله‌های محتوی عصاره گیاهی، ۲ میلی‌لیتر معرف اسید نین هیدرین و ۲ میلی لیتر اسید استیک خالص اضافه شد. به هر کدام از نمونه ها ٤ میلی‌لیتر تولوئن افزوده شد برای تعیین غلظت پرولین جذب نمونه ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید.

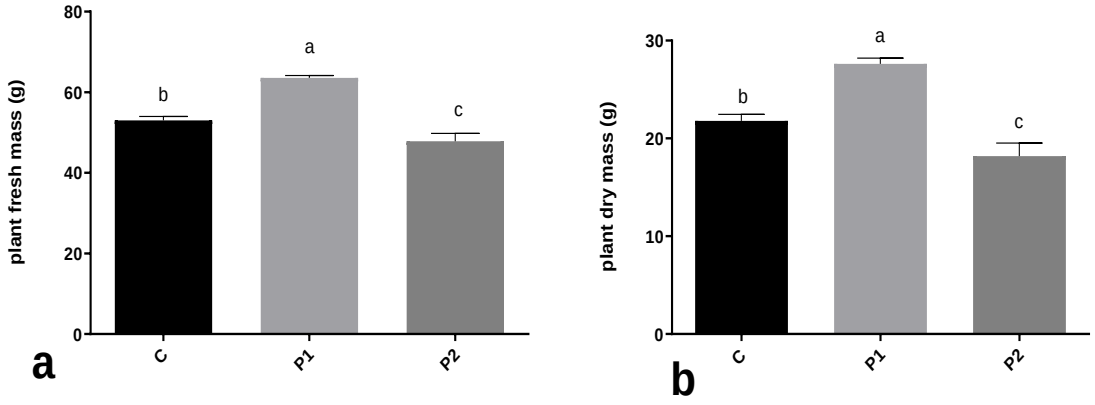
پروتئین: سنجش پروتئین‌ها براساس روش Alhverdizadeh و Danaee (2022) سنجیده شد.

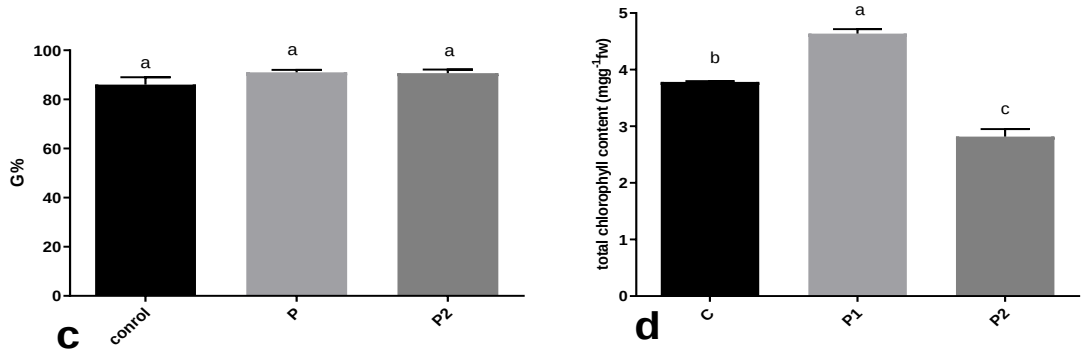
فعالیت آنزیم پراکسیداز: به منظور سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز از محلول‌های ۲ میلی‌لیتر تامپون استات۰/۲ مولار با PH= ٤/۸ ، ۰/۲ میلی‌لیترآب اکسیژنه ۳٪ و ۰/۱میلی‌لیتر بنزیدین (۰/۰۲ M – محلول در متانول ۵۰٪)استفاده گردید. سپس در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر، میزان جذب خوانده شد. فعالیت آنزیم بر حسب A $\Delta min^{-1}gfw^{-1}$ محاسبه گردید(Koroi, 1989).

فعالیت آنزیم کاتالاز: به منظور سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز، از محلول‌های ۲/۵ میلی لیتر تامپون فسفات با pH = ۷ و ۰/۳ میلی لیتر آب اکسیژنه ۳٪ و میزان ۰/۲ میلی‌لیتر از محلول عصاره گیاهی استفاده شد. جذب در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر، خوانده شد(Chance, 1995).

نتایج و بحث

نتایج نشان داد میزان وزن تر و خشک گیاه در اثر تیمار P1 به طور معنی داری (٪۱۹ و ٪۲۷) نسبت به شاهد افزایش نشان داد. میزان وزن تر و خشک گیاه در اثر تیمار P2 به ترتیب ٪۱۰ و ٪٦۰ نسبت به شاهد کاهش یافت (شکل1 a وb). درصد جوانه زنی در اثر تیمارهای مختلف پلاسما افزایش یافت، ولی این افزایش معنی دار نبود(شکل1 c). میزان کلروفیل کل در اثر تیمار P1 ٪۲۲ نسبت به شاهد افزایش یافت، در حالی که در اثر تیمار P2 ٪۲٦ نسبت به شاهد کاهش یافت (شکل1 d). Filatova و همکاران (2011) افزایش ۱۰ تا ۲۰ درصدی در ظرفیت جوانه زنی دانه های سویا و شبدر عسلی با تیمار پلاسمای مایکروویو مشاهده کردند، در حالی که Ahn و همکاران (2019) هیچ تغییری در درصد جوانه زنی مشاهده نکرد. پلاسما می تواند مرحله رشد رویشی گیاهان را تنظیم کند و تیمار پلاسما اثر طولانی مدت بر رشد رویشی اولیه گیاه دارد. تیمار پلاسما باعث افزایش جوانه زنی بذر و رشد گیاهچه و افزایش طول و وزن گیاهچه ها می شود. افزایش رشد گیاهچه بدون تغییر در راندمان جوانه زنی نیز پس از تیمار پلاسما مشاهده شده است (Zhou *et al*., 2011; Mihai *et al*., 2014). نتایج پژوهش موافق نتایج Meiqiang و همکاران (2005) می باشد که نشان داد تیمار پلاسما باعث رشد گیاه گوجه فرنگی شد. در مورد جوانه زنی بذر، اثرات پلاسما بر رشد بذر با دوز پلاسما، زمان تیمار، گازهای مورد استفاده و رطوبت متفاوت است. قرار گرفتن در معرض طولانی مدت پلاسما یا قدرت یا فشار اتمسفر بالا باعث کاهش رشد گیاهچه می شود. دانه های گندم تیمار شده به مدت ۳ دقیقه نسبت به دانه هایی که ۱۰، ۲۰ یا ٤۰ دقیقه تیمار شده بودند، زیست توده بیشتری داشتند (Šerá *et al*., 2010). تیمار با قدرت کم پلاسما (۲.۷ وات) رشد اولیه را تسریع می‌کند و نسبت ریشه به ساقه را افزایش می‌دهد (Dobrin *et al*., 2015).

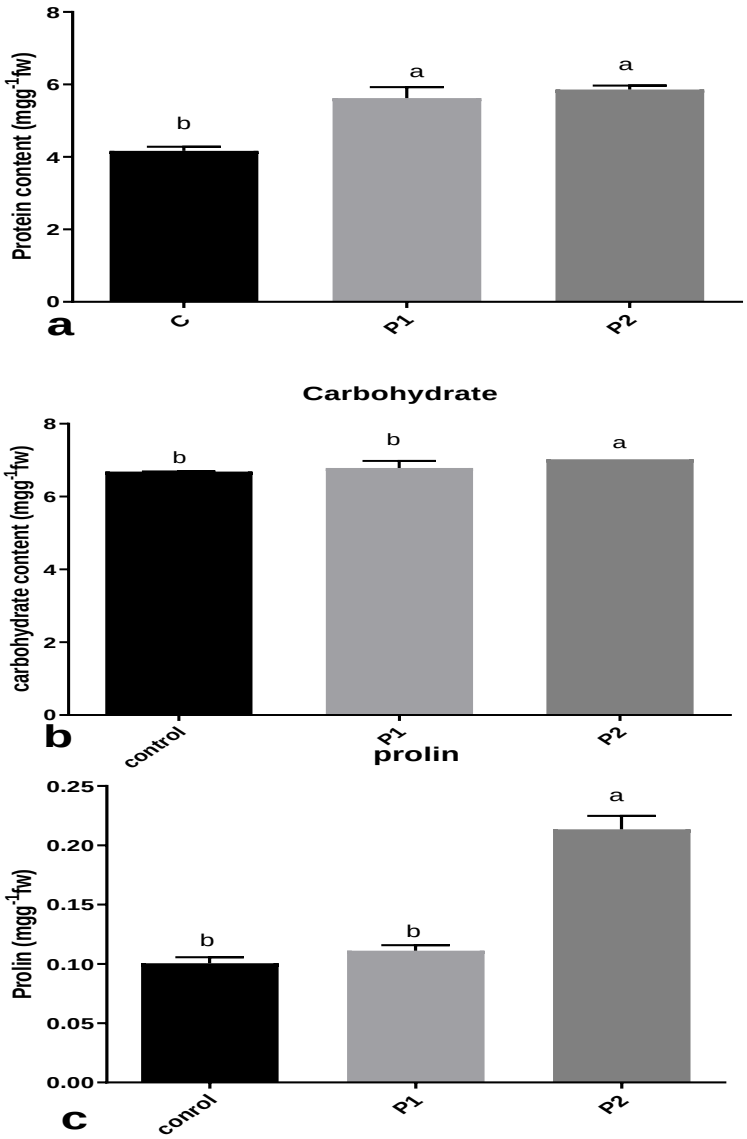




شکل ۱- تغییرات وزن تر گیاه (a)، وزن خشک گیاه (b)، درصد جوانه زنی (c) و کلروفیل کل گیاه (d) در اثر تیمارهای مختلف پلاسما در گیاه ریحان

Fig 1- The effect of Cold Plasma on plant fresh mass (a), plant dry mass (b), germination percentage (c), total chlorophyll content(d) in *Ocimum basilicum* L.

میزان پروتئین در اثر تیمارهای P1 و P2 به ترتیب ۳۷٪ و ٤۲٪ نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل 2 a). میزان قندهای محلول در تیمار P2 به نسبت ٦٪ نسبت به شاهد افزایش یافت، در حالی میزان آن در اثر تیمار P1 نسبت به شاهد بی تغییر ماند (شکل 2 b). میزان پرولین در اثرتیمار P2 به نسبت دو برابر نسبت به شاهد افزایش یافت، در حالی که میزان آن در اثر تیمار P1 نسبت به شاهد بی تغییر ماند(شکل 2 c). استفاده از ذخیره غذایی بذر و محتوای قند و پروتئین محلول در گیاهچه ها پس از تیمارهای پلاسما افزایش می یابد (Ling *et al*., 2015). تیمار پلاسمای اتمسفر سرد دانه ها بر غلظت هورمون رشد در مرحله رویشی تأثیر می گذارد. استولاریک و همکاران مشاهده کردند که غلظت اکسین (IAA در نهال های ١٤ و ٢١ روزه در معرض پلاسمای سرد به مدت ١٢٠ ثانیه و ٦٠٠ ثانیه افزایش یافت. جالب توجه است که محتوای سیتوکینین نیز در نهال‌های ١٤ روزه در معرض پلاسمای سرد به مدت ١٢٠ ثانیه (در مقایسه با نهال‌های بدون تیمار) به طور قابل‌توجهی افزایش یافت. هنگام بررسی مکانیسم اثر پلاسما بر رشد گیاهچه، بسیاری از گزارش‌ها بر افزایش سطوح نیتروژن، تغییرات در مقدار هورمون‌های رشد و سایر فرآیندهای فیزیولوژیکی و فعال شدن بیان ژن مرتبط با رشد متمرکز شده‌اند. این مکانیسم‌ها احتمالاً مربوط به گونه‌های فعال ایجاد شده توسط پلاسما هستند. گونه های فعال می توانند گونه های نیتروژن مانند NO^{2-} و NO^{3-} را پس از تعامل با آب تولید کنند. آب تیمار شده با پلاسما به عنوان کود نیتروژن عمل می کند و مسئول القای رشد در دانه ها می‌باشد (Adhikari *et al*., 2020). پلاسمای سرد DBD ٥٣درصد مقدار پروتئین و ٥٢ درصد مقدار کربوهیدرات را در گیاه *Vigna mungo* L. افزایش می‌دهد (Billah *et al*., 2020).

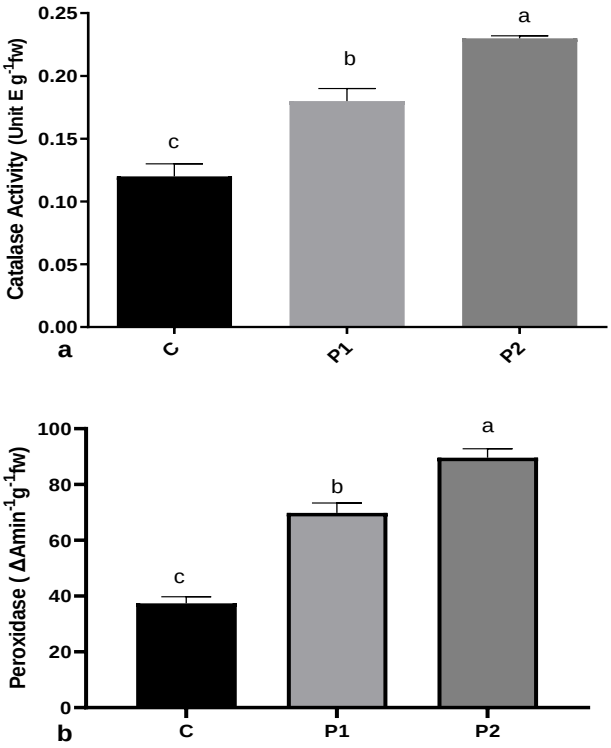


شکل ۲- تغییرات میزان پروتین کل (a)، کربوهیدرات های محلول (b) و پرولین (c) در اثر تیمارهای مختلف پلاسما در گیاه ریحان

Fig 2- The effect of Cold Plasma on protein content (a), carbohydrate content (b), proline content (c) in *Ocimum basilicum* L.

فعالیت آنزیم کاتالاز در اثر تیمارهای p1 و p2 بیش از دوبرابر نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل3 a). همچنین فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به شاهد در اثر تیمارهای مختلف پلاسما افزایش معنی داری یافت (شکل3 b). همانطور که توسط چندین مطالعه نشان داده شده است، پلاسمای سرد و محلول های فعال شده با پلاسما می توانند به عنوان محرک های اکسیداتیو عمل کنند و تعادل ردوکس را بر هم بزنند. عدم تعادل ردوکس، تعامل RONS با مولکول‌های زیستی را تقویت می‌کند و منجر به تغییر یا آسیب

اکسیداتیو می‌شود RONS بالا می‌تواند با سایر واکنش‌های متابولیک، فیتوهورمون‌ها و آبشارهای سیگنال‌دهنده رشد و نمو که گیاه را در سطوح مختلف فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی تغییر می‌دهند، تداخل داشته باشد (Adhikari *et al*., 2020). سایر گونه های واکنش پذیر مانند H_2O_2 و NO می توانند به عنوان محرک رشد عمل کنند. این گونه‌های واکنش‌پذیر ممکن است هموستاز ردوکس را مختل کرده و باعث ایجاد استرس اکسیداتیو خفیف در گیاهان در مراحل رویشی و زایشی شوند. افزایش غلظت H_2O_2 و NOx در گیاه گوجه فرنگی در پاسخ به آب تیمار شده با پلاسما توسط Adhikari و همکاران (2020) گزارش شد. مشاهدات مشابه تجمع RONS در پاسخ به تیمار پلاسما در گیاهان نیز در مطالعات دیگر گزارش شده است (Rahman *et al*., 2018). تأثیر RONS بر رشد گیاه به خوبی شناخته شده است (Mhamdi and Breusegem, 2018)، بنابراین RONS تولید شده توسط پلاسما ممکن است به طور مشابه بر رشد و نمو گیاه تأثیر بگذارد. واکنش های ردوکس نقش مهمی در چرخه سلولی و سیتوکینز دارند. مطالعه روی گندم (*Triticum* sp.) و ریشه‌های Arabidopsis نشان می‌دهد که ROS، مجموعه میکروتوبول‌ها را مختل می‌کند و تشکیل میکروتوبول را در سلول‌های نوک ریشه ترویج می‌کند. این اختلال در سازمان دهی توبولین منجر به فرآیند سیتوکینز تحریف شده می شود (Ling *et al*., 2015). ROS مانند H_2O_2، رادیکال هیدروکسیل (OH) و سوپراکسید (O^{2-}) از طریق کنترل سفتی دیواره سلولی بر انبساط سلولی تأثیر می‌گذارند. سفتی دیواره سلولی را حفظ می کند. در مقابل، OH پلی ساکاریدها (مانند زایل گلوکان ها و پکتین ها) را اکسید می کند و شل شدن دیواره سلولی را تسهیل می کند (Mhamdi and Breusegem, 2018). مطالعه دیگری نشان داد که گرادیان O^{2-} در مریستم ریشه ها می تواند در تقسیم سلول نقش داشته باشد. سطوح بالای O^{2-} در نوک ریشه، بالاترین منطقه تقسیم سلولی وجود دارد و منطقه طویل شدن محیطی دارای سطوح بالای H_2O_2 است.



شکل ۳- **تغییرات میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (a)، آنزیم پراکسیداز (b) در اثر تیمارهای مختلف پلاسما در گیاه ریحان**

Fig 3- The effect of Cold Plasma on catalase activity (a), peroxidase activity (b) in *Ocimum basilicum* L.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر نشان می‌دهد که استفاده از پلاسمای سرد DBD به مدت ٤٥ ثانیه (P_1) سبب افزایش درصد جوانه‌زنی، وزن خشک و وزن تر گیاه، افزایش سطح کلروفیل، همچنین موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و افزایش سطح پرولین، پروتئین و کربوهیدرات، نسبت به گیاه شاهد شد. همچنین مشاهده گردید استفاده از پلاسمای DBD به مدت ۹۰ ثانیه (P_2) موجب کاهش درصد جوانه‌زنی، وزن خشک و وزن تر گیاه و سطح کلروفیل و افزایش در سطح پرولین، پروتئین و فعالیت‌های آنزیم‌های اکسیدانی، نسبت به گیاه شاهد می‌گردد.

منابع

1) Adhikari, B., Adhikari, M., Ghimire, B., Park, G. and E.H, Choi. 2019. Cold atmospheric plasma-activated water irrigation induces defense hormone and gene expression in tomato seedlings. *Science Report*, 9: 16080.
2) Adhikari, B., Adhikari, M.and G, Park. 2020.The effects of plasma on plant growth, development, and sustainability. *Applied Sciences*, 10(17): 6045.
3) Ahn, C., Gill, J. and D.N, Ruzic. 2019. Growth of plasma-treated corn seeds under realistic conditions. Science Report, 9: 4355.
4) Alhverdizadeh, S. and Danaee, E. 2022. Effect of Humic Acid and Vermicompost on Some Vegetative Indices and Proline Content of *Catharanthus roseous* under Low Water Stress. *Environment and Water Engineering*, 9(1): 141-152.
5) Billah, M., S.A. Sajib N.C. Roy., M.M. Rashid., M.A. Reza., M.M. Hasan. and M.R. Talukder. 2020. Effects of DBD air plasma

16) Rahman, M.M., Sajib, S.A., Rahi, M.S., Tahura, S., Roy, N.C., Parvez, S., Reza, M.A., M.R, Talukder. and A.H, Kabir. 2018. Mechanisms and signaling associated with LPDBD plasma mediated growth improvement in wheat. *Science Report*, 8: 10498.
17) Šerá, B., Špatenka, P., Šerý, M., Vrchotova, N. and I, Hruskova. 2010. Influence of plasma treatment on wheat and oat germination and early growth. IEEE Trans. *Plasma Science*, 38: 2963–2967.
18) Soroori, S., Danaee, E., Hemmati, K. and A, Ladan Moghadam. 2021. The metabolic response and enzymatic activity of *Calendula officinalis* L. to foliar application of spermidine, citric acid and proline under drought stress and in a postharvest condition. *Journal of Agriculture Science and Technology*, 23 (6): 1339-1353.
19) Stolárik, T., Henselová, M., Martinka, M., Novák, O., Zahoranová, A. and M, Černák. 2015. Effect of low-temperature plasma on the structure of seeds, growth and metabolism of endogenous phytohormones in pea (*Pisum sativum* L.). *Plasma Chem. Plasma Process*, 35: 659–676.
20) Švubová, R., Slováková, L'., Holubová, L'., Rovnanová, D., Gálová, E. and J, Tomeková. 2021.Evaluation of the impact of cold atmospheric pressure plasma, on soybean seed germination. *Plants*, 10: 177.
21) Volin, J.C., Denes, F.S., Young, R.A. and S.M.T, Park. 2000. Modification of seed germination performance through cold plasma chemistry technology. *Crop Science*, 40; 1706–1718.
22) Zhang, J., J.O Jo., D.L Huynh., R.K Mongre., Ghosh, M., A.K, Singh., S.B Lee., Y.S Mok., Hyuk, P. and D.K, Jeong. 2017. Growth-inducing effects of argon plasma on soybean sprouts via the regulation of demethylation levels of energy metabolism-related genes. *Science Report*, 7: 41917.
23) Zhou, Z., Huang, Y., Yang, S. and W, Chen. 2011. Introduction of a new atmospheric pressure plasma device and application on tomato seeds. *Agric Science*, 2: 23–27.

treatment on the enhancement of black gram (*Vigna mungo* l.) seed germination and growth. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 681.
6) Bormashenko, E., Grynyov, R., Bormashenko, Y. and E, Drori. 2012. Cold radiofrequency plasma treatment modifies wettability and germination speed of plant seeds. *Science Report*, 2: 741.
7) Cherkasov, N., Ibhadon, A. and P, Fitzpatrick. 2015. A review of the existing and alternative methods for greener nitrogen fixation. *Chem. Eng. Process*, 90: 24–33
8) Dobrin, D., Magureanu, M., Mandache, N.B. and M, Ionita. 2015. The effect of non-thermal plasma treatment on wheat germination and early growth. Innov. *Food Science. Emerg. Technol*. 29:255–260.
9) Filatova, I., Azharonok, V.V., Kadyrov, M.A., Beljavsky, V., Gvozdov, A., Shik, A., A.E, Antonuk. and N, Belarus. 2011. The effect of plasma treatment of seeds of some grain and legumes on their sowing quality and productivity. Rom. *Report Physiology*, 56: 139–143.
10) Jiang, J., He, X., Li, L., Li, J., Shao, H., Xu, Q., Ye, R. and Y, Dong. 2014. Effect of cold plasma treatment on seed germination and growth of wheat. *Plasma Science Technology*, 16: 54–58.
11) Ling, L., Jiangang, L., Minchong, S., Chunlei, Z. and D, Yuanhua. 2015. Cold plasma treatment enhances oilseed rape seed germination under drought stress. *Science Report*, 5: 13033.
12) Matra, K. 2018. Atmospheric non-thermal argon–oxygen plasma for sunflower seedling growth improvement. *Jpn. J. Appl. Phys*, 7.
13) Meiqiang, Y., Mingjing, H., Buzhou, M. and M, Tengcai. 2005. Stimulating effects of seed treatment by magnetized plasma on tomato growth and yield. *Plasma Sciece Technol*, 7: 3143–3147.
14) Mhamdi, A. and F, Van Breusegem. 2018. Reactive oxygen species in plant development. *Development*, 145: 1–12.
15) Mihai, A.L., Dobrin, D., Magureanu, M. and M.E, Popa. 2014. Possitive effect of non-thermal plasma treatment on radish seed. Rom. *Rep. Phys*, 66: 1110–1117.